

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

"EVALUACIÓN DE *CYNARA CARDUNCULUS* L. VAR. *ALTILIS* COMO CULTIVO ENERGÉTICO. LA INFLUENCIA DEL MANEJO AGRONÓMICO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA"

ING. AGR. ANA BELÉN BRESO

TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTORA EN CIENCIAS AGRARIAS

DIRECTORA: Vanina Cravero

CO- DIRECTORAS: María Laura Pisarello

Valeria Perotti

2026

“EVALUACIÓN DE *CYNARA CARDUNCULUS* L. VAR. *ALTILIS* COMO CULTIVO ENERGÉTICO. LA INFLUENCIA DEL MANEJO AGRONÓMICO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA”

Ana Belén Breso

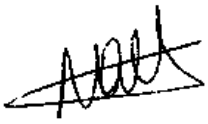
Ingeniería Agronómica – Universidad Nacional de Rosario

Esta Tesis es presentada como parte de los requisitos para optar al grado académico de Doctor en Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido previamente presentada para la obtención de otro título en esta u otra Universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en la Facultad de Ciencias agrarias de la Universidad Nacional de Rosario, durante el período comprendido entre 2021 y 2026, bajo la dirección de

Nombre y firma del Doctorando  Ing. Agr. Ana Belén Breso

Nombre y firma de la directora  Dra. Vanina Cravero

Nombre y firma de las Co – directoras  Dra. M. Laura Pisarello

 Dra. Valeria Perotti

Defendida: 05 de noviembre de 2026.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS 6
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS 7
PUBLICACIONES 8
PRESENTACIONES A CONGRESOS 8
RESUMEN 10
ABSTRACT 12
INTRODUCCIÓN GENERAL 14
1. Bioenergía 18
2. Biocombustibles 21
2.1. Biocombustibles en Argentina y en el mundo 23
3. Cultivos energéticos 28
4. Cardo (*Cynara cardunculus* L var. *altilis*) 29
5. Análisis de ciclo de vida (ACV) 34
OBJETIVOS 35
OBJETIVO GENERAL 35
Objetivos específicos 35
HIPOTESIS 36
CAPÍTULO 1: MANEJO AGRONÓMICO DEL CULTIVO 37
1. INTRODUCCIÓN 37
OBJETIVO ESPECÍFICO 38
2. MATERIALES Y MÉTODOS 38
2.1. Clima y suelo 38
2.2. Material vegetal y manejo del cultivo 39
2.3. Análisis estadísticos 40
3. RESULTADOS 40
3.1. Condiciones climáticas durante el período experimental 40
3.2. Establecimiento del cultivo y momentos de toma de datos 42
3.3. Partición de la biomasa 42
3.4. Efecto del manejo agronómico sobre el rendimiento en granos y biomasa lignocelulósica 44
4. DISCUSIÓN 46

5. CONCLUSIONES 52
CAPÍTULO 2: POTENCIAL ENERGÉTICO DE LA BIOMASA 52
1. INTRODUCCIÓN 52
1.1. Biocombustibles sólidos 55
1.2. Proceso de peletizado 60
1.3. Calidad de los pelets 62
1.4. Biomasa residual del cardo 67
OBJETIVO ESPECÍFICO 68
2. MATERIALES Y MÉTODOS 68
2.1. Material vegetal y procesamiento 68
2.2. Parámetros evaluados sobre la biomasa de cardo en sus tres estados (chips, biomasa molida y pelets) 72
2.3. Parámetros evaluados sobre la biomasa molida y pelets 73
2.4. Parámetros evaluados sobre la biomasa molida 74
2.5. Parámetros evaluados sobre pelets 75
2.6. Combustión 76
2.7. Análisis estadístico 78
3. RESULTADOS 78
3.1. Densidad aparente y contenido de humedad 78
3.2. Caracterización de la biomasa molida de cardo 79
3.3. Caracterización del pelet 80
3.4. Combustión del pelet 82
4. DISCUSIÓN 85
5. CONCLUSIONES 95
CAPÍTULO 3: BIOETANOL 97
1. INTRODUCCIÓN 97
1.1. Biomasa lignocelulósica 98
1.2. Etapas para la producción de bioetanol lignocelulósico 101
OBJETIVO ESPECÍFICO 109
2. MATERIALES Y MÉTODOS 109
2.1. Material biológico 109
2.2. Métodos 112
3. RESULTADOS 119
3.1. Análisis composicional de la biomasa 119
3.2. Actividad enzimática 120

3.3. Liberación de glucosa 121
3.4. Celulosa hidrolizada 123
3.5. Eficiencia relativa de las etapas del proceso 125
3.6. Etanol potencial teórico 126
4. DISCUSIÓN 127
5. CONCLUSIONES 131
CAPÍTULO 4: BIODIÉSEL 133
1. INTRODUCCIÓN 133
1.1. El biodiésel 133
1.2. Proceso de obtención de biodiésel 134
1.3. Purificación, lavado y secado del biodiésel 139
1.4. Control de calidad del biodiésel 140
OBJETIVOS ESPECÍFICOS 142
2. MATERIALES Y MÉTODOS 142
2.1. Obtención del aceite y determinación de sus características fisicoquímicas 142
2.2. Reducción de acidez (neutralización) 147
2.3. Proceso de producción de biodiésel 147
2.4. Lavado y purificación del biodiésel 149
2.5. Análisis de la calidad del biodiésel 149
3. RESULTADOS 154
4. DISCUSIÓN 157
5. CONCLUSIONES 167
CAPÍTULO 5: ANÁLISIS DE CICLO DE VIDA 169
1. INTRODUCCIÓN 169
OBJETIVO ESPECÍFICO 172
2. MATERIALES Y MÉTODOS 172
2.1. Análisis de ciclo de vida 172
3. RESULTADOS 187
3.1. Evaluación del impacto del ciclo de vida 187
3.2. Interpretación 194
4. DISCUSIÓN 196
5. CONCLUSIONES 202
CONCLUSIONES GENERALES 203
PERSPECTIVAS 205

REFERENCIAS 206
ANEXO I: 242
Procedimientos realizados en capítulo 4 (Biodiesel) 242
• Perfil de ácidos grasos – IRAM 5651 242
Contenido de mono-, di- y triglicéridos, glicerina libre y total; mediante cromatografía gaseosa (g/100 g muestra): 242
Contenido Fósforo (gr fósforo/100 gr muestra) - AOCS CA 12-55 244
ANEXO II: 246
1. INTRODUCCIÓN 246
OBJETIVO 247
2. MATERIALES Y MÉTODOS 247
2.1. Germinación 247
2.2. Etapa vegetativa 249
2.3. Análisis estadísticos 251
3. RESULTADOS 252
3.1. Geminación 252
3.2. Etapa vegetativa 253
4. DISCUSIÓN 254
5. CONCLUSIÓN 256
Alcances y limitaciones del estudio 257
REFERENCIAS 257

AGRADECIMIENTOS

- A Dios y a la Virgen, por estar presente en cada paso de mi camino, por guiar mis elecciones, fortalecer mi espíritu e iluminar mi mente. Por haber puesto en mi vida a las personas que me sostuvieron, acompañaron y alentaron a lo largo de toda mi historia y, en particular, durante el desarrollo de este trabajo.
- A mi familia, por el amor incondicional, el apoyo constante y la paciencia infinita. Por acompañarme en cada etapa, celebrar mis logros y sostenerme en los momentos de cansancio y duda. Sin su presencia y su confianza, este recorrido no habría sido posible.
- A mi directora, cuyo acompañamiento fue fundamental a lo largo de todo el doctorado. Por su guía académica, su compromiso, su generosidad y su dedicación constante. Por haber sido no solo directora, sino también consejera, apoyo emocional y compañera de camino, ayudándome a atravesar cada desafío con claridad, contención y confianza. Sin ella, este trabajo no habría llegado a concretarse.
- A mi grupo de trabajo, por el intercambio cotidiano, el apoyo técnico y humano, y por generar un espacio de aprendizaje, colaboración y crecimiento. Gracias por el compañerismo, las discusiones enriquecedoras y el trabajo compartido que hicieron de este proceso una experiencia mucho más llevadera y enriquecedora.
- A mis amistades, por estar siempre presentes y acompañarme durante todo este proceso, por la escucha, el aliento y la comprensión, incluso en los momentos de ausencia. En particular, a Tati y David, compañeros de trabajo y amigos, cuyo apoyo cotidiano, compañerismo y sostén fueron fundamentales para poder atravesar y sostener este camino. Gracias por estar, por comprender y por hacer mucho más llevadero este recorrido.
- A Nila, mi compañera incondicional, por acompañarme desde el primer día de este camino doctoral. Por estar siempre a mi lado, brindándome compañía silenciosa, amor y calma en cada jornada de trabajo.
- A Ema, por acompañarme y sostenerme en el tramo final de este recorrido. Por su apoyo, su comprensión y su presencia, fundamentales para poder llegar hasta acá.
- Finalmente, a todas las personas que, de una u otra manera, contribuyeron a la realización de este trabajo y me acompañaron a lo largo de este camino. A todas ellas, mi más sincero agradecimiento.

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change

ONU - Organización de las Naciones Unidas

OMM - Organización Meteorológica Mundial

CMNUCC - Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático

COP - Conference of the Parties

BRICS - acrónimo que hace referencia a un grupo de cinco naciones: Brasil, Rusia, India, China y Sudáfrica

OCDE - Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos.

NZE - Net Zero Emissions

ODS - Objetivos de Desarrollo Sostenible

GEI- Gases de Efecto Invernadero

LC - Labranza superficial

SD - Siembra directa

OCT - Octubre

MZ - Marzo

1 m y 2 m - Densidades de siembra de 4 y 2 plantas por m^2

ISO - International Organization for Standardization

P- Pelets

Pt - Potencia

MV - Materiales volátiles

CF - Carbono fijo

Cz – Cenizas

PCS y PCI - Poder calorífico superior e inferior

Pps - Espartillar *(Panicum prionotis)*

Gt - Germen de trigo (*Triticum aestivum*)

Cv y Cs - Cardo (*Cynara cardunculus* L var. *altilis*) en estado vegetativo y senescente

Ps - Hongo de la podredumbre blanca (*Pycnoporus sanguineus*)

LiP - Lignina Peroxidasa

MnP - Manganeso Peroxidasa

PT - Pretratamientos

PTQ - Pretratamiento químico

PTB1, 2 y 3 - Pretratamiento biológico (Secretoma con germen de trigo, con Cardo vegetativo y con cardo senescente respectivamente)

FAME - Ésteres metílicos de ácidos grasos

FAEE - Ésteres etílicos de ácidos grasos

ACV - Análisis de ciclo de vida

PUBLICACIONES

- Mancini M; Breso A; Rúa F; Lanza Volpe M; Leskovar D; Cravero V. (2023). "Biomass Characterization of Wild and Cultivated Cardoon Accessions and Estimation of Potential Biofuels Production". Biomass Conversion and biorefinery. (primer autora junto con Mancini)

PRESENTACIONES A CONGRESOS

- Breso Ana, Mancini Micaela, Rúa Federico y Cravero Vanina. "Evaluación del desempeño en combustión de pelets de cardo (*Cynara cardunculus* var. *altilis)* y mezclas con pino para producción de bioenergía". XXVII congreso y la XLV Reunión anual de la Sociedad de Biología de Rosario. Zavalla. 2025
- Breso Ana, Mancini Micaela, Rúa Federico y Cravero Vanina. "Efecto del estrés hídrico y salino sobre la germinación y crecimiento de cardo (*Cynara cardunculus* var. *altilis*) en condiciones controladas.". IV Reunión Argentina de Biología de Semillas (RABioS). Concepción del Uruguay. 2025
- Breso Ana, Jozami Emiliano, Rua Federico y Cravero Vanina "Estudio comparativo del ciclo de vida de tres alternativas de valorización ambiental de la biomasa residual en la producción de biodiesel a partir del cardo (*Cynara cardunculus* var. *altilis*)". XIII Encuentro Argentino de Ciclo de Vida y la XII

Reunión de la Red Argentina de Huella Hídrica – ENARCIV 2025, Mendoza, Argentina 2025, modalidad virtual.

- Breso Ana, Mancini Micaela, Rúa Federico, Pisarello María Laura y Cravero Vanina. “Biodiesel: Estudio comparativo entre ésteres metílicos y etílicos obtenidos a partir del aceite de Cardo (*Cynara cardunculus* var *altilis*).” IX Jornadas de Ciencia y Tecnología/III Reunión Argentina Chile de Ciencias Agrarias. Facultad de Ciencias Agrarias (Universidad Nacional de Rosario). 2024.
- Breso Ana, Mancini Micaela, Rúa Federico, Pisarello María Laura y Cravero Vanina. “Determinación de la calidad del biodiesel obtenido a partir del aceite de cardo (*Cynara cardunculus* var *altilis*)”. 30 ° Jornada de Jóvenes Investigadores. AUGM. Asunción, Paraguay. 2023. **[Distinción].**
- Breso Ana, Permingeat Hugo, Cravero Vanina, Perotti Valeria. “Biological pretreatment by fungal secretome for bioethanol production from *Cynara cardunculus* var. *altilis* biomass". V Encuentro y II Workshop de la red Argentina de Tecnología enzimática. Modo presencial. 2023
- Breso, Ana; Mancini, Micaela; Rúa, Federico y Cravero, Vanina. “Evaluación de alternativas para la obtención de pelets de la biomasa del cardo (*Cynara cardunculus* var. *altilis*)”. XXV Congreso y la XLIII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Rosario. Desafíos y aplicaciones de la Biología. Una mirada puesta hacia el desarrollo sustentable. 2023
- Breso Ana, Mancini Micaela, Rúa Federico y Cravero Vanina. “Caracterización del pelet de cardo y su potencial para generar energía térmica". XXI Congreso y XXXIX Reunión anual de la Sociedad de biología de Rosario “Estrategias de evaluación y diagnóstico de procesos biológicos”. Modo presencial. 2022
- Breso Ana, Mancini Micaela, Rúa Federico y Cravero Vanina. "Estudio del comportamiento de semillas de cardo sometidas a diferentes condiciones de estrés hídrico y salino". XXI Congreso y XXXIX Reunión anual de la Sociedad de biología de Rosario “Estrategias de evaluación y diagnóstico de procesos biológicos”. Modo presencial. 2022
- Mancini Micaela, Rua Federico, Breso Ana, Balaban David, Cravero Vanina. “Biocombustible sólido: Uso de la biomasa de cardo para la producción de energía eléctrica” XXII Congreso y XL Reunión anual de la Sociedad de Biología de Rosario. 2020

- Mancini Micaela, Rua Federico, Breso Ana, Bover Julieta, Corti Julieta, Garelli A, Polvirelli E, Balaban, David, Cravero Vanina. “Potencial de la biomasa de cardo para generar energía térmica”. XXII Congreso y XL Reunión anual de la Sociedad de Biología de Rosario. 2020

RESUMEN

Cynara cardunculus L. var. *altilis* es una especie perenne originaria de la cuenca mediterránea que ha despertado interés como cultivo energético multipropósito debido a su rusticidad, bajo requerimiento de insumos, amplia adaptación ambiental y elevada producción de biomasa lignocelulósica, además del aprovechamiento de los aquenios para obtención de aceite apto para la producción de biodiésel. En el contexto de transición energética y mitigación del cambio climático, el cardo se presenta como una alternativa prometedora para la producción integrada de biocombustibles.

El objetivo general de esta tesis fue evaluar el potencial de *C. cardunculus* var. *altilis* como cultivo energético en el sur de Santa Fe, Argentina, analizando la influencia del manejo agronómico sobre la producción de biomasa y grano, y estudiando distintas estrategias para su valorización energética. Los objetivos específicos incluyeron: evaluar la influencia de la fecha de siembra, la densidad de plantas y el sistema de labranza sobre la producción de biomasa y grano; evaluar el comportamiento térmico de la biomasa de cardo y las emisiones durante la combustión de la biomasa; analizar el efecto de las variables del peletizado sobre la productividad y calidad de los pelets; determinar la eficiencia de distintos pretratamientos sobre la biomasa lignocelulósica para la producción de azúcares fermentables; optimizar la producción de biodiésel conforme a normativa vigente; e integrar los resultados mediante análisis de ciclo de vida (ACV).

Los ensayos a campo mostraron que *C. cardunculus* presenta rendimientos iniciales bajos durante el primer año (5 - 8 t ha^{-1} de biomasa seca y escasa producción de grano), seguidos de incrementos significativos a partir del segundo año (15 - 25 t ha^{-1} de biomasa y 2 - 3,7 t ha^{-1} de grano). La densidad de siembra fue el factor más determinante de estos rendimientos, observándose valores entre 20 y 30 % superiores en las parcelas sembradas a mayor densidad (4 plantas m^{-2}). El sistema de labranza tuvo efecto moderado sobre el rendimiento en biomasa, sin embargo, la siembra directa favoreció el rendimiento en

grano, especialmente en años con déficit hídrico, con aumentos de hasta 20 % respecto a la labranza convencional.

Los ensayos de combustión de la biomasa vegetativa seca evidenciaron que la potencia térmica útil influyó sobre el tiempo de combustión (50 - 65 min) y la masa total consumida (0,7 - 1,1 kg), mientras que las tasas de consumo horario se mantuvieron constantes (0,9 - 1,1 kg h^{-1}). Estos resultados indican que la utilización de la biomasa de cardo como biocombustible sólido es viable, no obstante, su contenido relativamente elevado de cenizas (6 - 7 % en base seca) sugiere su empleo en equipos de calefacción de pequeña escala adaptados a biomasas herbáceas, como estufas multicombustible o calderas con sistemas adecuados de remoción de cenizas. Asimismo, la biomasa residual mostró aptitud para el peletizado, alcanzando densidades de 600 - 650 kg m^{-3}. Los pelets de mejor calidad se obtuvieron a 16 Hz de velocidad de operación y con una longitud de matriz de 29 mm.

Por otra parte, la biomasa lignocelulósica, tanto en estado vegetativo como senescente, presentó características adecuadas para su utilización como materia prima en la producción de bioetanol de segunda generación. Los pretratamientos biológicos basados en secretomas de *Pycnoporus sanguineus* inducidos por *C. cardunculus* var. *altilis* (PTB2 y PTB3) resultaron más eficientes que el pretratamiento químico (PTQ). En particular, el tratamiento PTB3 permitió alcanzar liberaciones de glucosa de 178 y 190 mg g^{-1} de biomasa de cardo vegetativo y senescente, respectivamente, frente a los valores de 89 y 65 mg g^{-1} obtenidos mediante el pretratamiento químico. En consecuencia, el rendimiento teórico potencial de etanol estimado para el cardo senescente fue de aproximadamente 116 L t^{-1} de biomasa en PTB3, mientras que para el pretratamiento químico se estimaron valores cercanos a 43 L t^{-1}. Considerando un rendimiento de biomasa de 18 t ha^{-1}, el cardo senescente permitiría estimar una producción teórica de hasta 2000 L ha^{-1} de etanol.

Las semillas de cardo presentaron un contenido de aceite del 20 % m/m, compuesto por > 85 % de ácidos insaturados (linoleico 62 ,1 %, oleico 21,8 %, linolénico 0,94 %). La acidez inicial (4,03 %) se redujo a 0,37 % mediante neutralización. Tanto el biodiesel metílico como el etílico, cumplieron con los requisitos establecidos por la Norma IRAM 6515-1 (densidad: 0,884 - 0,888 g ml^{-1}, viscosidad: 4,0 - 4,2 mm^2 s^{-1}, acidez < 0,17 mg KOH g^{-1}, glicerina total < 0,20 g 100 g^{-1}, ésteres totales > 98 %, estabilidad a la oxidación: 6,8 - 7,0 h), sin embargo, el biodiésel etílico presentó mejor comportamiento a bajas temperaturas.

El ACV indicó una reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero del biodiesel de cardo respecto al diésel convencional en todos los escenarios evaluados. La valorización de la biomasa residual mediante peletizado mostró el mejor desempeño ambiental, con de 0,384 kg CO_2 eq evitados por MJ de biodiésel y un ahorro energético de 11,55 MJ por MJ de biodiésel. Los escenarios que incorporaron la producción de bioetanol presentaron balances menos favorables, aunque positivos, con ahorros energéticos de -2,75 y -2,62 MJ por MJ de biodiésel y reducciones de -0,077 y -0,072 kg CO_2 eq por MJ para los escenarios 1 y 2, respectivamente.

En conclusión, *Cynara cardunculus* var. *altilis* presenta un alto potencial como cultivo energético multipropósito en el sur de Santa Fe, Argentina. La integración de prácticas agronómicas adecuadas con estrategias de valorización de biomasa y semillas permite maximizar su aporte a la diversificación de la matriz energética y la mitigación de las emisiones asociadas al uso de combustibles fósiles.

Palabras clave: *Cynara cardunculus*, cultivo energético, aceite, biomasa lignocelulósica, bioetanol, biodiésel, análisis de ciclo de vida.

ABSTRACT

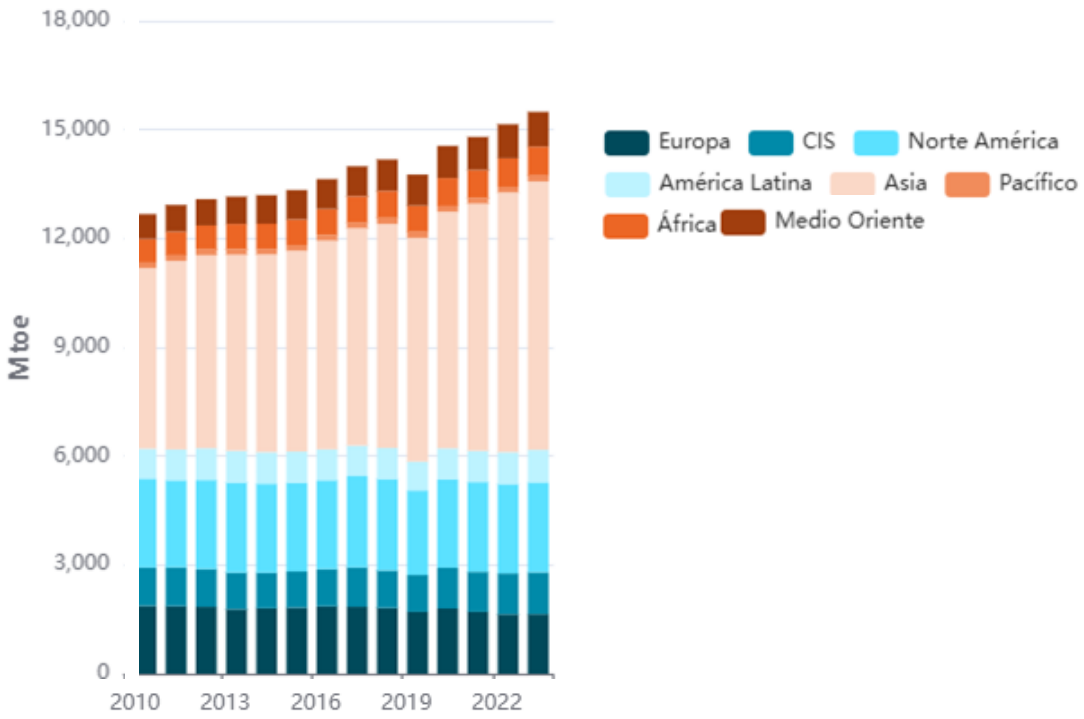
Cynara cardunculus L. var. *altilis* is a perennial species native to the Mediterranean basin that has gained increasing attention as a multipurpose energy crop due to its rusticity, low input requirements, wide environmental adaptability, and high lignocellulosic biomass production, as well as the use of its achenes for biodiesel production. In the context of energy transition and climate change mitigation, cardoon represents a promising alternative for integrated biofuel production. The overall objective of this doctoral thesis was to evaluate the potential of *C. cardunculus* var. *altilis* as an energy crop in southern Santa Fe, Argentina, assessing the influence of agronomic management on biomass and grain production and analyzing different strategies for the energetic valorization of biomass and seeds. Field trials showed low yields during the first year (5 - 8 t ha^{-1} of dry biomass and negligible grain production), followed by significant increases from the second year onward (15 - 25 t ha^{-1} of biomass and 2 - 3.7 t ha^{-1} of grain). Sowing density was the most influential factor, with increases of 20 - 30 % at higher densities (4 plants m^{-2}). Tillage system had a moderate effect on biomass, while no-tillage enhanced grain yields, particularly under dry conditions. Vegetative biomass proved suitable for peletization, achieving bulk densities of 600 - 650 kg m^{-3}. Optimal pelet quality was

obtained at 16 Hz of operational speed and 29 mm length, with ash contents of 6 - 7 % (dry basis). Combustion tests indicated that useful thermal power influenced combustion time and total mass consumed, while hourly consumption rates remained stable, confirming the feasibility of cardoon biomass as a solid biofuel, although ash content should be considered for domestic use. Lignocellulosic biomass from both vegetative and senescent stages proved suitable for second-generation bioethanol production, with biological pretreatments based on *Pycnoporus sanguineus* secretomes—particularly PTB3—clearly outperforming chemical pretreatment by achieving higher glucose release and ethanol potential, leading to an estimated theoretical yield of up to ~2000 L ha^{-1} of ethanol from senescent cardoon biomass. Cardoon seeds contained 20 % oil, rich in unsaturated fatty acids (> 85 %). Both methyl and ethyl biodiesel met IRAM 6515-1 standards, with ethyl biodiesel showing improved low-temperature performance. Life cycle assessment indicated greenhouse gas emission reductions compared to conventional diesel in all scenarios. Peletization of residual biomass showed the best environmental performance, with of 0.383 kg CO_2 eq avoided MJ^{-1} of biodiesel and an energy saving of 11.55MJ MJ^{-1}. Overall, *C. cardunculus* var. *altilis* demonstrates high potential as a multipurpose energy crop in southern Santa Fe, supporting energy diversification and fossil fuel emission mitigation.

INTRODUCCIÓN GENERAL

El crecimiento continuo de la población mundial y el desarrollo económico registrado en las últimas décadas ha provocado un incremento sostenido en la demanda energética a escala global (Figura 1). Este incremento ha estado históricamente asociado a una fuerte dependencia de combustibles fósiles, principalmente petróleo, carbón y gas natural, que aún hoy constituyen la base del sistema energético mundial. Como consecuencia, se ha producido un aumento sostenido de las emisiones antrópicas de gases de efecto invernadero (GEI), responsables de intensificar el cambio climático y de alterar los sistemas meteorológicos y climáticos del planeta (Edenhofer et al., 2011). En este contexto, la temperatura media global registrada en 2020 fue 1,02 ºC superior al promedio del período 1950 - 1980, evidenciando la magnitud del fenómeno y sus potenciales impactos ambientales, sociales y económicos (NASA, 2021).

Figura 1: Consumo energético mundial en los últimos 15 años. Gráfico adaptado de Enerdata (2025).



Ante esta situación, en 1988 se creó el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC), principal organismo internacional encargado de evaluar el estado del conocimiento científico respecto al cambio climático, sus causas, consecuencias y posibles estrategias de mitigación. Actualmente el IPCC está integrado

por 195 países miembros de la Organización de las Naciones Unidas (ONU) y de la Organización Meteorológica Mundial (OMM) y cumple un rol central en la elaboración de informes científicos que sirven de base para la formulación de políticas públicas a nivel global (IPCC, 2025).

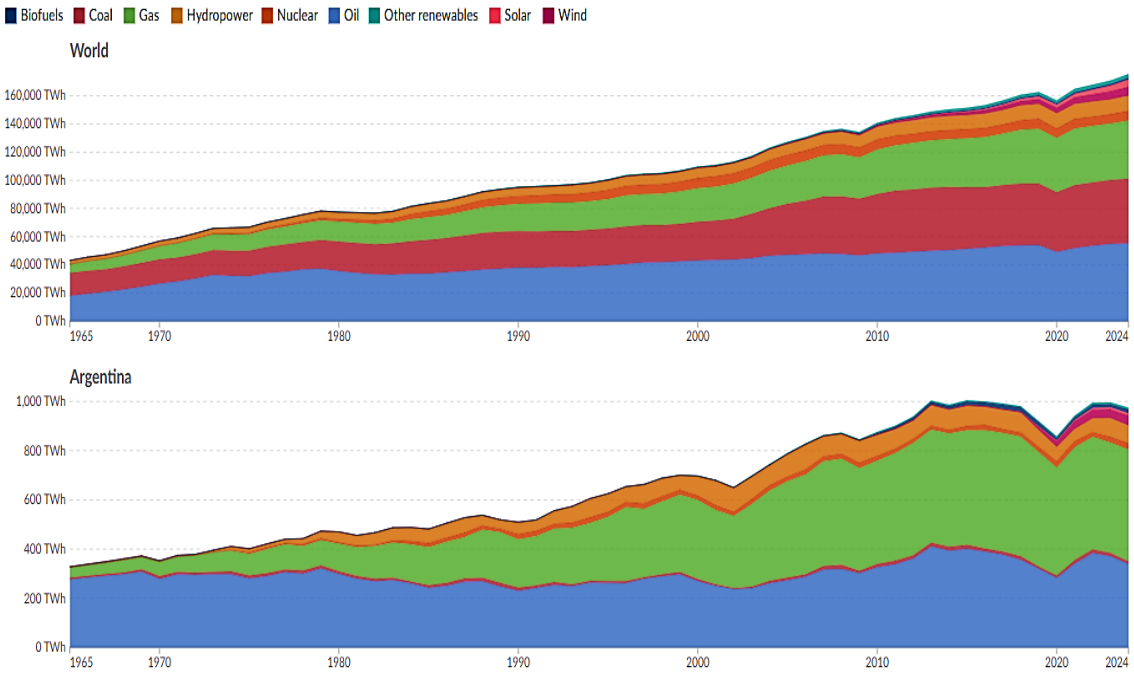
En paralelo, y con el fin de impulsar acciones concretas para mitigar el cambio climático, se estableció, en 1994, la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC), cuyo órgano de decisión es la Conferencia de Partes (COP). Desde la primera reunión celebrada en Berlín en 1995, se han realizado reuniones anuales en distintas ciudades del mundo con el fin de coordinar compromisos internacionales en materia climática. Entre sus hitos se destaca la COP 3 de Kioto (1997), que dio origen al primer protocolo legalmente vinculante para limitar las emisiones de GEI (Protocolo de Kioto), mediante el cual los países firmantes se comprometieron a reducir las emisiones al menos un 5 % respecto a los niveles de 1990, para el año 2012. Más tarde, en la COP21 de París (2015), se firmó un acuerdo internacional orientado a limitar el aumento de la temperatura media global a menos de 2 °C respecto a los niveles preindustriales, y en lo posible limitarlo a 1,5 °C. Las conferencias subsiguientes se han centrado en la implementación de dicho acuerdo. Según estimaciones recientes del IPCC, para alcanzar estos objetivos, las emisiones globales de GEI deberían reducirse en un 43 % para 2030, en comparación con los niveles de 2019 (IEA, 2025), compromiso ratificado en la COP26 celebrada en Glasgow.

La principal herramienta para alcanzar estas metas es la denominada **transición energética**, entendida como el reemplazo progresivo de un sistema energético basado en combustibles fósiles por otro de bajas o nulas emisiones de carbono, sustentado en fuentes renovables y tecnologías más eficientes. Entre las acciones clave de este proceso se encuentran: el fomento del uso de nuevos combustibles más sostenibles, como los combustibles sintéticos y los biocombustibles; la expansión de la generación eléctrica de bajo carbono; y la mejora de la eficiencia energética a través de la reducción de la huella de carbono tanto en el sector industrial como en la sociedad en su conjunto.

Si bien la transición energética no es un fenómeno nuevo, ya que en el siglo XIX se produjo el paso del uso de la biomasa leñosa al carbón y, posteriormente, en el siglo XX, del carbón al petróleo, la transición actual se distingue por estar motivada por la necesidad urgente de mitigar una amenaza ambiental global sin precedentes (Zhou et al., 2023).

En este marco, la matriz energética mundial (Figura 2) ha experimentado importantes transformaciones en las últimas décadas. No obstante, los combustibles fósiles continúan ocupando un rol central en el suministro global de energía.

Figura 2: Matriz energética histórica mundial y Argentina. Gráficos obtenidos de Ritchie y Rosado (2020).



Desde mediados del siglo XX, el petróleo, el carbón y el gas natural han constituido las principales fuentes energéticas, y aún hoy representan cerca del 60 - 70 % de la oferta total (IEA, 2024). En paralelo se observa un crecimiento sostenido de las fuentes de bajo carbono, en particular la energía eólica y solar, cuya participación en la generación eléctrica global pasó de ser marginal a inicios de los años 2000 a alcanzar en conjunto alrededor del 13 % en 2023 (Ember, 2024b). Este proceso de transición energética responde tanto a la necesidad de mitigar las emisiones de GEI como a la creciente demanda energética mundial asociado al desarrollo económico, la electrificación del transporte, el aumento de la digitalización y el crecimiento del consumo energético de los centros de datos (IEA, 2025).

No obstante, la evolución de la transición energética presenta una marcada heterogeneidad regional. Mientras que en algunos países desarrollados se registra una rápida incorporación de energías renovables y una paulatina reducción del uso del carbón, en numerosas economías emergentes los combustibles fósiles continúan expandiéndose

para responder a la demanda energética creciente, como sucede en China e India (BP, 2023; Ember, 2024a). De este modo, la transición energética se presenta como un proceso fragmentado, donde coexisten avances significativos en la participación de energías limpias con récords históricos en el consumo de carbón y gas natural.

En el contexto general, el incremento del consumo de energía mundial estuvo impulsado principalmente por los países del grupo BRICS, responsables de aproximadamente el 42 % del consumo energético global. Dentro de este bloque, China mostró, en 2024 un aumento del 6,6 %, duplicando su media del período 2010 - 2019, mientras que India registró un incremento del 5,1 %, ligeramente superior su promedio en el mismo período. En Brasil, el consumo energético interanual creció un 3,3 %, frente al 0,9 % interanual registrado entre 2010 y 2019. Rusia exhibió un incremento marginal del 0,3 %, y Sudáfrica experimentó una disminución del consumo del 1,2 %, asociada principalmente a problemas de suministro. Asimismo, se observaron incrementos relevantes en Oriente Medio (3,7 %), con especial protagonismo de Irán y los Emiratos Árabes Unidos, así como en países como Argelia, Vietnam e Indonesia.

Por el contrario, en los países de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) el consumo de energía disminuyó por segundo año consecutivo (-1,5 % en promedio), en un contexto de crecimiento económico moderado y una menor actividad industrial. La reducción fue particularmente marcada en la Unión Europea (-4,2 %, con un descenso del 9,3 % en Alemania), así como en Japón (3,5 %) y Corea del Sur (2,8 %). En Estados Unidos, en cambio, el consumo se mantuvo estable, como resultado de un mayor uso de petróleo para el transporte, compensado por una menor demanda de electricidad para refrigeración y por la caída del consumo de carbón (Enerdata, 2025).

En el caso de Argentina (Fig 2), la matriz energética muestra particularidades vinculadas a su disponibilidad de recursos naturales. El gas natural ha sido históricamente la principal fuente energética del país, llegando a cubrir más del 50 % de la generación eléctrica en las últimas dos décadas (IAEA, 2022). A esto se suman aportes relevantes de la hidroelectricidad y de la energía nuclear, que han contribuido a diversificar la matriz y a fortalecer la seguridad en el abastecimiento. En años recientes, impulsada por marcos regulatorios como la Ley 27.191 y programas como RenovAr, la participación de fuentes renovables no convencionales (principalmente eólica y solar) ha crecido de manera significativa, pasando de valores prácticamente nulos en 2010 a representar alrededor del

12 % en 2024 (Enerdata, 2024; Low Carbon Power, 2024). Pese a estos avances, el país mantiene una alta dependencia de los hidrocarburos, lo cual plantea desafíos en materia de seguridad energética, emisiones y diversificación de la matriz.

En síntesis, tanto a nivel global como nacional, la transición energética se encuentra en una etapa intermedia, caracterizada por el crecimiento sostenido de las energías renovables y de las tecnologías de bajo carbono, aunque todavía predomina el uso de los combustibles fósiles. En este escenario, la integración de fuentes renovables y estrategias de eficiencia energética resulta fundamental para reducir las emisiones de GEI y garantizar la seguridad energética. Tecnologías como la solar, la eólica y la hidroeléctrica han mostrado un crecimiento significativo, pero su expansión enfrenta desafíos relacionados con la intermitencia, la capacidad de almacenamiento y la adaptación de las redes eléctricas existentes.

En este contexto, la **bioenergía** se posiciona como un pilar estratégico para la descarbonización de los sistemas energéticos. Su principal fortaleza radica en la versatilidad de sus aplicaciones que abarcan desde la bioenergía sólida y los biogases utilizados para la generación de calor y electricidad en hogares y plantas industriales, hasta los biocombustibles líquidos utilizados en el transporte terrestre, marítimo y aéreo. Además, permite aprovechar gran parte de la infraestructura energética existente: por ejemplo, el biometano puede distribuirse a través de gasoductos ya instalados, mientras que muchos biocombustibles líquidos de sustitución directa son compatibles con las redes de distribución de petróleo y con los motores convencionales, requiriendo solo modificaciones menores.

1. Bioenergía

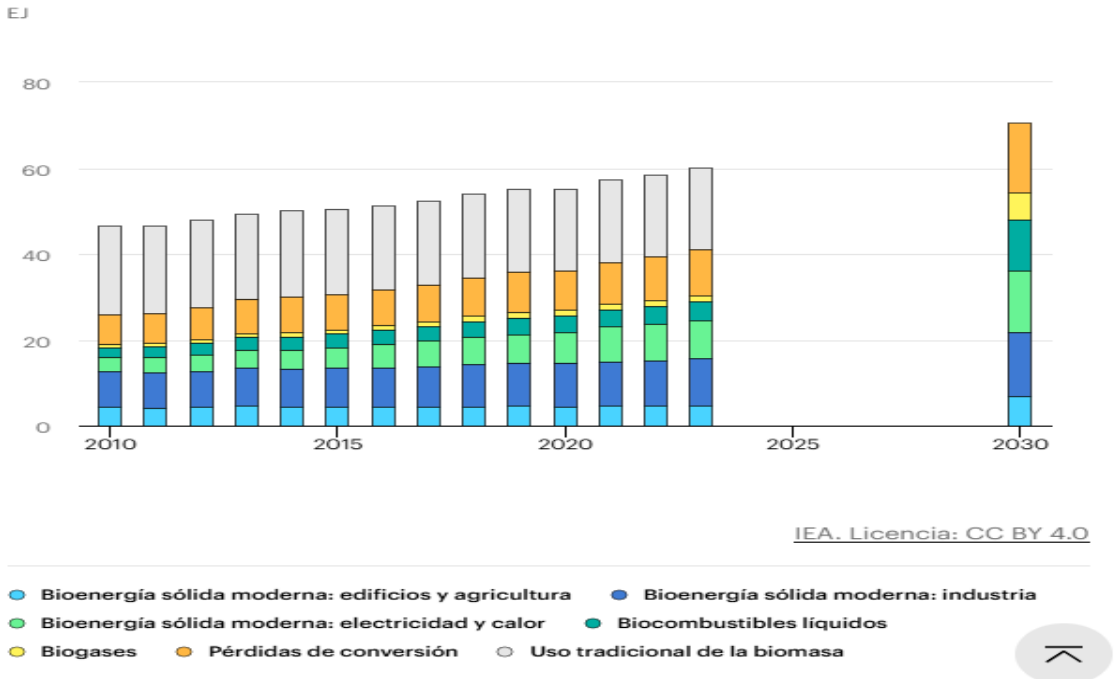
La bioenergía es una fuente de energía renovable obtenida a partir de la biomasa, entendida como materia orgánica de origen vegetal o animal. La misma implica cultivos energéticos, forestales o residuos orgánicos (IEA, 2024). El carbono presente en esta biomasa proviene, directa o indirectamente, de la fijación de dióxido de carbono atmosférico durante el proceso de fotosíntesis. En función de las tecnologías empleadas, la bioenergía puede clasificarse en dos grandes categorías: bioenergía tradicional y bioenergía moderna.

La bioenergía tradicional comprende el uso directo e ineficiente de biomasa, principalmente leña, residuos agrícolas o estiércol, mediante combustión en fogatas

abiertas o estufas rudimentarias para la cocción y calefacción. Este tipo de uso sigue siendo común en áreas rurales de países en desarrollo y, aunque constituye una práctica ancestral, se asocia a importantes impactos negativos. La combustión incompleta de la biomasa genera emisiones de humo, material particulado fino y otros contaminantes, responsables de graves problemas para la salud vinculados a la contaminación del aire en interiores, además de contribuir a la degradación ambiental y a la deforestación.

En contraste, la bioenergía moderna utiliza tecnologías más eficientes y controladas que permiten transformar la biomasa en combustibles sólidos, líquidos o gaseosos, así como generar electricidad y calor de manera más limpia y sostenible. Cuando la biomasa es producida y gestionada de manera sostenible, el dióxido de carbono liberado durante la combustión se reincorpora al ciclo natural del carbono, motivo por el cual la bioenergía moderna es considerada una fuente de bajas emisiones netas. Actualmente, la bioenergía moderna constituye la principal fuente de energía renovable a nivel mundial, representando cerca del 55 % del total de energía renovable y más del 6 % del suministro energético mundial, excluyendo el uso tradicional de biomasa (Figura 3).

Figura 3: Uso de bioenergía por sector a nivel mundial en el escenario de cero emisiones netas, 2010-2030. IEA: Gráfico obtenido de IEA (2024)



*La categoría **Pérdidas de conversión** corresponde a la energía contenida en la biomasa que no se transforma en energía útil debido a las ineficiencias inherentes a los procesos de conversión (por ejemplo, generación de electricidad, calor o biocombustibles).*

El escenario de emisiones netas cero para 2050 (*Net Zero Emissions*, NZE) la bioenergía desempeña un rol clave en el reemplazo progresivo de los combustibles fósiles, especialmente en aquellos sectores de difícil electrificación. Entre 2010 y 2023, el uso de bioenergía moderna ha aumentado a una tasa promedio del 4 % anual; sin embargo, para alcanzar los objetivos del NZE, se estima que su despliegue deberá acelerarse hasta aproximadamente un 8 % anual entre 2023 y 2030, garantizando, al mismo tiempo, que su producción no genere impactos sociales y ambientales negativos (IEA, 2024).

A pesar de estos avances, en 2023, cerca del 32 % de la bioenergía utilizada a nivel mundial provino del uso tradicional de la biomasa, principalmente para cocción a fuego abierto. Estas prácticas, además de ser ineficientes y altamente contaminantes, estuvieron vinculadas a casi tres millones de muertes prematuras por contaminación del aire en interiores. En línea con el escenario NZE y con el Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS) 7 de las Naciones Unidas, que promueve el acceso universal a energía asequible y no contaminante, se plantea la eliminación del uso tradicional de la biomasa hacia 2030. Paralelamente, se proyecta una expansión significativa de la bioenergía moderna, cuyo consumo debería duplicarse, pasando de aproximadamente 21 EJ en 2023 (equivalentes al 4,5 % del consumo final total) a cerca de 39 EJ en 2030 (9,5 % del consumo final total), lo que implica incrementar la tasa media de crecimiento anual del 2,5 % registrado entre 2010 y 2023 a aproximadamente 9,3 % en el período 2024 - 2030. En este marco, el uso tradicional de biomasa en las zonas rurales sería sustituido parcialmente mediante la implementación de biodigestores, la utilización de bioetanol y la incorporación de biomasa sólida en cocinas modernas, proporcionando acceso a energía limpia a más de 700 millones de personas en 2030.

Además de su contribución a la mitigación del cambio climático, la bioenergía sostenible ofrece beneficios socioeconómicos importantes. Entre ellos se destacan la generación de empleo e ingresos en comunidades rurales, la reducción de las cargas asociadas a la recolección de combustible, que recaen mayoritariamente sobre las mujeres, la mejora de la salud pública mediante la disminución de la contaminación del aire y la valorización los residuos orgánicos, contribuyendo a la reducción de emisiones de metano procedentes de su descomposición.

2. Biocombustibles

Los biocombustibles son compuestos químicos, tales como alcoholes, éteres y ésteres, obtenidos directa o indirectamente a partir de la biomasa y que, por tanto, son considerados una fuente de energía renovable (Herguedas et al., 2012).

Una de las clasificaciones más utilizadas se basa en el tipo de **materia prima** utilizada, distinguiéndose cuatro generaciones de biocombustibles:

- *Biocombustibles de primera generación:* se obtienen directamente a partir de cultivos agrícolas, aprovechando componentes como almidón, celulosa, azúcares o aceites vegetales presentes en cultivos tales como maíz, caña de azúcar, trigo, remolacha y soja. Este tipo de biocombustibles generan controversias, ya que utilizan materias primas destinadas a la alimentación humana o animal, lo que plantea potenciales conflictos entre los usos energético y alimentario (Casas-Jiménez et al., 2021)
- *Biocombustibles de segunda generación:* se producen a partir de biomasa lignocelulósica, proveniente principalmente de residuos agrícolas (paja, tallos), residuos forestales (ramas, restos de podas, aserrín), desechos urbanos orgánicos (cáscaras de fruta como piña, naranja o plátano, bagazos) y cultivos energéticos (Herguedas et al., 2012; Casas-Jiménez et al., 2021). Estos biocombustibles no compiten directamente con fuentes alimentarias y suelen tener un bajo costo, aunque su procesamiento resulta más complejo debido a la estructura de la biomasa.
- *Biocombustibles de tercera generación:* utilizan algas, especialmente microalgas, que se destacan por su elevada tasa de crecimiento, alta eficiencia fotosintética, y la posibilidad de cultivarse sin suelo agrícola, incluso en efluentes residuales o medios con bajo contenido de nutrientes (Borowitzka y Moheimani, 2013). Estas características las posicionan como una alternativa promisoria para la producción de biocombustibles sin competir por tierras cultivables.
- *Biocombustibles de cuarta generación:* derivan de la bioconversión de organismos vivos como microorganismos y plantas, mediante el uso de herramientas biotecnológicas avanzadas (Torrentes Espinoza, 2021). Su objetivo principal es optimizar la eficiencia productiva y, en algunos casos, lograr balances de carbono neutros o incluso negativos.

Otra clasificación ampliamente utilizada se basa en el **estado físico de los biocombustibles**, distinguiéndose biocombustibles sólidos, líquidos y gaseosos:

- *Biocombustibles sólidos:* Incluyen tanto productos tradicionales como leña y residuos agrícolas, como formas procesadas tales como pelets, briquetas, cáscaras de frutos, residuos forestales compactados y biocarbón. Se utilizan ampliamente en aplicaciones domésticas e industriales, especialmente para generación de calor, vapor, cogeneración de electricidad y procesos que requieren energía térmica de base. Su creciente valorización responde a la posibilidad de aprovechar de manera eficiente residuos agrícolas, forestales o industriales, promoviendo la economía circular y reduciendo emisiones por disposición inadecuada. Además, constituyen una alternativa energética descentralizada y sustentable en regiones sin acceso a gas natural u otras fuentes modernas (Demirbas, 2004; Obewenberger y Thek, 2010).
- *Biocombustibles líquidos:* constituyen una de las principales alternativas para sustituir progresivamente los combustibles fósiles en el transporte, sector responsable de cerca del 25 % de las emisiones globales de GEI (IEA, 2023a). Entre ellos se destacan el bioetanol, empleado como sustituto de la nafta, y el biodiesel, que puede utilizarse como reemplazo total o parcial del gasoil. Estos biocombustibles se obtienen a partir de materias primas agrícolas transformadas mediante procesos industriales que les confieren propiedades fisicoquímicas comparables a las de los combustibles fósiles convencionales.
- *Biocombustibles gaseosos:* se generan a partir de procesos de descomposición, conversión o fermentación de materia orgánica e incluyen el biogás, el biohidrógeno y el gas de síntesis (syngas) derivado de la gasificación de la biomasa. Estos gases pueden utilizarse en generación de electricidad, producción de calor, aplicaciones en el transporte y para su inyección en redes de gas natural (Appels et al., 2008; IEA, 2024). En América Latina, el desarrollo de biocombustibles gaseosos es aún incipiente, aunque existen experiencias relevantes en países como Brasil, Colombia, Chile y Argentina, donde se han desarrollado plantas piloto y proyectos de integración de biogás a redes térmicas rurales, estaciones de servicio o redes de gas natural comprimido (GNC) (Chavarría et al., 2019).

2.1. Biocombustibles en Argentina y en el mundo

La producción mundial de biocombustibles creció más de un 8 % en 2023, con los mayores incrementos registrados en Estados Unidos (75 mboe d^{-1}) y Brasil (65 mboe d^{-1}). En la región Asia-Pacífico, cuya producción total alcanzó los 422 mboe d^{-1}, Indonesia se destacó al aportar cerca del 46 % del total regional. A nivel global, el 54 % de los biocombustibles producidos correspondió a bioetanol y el 46 % a biodiesel. Estados Unidos también concentró alrededor de tres cuartas partes del consumo mundial de biocombustibles (Ember, 2024a).

2.1.1. Biodiesel

El biodiesel es un biocombustible obtenido a partir de lípidos naturales, como aceites vegetales o grasas animales, mediante un proceso químico denominado transesterificación. Este proceso consiste en la reacción de los triglicéridos presentes en los aceites con un alcohol de cadena corta, generalmente metanol o etanol, en presencia de un catalizador, para producir ésteres monoalquílicos (biodiesel) y glicerol como subproducto.

En la actualidad, la producción de biodiesel en Argentina se caracteriza por una dependencia absoluta de la soja como materia prima (MAGyP, 2025). La elección de la soja como fuente exclusiva para la producción de biodiesel se explica por la disponibilidad de extensas superficies aptas para su cultivo, la elevada escala productiva y el alto grado de desarrollo y tecnificación de la cadena de valor sojera, desde la siembra hasta la industrialización del grano para la obtención de aceite. Estos factores facilitan la integración con la industria del biodiesel y confieren competitividad económica al sector.

Sin embargo, esta dependencia de un único cultivo plantea desafíos. Desde el punto de vista económico, expone al sector a la volatilidad de los precios internacionales de la soja y a las fluctuaciones climáticas que pueden afectar las cosechas. Desde una perspectiva ambiental, la expansión del monocultivo de soja ha generado preocupaciones relacionadas con la deforestación, la pérdida de biodiversidad y el uso intensivo de agroquímicos, lo que subraya la necesidad de un manejo sostenible y de evaluaciones ambientales continuas. En este contexto, la diversificación de la matriz de materias primas aparece como una estrategia clave para fortalecer la resiliencia del sector. La exploración y el desarrollo de alternativas, como la utilización de microalgas, grasas animales o

cultivos no alimentarios contribuiría a mitigar algunos de los riesgos asociados a la dependencia de un solo cultivo.

Para la extracción de aceite a partir de granos oleaginosos se emplean principalmente tres enfoques metodológicos: la extracción por solventes, la extracción mecánica mediante prensas continuas y los métodos combinados que integran ambas técnicas. En la industria oleaginosa argentina predomina la extracción por solventes, debido a su alto rendimiento y eficiencia. Actualmente, sobre una capacidad nacional total de molienda de aproximadamente 200.000 toneladas diarias, alrededor de 161.000 toneladas son procesadas mediante el método de extracción por solvente. Santa Fe concentra cerca del 82 % de la capacidad nacional de molienda (163.000 toneladas diarias), seguida por Córdoba y Buenos Aires, con capacidades significativamente menores (18.450 y 16.480 toneladas diarias, respectivamente) (Bichos de campo, 2025) (Figura 4).

Figura 4: Distribución de la capacidad de procesamiento de oleaginosas entre provincias. (Bichos de campo, 2025)

Argentina: Capacidad de procesamiento diario de oleaginosas

@BCRMercados en base a J.J. Hinrichsen

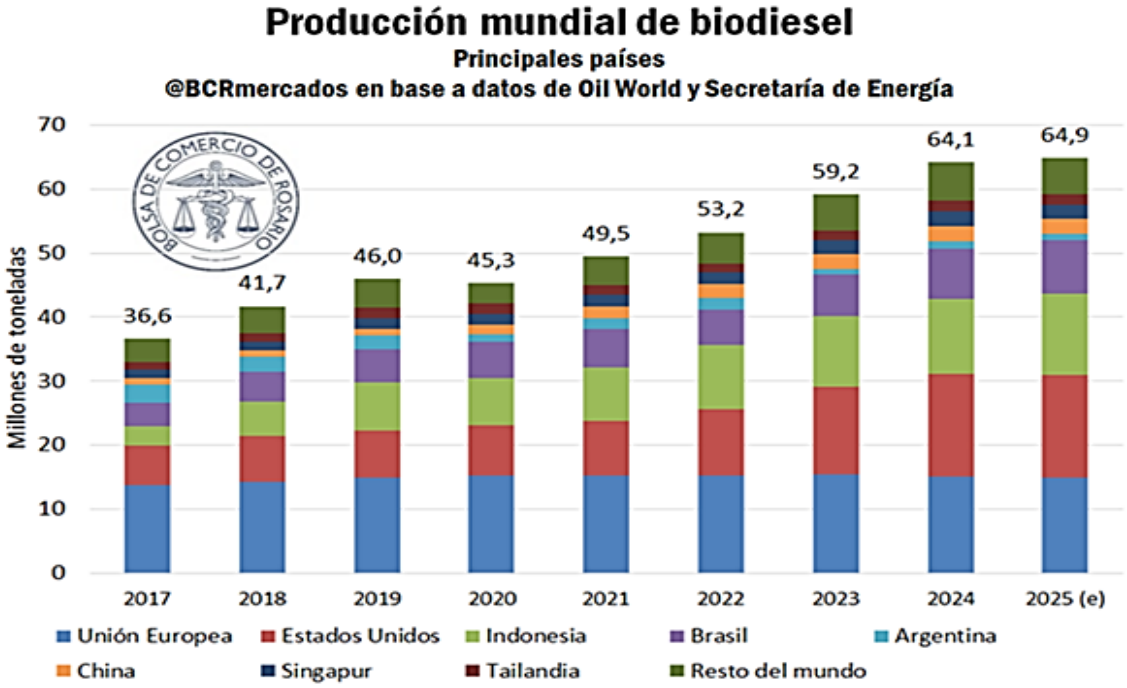
Jurisdicción	Extracción por solvente		Extracción y Prensas Continuas		Prensas Continuas		Total	
	Cant. Fábricas	Cap. 24 h	Cant. Fábricas	Cap. 24 h	Cant. Fábricas	Cap. 24 h	Cant. Fábricas	Cap. 24 h
CABA	1	700			1	75	2	775
Buenos Aires	5	7.330	5	9.150			10	16.480
Santa Fe	17	152.150	3	10.956	1	200	21	163.306
Córdoba	2	1.250	1	17.000	1	200	4	18.450
Entre Ríos			1	1.000	1	120	2	1.120
Salta					1	40	1	40
La Pampa			1	400			1	400
Total Provincias	**25**	**161.430**	**11**	**38.506**	**5**	**635**	**41**	**200.571**

@BCRmercados en base a datos de J.J. Hinrichsen

Muchas de estas empresas cuentan con plantas de biodiesel integradas con la producción de aceite, lo que mejora la eficiencia del proceso productivo.

A pesar de haber sido un país pionero en la producción de biodiesel, Argentina ha experimentado un notable retroceso en su participación en el mercado global (Figura 5).

Figura 5: Producción mundial de biodiesel entre 2017 y 2025. Gráfico obtenido de BCR (2025a)



Si bien la producción argentina de biodiésel aumentó un 40 % en 2024 en relación con 2023, el volumen registrado ese año representó una caída del 60 % respecto del pico alcanzado en 2017 (BCR, 2025b). Así mismo, la proyección para 2025 indica un nivel inferior de 67 % a ese máximo, a contramano de la tendencia global (BCR, 2025c). Informes recientes indican que los principales países productores exhiben un crecimiento sostenido del sector, con aumentos de dos y hasta tres dígitos. Indonesia cuadruplicó su volumen de producción en los últimos siete años, Brasil duplicó su capacidad productiva en el mismo período y Estados Unidos incrementó un 160 % su abastecimiento de biocombustibles derivados de aceites vegetales durante estos años al incluir el *Hydrotreated Vegetable Oil* (HVO), el cual es un biocombustible avanzado obtenido mediante el hidrotratamiento de aceites vegetales y grasas residuales, cuyas propiedades fisicoquímicas son comparables a las del diésel fósil. Por otra parte, China evidenció un crecimiento del 150 % en la producción de biodiesel, mientras que la Unión Europea, principal productor mundial de este biocombustible, incrementó su producción en un 10 % en los últimos siete años (BCR, 2025a). En contraste, la participación argentina en la producción mundial cayó del 7,8 % en 2017 al 1,8 % en 2024 (BCR, 2025a).

2.1.2. Bioetanol

A diferencia de lo observado para el biodiesel, la producción argentina de bioetanol ha mostrado una tendencia creciente en los últimos años, aunque continúa desaprovechando importantes oportunidades de desarrollo. En 2024, las seis plantas productoras de bioetanol a base de maíz y las once plantas que utilizan caña de azúcar alcanzaron una producción conjunta de 1,21 millones de metros cúbicos, lo que representó un incremento interanual del 4 % y constituyó el mayor registro histórico del país (BCR, 2025c).

Este crecimiento fue impulsado principalmente por la recuperación de la producción de caña de azúcar, que permitió un aumento del 26 % en el volumen de etanol derivado de este insumo. En contraste, la producción de etanol a base de maíz registró una caída del 6 %, aunque el volumen alcanzado se mantuvo como el segundo más alto de la serie histórica.

El marco normativo vigente, establecido por la Ley de Biocombustibles Nº 27.640 sancionada en 2021 y con vigencia hasta 2030, dispone un corte obligatorio del 12 % de bioetanol en las naftas comercializadas en el mercado interno, idealmente distribuido en partes iguales entre los derivados de caña de azúcar y de maíz. Sin embargo, en la práctica, esta proporción no se cumple.

A nivel internacional, Estados Unidos y Brasil concentran cerca del 80 % de la producción global de etanol, aunque con modelos productivos diferenciados (BCR, 2025c). En Estados Unidos, más de un tercio de la producción de maíz se destina anualmente a la elaboración de bioetanol, procesado en un complejo industrial conformado por casi 200 plantas industriales. En Brasil, el modelo se sustenta históricamente en la caña de azúcar, aunque en los últimos años ha crecido de manera sostenida la producción de etanol a partir de maíz. Además, el gobierno brasileño contempla elevar el corte obligatorio de bioetanol en las naftas del 27 % actual al 30 %, consolidando una política activa de expansión del consumo interno y consolidación de una matriz energética más diversificada y sustentable.

2.1.3. Biocombustibles sólidos

Según datos de la Agencia Internacional de la Energía (IEA), el 90% de la bioenergía utilizada a nivel global durante 2020 provino de biomasa sólida. De acuerdo con la World Bioenergy Association (WBA), los principales recursos que la componen son la leña (67

%), el carbón vegetal (7 %) y los residuos agrícolas y pecuarios (7 %). El uso de estos recursos puede dividirse, como se mencionó anteriormente, en dos categorías principales: tradicional y moderno (Blanco et al., 2021).

El uso tradicional de la biomasa representa la mayor parte del consumo global de biomasa sólida. Más de tres mil millones de personas, principalmente en comunidades de bajos ingresos, dependen de ella para cocinar y calefaccionarse mediane tecnologías rudimentarias (Manrique, 2022). Este tipo de uso está asociado a impactos negativos en la salud, el ambiente y la equidad social, y debería eliminarse por completo hacia el 2030 con el fin de alcanzar el Objetivo de Desarrollo Sostenible 7 de las Naciones Unidas, referido al acceso universal a energía limpia y asequible.

En contraste, el uso moderno se basa en la utilización de biocombustibles sólidos procesados y se ha consolidado como uno de los pilares de las energías renovables. Excluyendo el uso tradicional, la bioenergía moderna representó alrededor de la mitad de toda la energía renovable consumida a nivel mundial en 2017, superando en conjunto a la energía solar fotovoltaica y la eólica. Se utiliza principalmente para la generación de calor en edificios y procesos industriales. El crecimiento de la bioenergía moderna ha sido impulsado tanto por el fortalecimiento de políticas públicas como por los avances tecnológicos en el pretratamiento de la biomasa.

El comercio internacional de biomasa sólida con fines energéticos casi se duplicó entre 2004 y 2015, alcanzando un valor de mercado de 30.000 millones de dólares. Entre los biocombustibles sólidos más comercializados a nivel global, se destacan los pelets de madera, el carbón y la leña. En la Unión Europea, por ejemplo, el consumo de biocombustibles sólidos ha aumentado de manera significativa, impulsado en parte por el aumento de los precios de los combustibles fósiles. Por otro lado, este crecimiento demuestra una creciente demanda de alternativas energéticas orientadas a mitigar las emisiones de gases de efecto invernadero.

En 2015, los países con mayor consumo de biocombustibles sólidos fueron el Reino Unido, Brasil y Etiopía. El mercado mundial de biomasa sólida está dominado por los pelets de madera, a pesar del crecimiento sostenido del comercio de pelets no madereros como los elaborados a partir de cáscaras de girasol y palmiste. En 2022, la producción global de pelets de madera alcanzó los 46,4 millones de toneladas, siendo Estados Unidos, Canadá y Alemania los principales países productores. Europa lideró la producción con cerca del 58%, seguida por América (30,6 %) y Asia (10,9 %) (Escobar, 2025). A este

volumen se suman aproximadamente 6,2 millones de toneladas de otros productos aglomerados de madera y briquetas. Cabe destacar que el 28 % de la producción mundial de pelets, equivalente a unos 13 millones de toneladas, cuenta con la certificación ENplus, un mercado que se multiplicó por ocho entre 2013 y 2022, con Alemania, Italia y Austria como países líderes en número de entidades certificadas.

En Argentina, el Régimen de Fomento para el uso de Fuentes Renovables de Energía Destinada a la Producción de Energía Eléctrica (Ley 27191, 2015) y el Plan RenovAr constituyen los principales instrumentos de política pública para impulsar la transición energética. Aunque el 84% de la matriz energética nacional continúa dependiendo de combustibles fósiles, la biomasa ha sido identificada como una fuente con un alto potencial, especialmente a partir del aprovechamiento de biomasa residual. Estimaciones recientes señalan que los biocombustibles sólidos aportan cerca del 44 % de la oferta total de bioenergía del país, lo que equivale a unos 98 terajulios (TJ) anuales. De este total, el 88 % proviene de bagazo y leña, mientras que el 12 % restante se obtiene de otros recursos primarios como cáscaras de girasol, licor negro y residuos pecuarios. En cuanto al mercado de pelets de madera, en 2023, las exportaciones alcanzaron el 13,2 % del total producido ese año (82,6 mil tn) mientras que, durante 2024, se exportaron 31 mil toneladas aproximadamente, triplicando el volumen exportado en el año anterior. (SAGyP, 2026)

3. Cultivos energéticos

Los cultivos energéticos se definen como aquellos cultivos no alimentarios destinados específicamente a la producción de energía, principalmente en forma de energía térmica y/o eléctrica, así como de biocombustibles tales como bioetanol, biodiésel, biogás, biometanol, biometiléster, biocarburantes sintéticos, biohidrógeno, aceite vegetal puro, entre otros (Herguedas et al., 2012). Estos cultivos pueden ser leñosos o herbáceos y deben reunir una serie de características que garanticen su viabilidad técnica, económica y ambiental, en concordancia con los objetivos del NZE.

En este sentido, los cultivos energéticos deben:

- presentar un balance energético positivo;

- ser especies de crecimiento rápido y elevada eficiencia fotosintética, preferentemente perennes, con capacidad de rebrote a partir de rizomas, tubérculos u otros.
- permitir un manejo sencillo mediante técnicas y maquinarias convencionales;
- ser rentables para el productor, alcanzando altos niveles de productividad en biomasa con bajos costes de producción;
- no contribuir a la degradación ambiental ni al empobrecimiento del suelo;
- estar adaptados a las condiciones edafo-climáticas del lugar de implantación;
- presentar resistencia a plagas y a la sequía, alta eficiencia en el uso del agua y buena competitividad frente a malezas, de modo de reducir el uso de agroquímicos y minimizar la contaminación del suelo, el agua y la atmósfera.

Entre los cultivos energéticos lignocelulósicos más estudiados se destacan *Miscanthus spp* y *Panicum virgatum*, ambas especies de metabolismo fotosintético C4 y altas tasas de crecimiento, lo que las convierte en alternativas prometedoras para la producción de biomasa (Velasco y Guadabrazo, 2019). Asimismo, especies nativas o naturalizadas que crecen en ambientes no cultivados, como los pastizales naturales, representan una fuente adicional de biomasa con bajo requerimientos de insumos. En este grupo se incluyen especies como *Spartina argentinensis* y *Panicum prionitis*, cuya principal ventaja radica en que no requieren costos de implantación.

Finalmente, otras especies están siendo estudiadas como potenciales cultivos energéticos, entre ellas el cardo (*Cynara cardunculus* var. *altilis*), la cual presenta características agronómicas y productivas de interés para su aprovechamiento bioenergético.

4. Cardo (*Cynara cardunculus* L var. *altilis*)

El centro de origen del cardo se ubica en el sur de España y norte de África, donde se ha utilizado como hortaliza desde tiempos muy antiguos, incluso antes que el alcaucil (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*). Ambas formas cultivadas comparten un ancestro común, el cardo silvestre (*Cynara cardunculus* var. *sylvestris*), perteneciendo todos a la misma especie. A diferencia del alcaucil, la difusión del cardo como cultivo destinado a consumo humano ha sido históricamente muy limitada. En Argentina, la especie fue introducida durante el período de inmigración italiana y española, aunque su cultivo no logró consolidarse a gran escala.

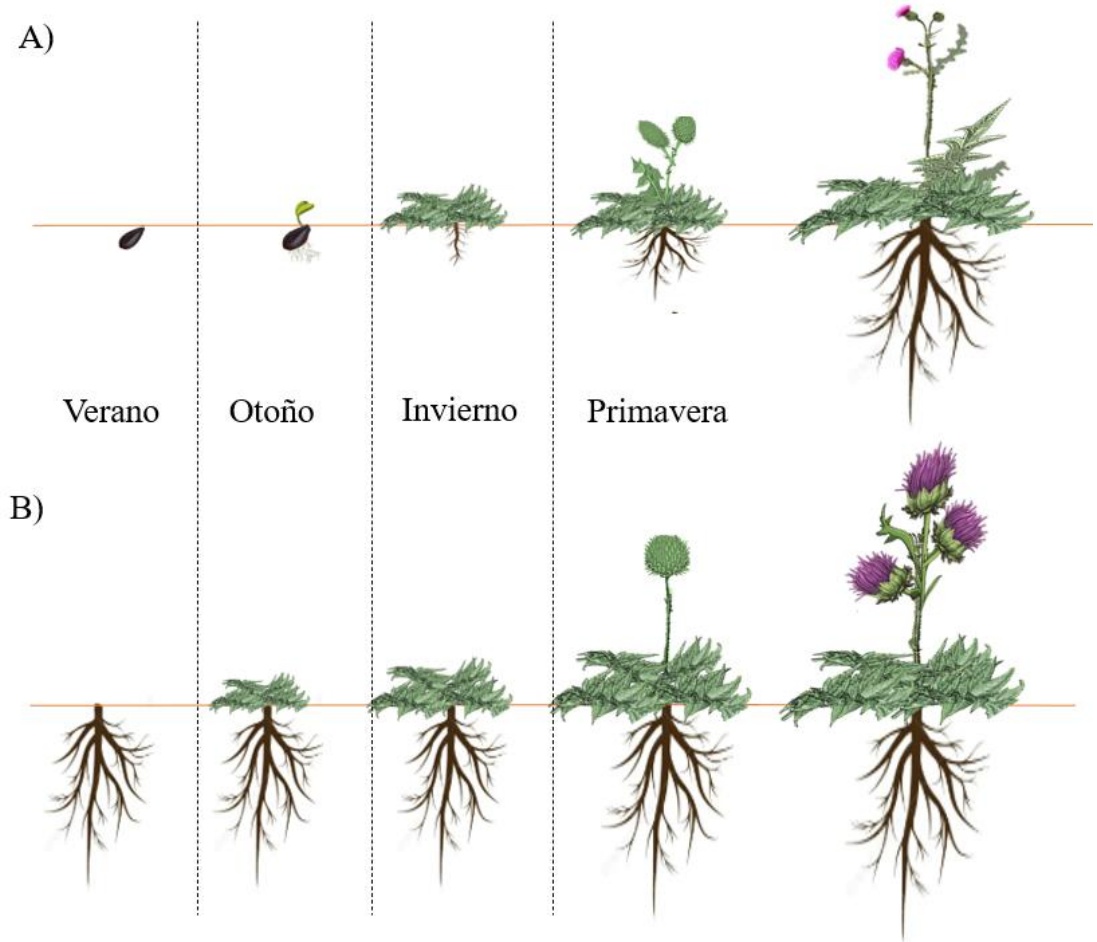
El cardo es una especie perenne que presenta un ciclo de desarrollo anual con dormancia estival, una estrategia característica de especies adaptadas a climas mediterráneos. Durante el verano, período generalmente asociado a sequías severas, las partes aéreas de la planta se secan y mueren, mientras que los órganos subterráneos permanecen viables. El rebrote ocurre a principios del otoño, cuando las condiciones ambientales vuelven a ser favorables. Desde el punto de vista botánico, las plantas con este patrón de vida se clasifican como hemicriptófitas**.** La forma de vida, el ciclo de desarrollo y la adaptación a los climas mediterráneos son criterios clave para el manejo agronómico del cardo como cultivo de secano y para evaluar su viabilidad en diversas aplicaciones productivas (Gominho et al., 2018).

La propagación por semilla del cardo se produce a través de aquenios, un fruto seco indehiscente y monocarpelar que contiene una única semilla. La germinación de los aquenios está fuertemente condicionada por la temperatura. Diversos estudios coinciden en señalar que, más allá de la variabilidad en las condiciones experimentales empleadas, la temperatura óptima de germinación se sitúa en torno a los 20 °C. No obstante, se ha observado que la germinación se mantiene en niveles satisfactorios dentro de un rango térmico comprendido entre 15 y 25 °C (Calabrese et al., 2019). En climas mediterráneos, estas condiciones permiten que el primer ciclo de desarrollo se inicie entre el otoño y la primavera. Tras la germinación, la plántula desarrolla una raíz primaria que se extiende en profundidad y que, con el tiempo, se transforma en una raíz pivotante robusta. De manera simultánea, se inicia el desarrollo foliar, conformándose progresivamente una roseta basal. Hacia finales de la primavera, siempre que haya transcurrido un período suficiente desde la germinación, como es habitual en los cultivos implantados en otoño, la planta desarrolla un tallo floral ramificado que sostiene múltiples capítulos. La fructificación ocurre en verano, momento en el cual los órganos aéreos se secan y mueren, mientras que los órganos subterráneos (raíces y las yemas perennes) permanecen activos. Durante este primer año, el crecimiento vegetativo suele ser lento, dado que los fotoasimilados se destinan simultáneamente a la formación de estructuras subterráneas y aéreas (Figura 6 a).

El cardo presenta un sistema radicular pivotante profundo, compuesto por una raíz principal y por raíces secundarias. Durante el primer año la raíz principal cumple principalmente funciones de absorción; posteriormente, adquiere un rol estructural y de almacenamiento, mientras que las raíces adventicias asumen la función de absorción. Las

raíces secundarias se desarrollan horizontalmente a diferentes profundidades y, en sus ápices, se forman rizomas que contienen las yemas necesarias para el rebrote al ciclo siguiente (Pesce y Mauromicale, 2019). Estas yemas perennes, localizada a nivel del suelo, dan origen a una nueva roseta foliar. El sistema radicular actúa además como un órgano de almacenamiento de carbohidratos, principalmente inulina (Raccuia y Melilli, 2010), lo que garantiza el suministro energético necesario para el rebrote otoñal. A partir del segundo ciclo, el desarrollo foliar es más rápido, lo que permite a la planta superar fácilmente la competencia con malezas debido a su mayor vigor y tamaño. En consecuencia, la producción de biomasa se incrementa significativamente a partir del segundo ciclo de desarrollo. En términos productivos, el primer ciclo cumple principalmente la función establecimiento del cultivo, mientras que los ciclos posteriores corresponden a los ciclos productivos (Figura 6 b).

Figura 6: a) Primer año de crecimiento de una planta de cardo. b) Segundo año de crecimiento de una planta de cardo. Adaptado de Gomhino (2018)



En cuanto a la parte aérea de la planta, durante el período vegetativo está formada por una roseta compuesta por aproximadamente 40 hojas, las cuales pueden alcanzar hasta un metro de longitud (Figura 7 a). Posteriormente, emerge un tallo floral acanalado piloso y ramificado, cuya altura varía entre 1,5 y 3,0 m. Las hojas del tallo son más pequeñas, alternas y lanceoladas. La floración es apical y las inflorescencias, comúnmente denominadas capítulos, se disponen como cabezuelas solitarias, pudiendo observarse hasta 20 en una planta muy vigorosa (Figura 7 b). El fruto, incorrectamente denominado semilla, es un aquenio oval de 8 mm de largo y hasta 3 mm de ancho, provisto de una estructura plumosa. El peso de 1000 aquenios oscila entre 20 - 40 gramos (Pesce y Mauromicale, 2019).

Figura 7: Fotos del cultivo de cardo en a) estado vegetativo y en b) floración



Diversos estudios desarrollados en la Comunidad Económica Europea indican que *Cynara cardunculus* var. *altilis* puede producir entre 15 - 20 t ha^{-1} $año^{-1}$ de biomasa aérea seca total, dependiendo de las condiciones edafoclimáticas y del estado de establecimiento del cultivo. Asimismo, puede mantenerse en producción durante más de diez años (Fernández et al., 2006; Angelini et al., 2009). Asimismo, se trata de una especie perenne con elevada plasticidad ecológica, capaz de crecer en una amplia variedad de suelos, incluidos aquellos de baja fertilidad y con limitaciones hídricas moderadas, debido a su profundo sistema radical y a su eficiente uso del agua (Fernández et al., 2006; Gominho et al., 2011; Ierna et al., 2012). Estas características favorecen su cultivo en

tierras marginales, reduciendo la competencia directa con cultivos destinados a la producción de alimentos.

El ciclo de desarrollo del cardo bajo diferentes condiciones climáticas ha sido ampliamente descrito por distintos autores (Fernández et al., 2006; Archontoulis et al., 2010; Raccuia y Melilli, 2010; Bolohan et al., 2013). En los últimos años, se han propuesto múltiples aplicaciones industriales alternativas para esta especie, destacándose su potencial para la producción de bioenergía tanto a partir de la biomasa seca (mediante procesos de gasificación y/o producción de bioetanol a partir tallos y hojas) como del aceite extraído de sus aquenios, destinado a la elaboración de biodiesel.

El interés bioenergético del cardo se sustenta en la relativamente baja demanda de insumos agrícolas, como fertilizantes, agroquímicos y labores de cultivo, así como en su elevada producción biomasa, de naturaleza predominantemente lignocelulósica y su elevado poder calorífico.

En este sentido, un estudio previo realizado en el sur de Santa Fe comparó accesiones de cardo cultivado (*Cynara cardunculus* var. *altilis*) y cardo silvestre (*C. cardunculus* var. *sylvestris*), demostrando el potencial de ambas variedades como fuentes de biomasa para uso bioenergético bajo las condiciones edafoclimáticas locales. No obstante, el cardo cultivado presentó un mayor rendimiento de biomasa que el silvestre, lo que sustentó su interés como cultivo energético en la región (Mancini et al., 2023). En este contexto, la presente tesis profundiza este antecedente mediante la evaluación del efecto del manejo agronómico sobre la producción de biomasa y grano del cardo cultivado, así como de distintas estrategias para su valorización energética. El aceite extraído de estos aquenios presenta un perfil de ácidos grasos comparable al de otras oleaginosas utilizadas para la producción de biodiésel, lo que lo convierte en una materia prima adecuada para este fin (Mancini et al., 2019).

En un contexto de creciente demanda de materias primas renovables para la producción de bioenergía y de la necesidad de diversificar los sistemas productivos agrícolas, resulta de interés incorporar especies perennes, de baja demanda de insumos y adaptadas a tierras de menor aptitud agrícola. En este sentido, *Cynara cardunculus* var. *altilis* constituye una alternativa promisoria debido a su elevada producción de biomasa, su rusticidad y la posibilidad de valorizar integralmente sus diferentes fracciones para la obtención de diversos biocombustibles y bioenergía. Además, su carácter perenne permite amortizar los costos de implantación durante varios ciclos productivos. Si bien estudios recientes

demostraron el potencial bioenergético del cultivo bajo las condiciones edafoclimáticas del sur de Santa Fe (Mancini et al., 2023), aún resulta necesario profundizar el conocimiento acerca del efecto del manejo agronómico del cultivo sobre el rendimiento en grano, la producción y calidad de la biomasa lignocelulósica, así como evaluar distintas estrategias de valorización energética de estas fracciones. En este contexto, la presente tesis aborda el efecto de la fecha de siembra, la densidad de plantas y el sistema de labranza sobre la productividad del cultivo y analiza diferentes alternativas para la valorización energética de la biomasa y los granos.

5. Análisis de ciclo de vida (ACV)

En el marco del actual proceso de transición energética, los biocombustibles se presentan como una alternativa clave para diversificar la matriz energética y reducir la dependencia de los combustibles fósiles. No obstante, su sostenibilidad ambiental no puede asumirse de forma automática, ya que depende en gran medida de las características específicas de cada cadena de producción. En este contexto, el Análisis de Ciclo de Vida (ACV) se constituye como una herramienta metodológica rigurosa y ampliamente aceptada para evaluar, de manera integral, los impactos ambientales asociados al uso de biocombustibles, en particular al biodiesel, a lo largo de todas las etapas de su ciclo de vida.

El ACV permite identificar y cuantificar los flujos de energía y materiales, así como las emisiones generadas, desde la producción agrícola de la materia prima hasta el uso final del biocombustible e incluso su disposición post-consumo. Esta perspectiva integral, conocida como enfoque "de la cuna a la tumba", resulta especialmente valiosa en el caso del biodiesel, ya que permite diferenciar entre sistemas productivos que, si bien generan un mismo producto final, pueden tener perfiles ambientales muy distintos según el origen de los insumos, las tecnologías empleadas y las condiciones locales de producción (ISO 14040, 2006; ISO 14044, 2006). El ACV es también cada vez más relevante en el plano regulatorio nacional e internacional, dado que numerosos marcos normativos exigen la verificación del desempeño ambiental de los biocombustibles a través de esta metodología. En consecuencia, el ACV no solo aporta valor científico, sino que constituye una herramienta estratégica para garantizar la compatibilidad de los biocombustibles con los estándares internacionales de sostenibilidad, mejorar su

aceptación en los mercados y orientar la formulación de políticas públicas basadas en evidencias.

En este contexto, en la presente tesis se propone analizar en profundidad el comportamiento agronómico del cardo (*Cynara cardunculus* var. *altilis*) como cultivo extensivo bajo las condiciones agroecológicas del sur santafesino. El estudio se centra en evaluar su potencial productivo en relación con su aprovechamiento como cultivo energético. Asimismo, se analizarán los impactos ambientales asociados a la producción de biocombustibles derivados del cardo mediante herramientas de Análisis de Ciclo de Vida, comparando distintos escenarios tecnológicos y de uso de la biomasa. De este modo, el trabajo aspira a generar información técnica y científica relevante que permita valorar la viabilidad del cardo como una alternativa sustentable dentro de la matriz energética y productiva nacional.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la potencialidad de *Cynara cardunculus* var. *altilis* como cultivo energético y la influencia del manejo agronómico del cultivo sobre la cantidad y calidad de biomasa lignocelulósica y aceite producidos.

Objetivos específicos

1. Determinar la incidencia de la fecha de siembra, tipo de labranza y densidad de siembra sobre la cantidad de biomasa lignocelulósica y granos producidos.
2. Analizar las características y el potencial energético de la biomasa residual para la obtención de energía mediante combustión directa.
3. Analizar el efecto de diferentes variables del proceso de peletizado sobre la productividad del proceso y la calidad de los pelets obtenidos.
4. Evaluar el comportamiento térmico y las emisiones gaseosas durante la combustión de pelets de biomasa de cardo.
5. Determinar la eficiencia de diferentes pretratamientos de la biomasa lignocelulósica en el proceso de obtención de azúcares fermentables para la producción de bioetanol.
6. Optimizar un protocolo de obtención de biodiesel a partir del aceite en función de las características del mismo.

7. Evaluar la calidad del biodiesel producido, en el marco de las normas nacionales e internacionales.
8. Cuantificar el balance energético y de emisiones asociado al uso de biocombustibles y a la sustitución de combustibles e insumos convencionales por productos obtenidos a partir del cardo.

HIPOTESIS

Como hipótesis de trabajo se plantean:

1. La fecha de siembra, la densidad de plantas y el sistema de labranza afectan el rendimiento en biomasa lignocelulósica y granos en cardo (*Cynara cardunculus* var. *altilis*).
2. El cardo, cultivado bajo las condiciones edafoclimáticas locales, presenta características adecuadas para ser incorporado al sistema productivo como fuente de materia prima para la obtención de biocombustibles de segunda generación y bioenergía mediante diferentes vías de aprovechamiento de sus fracciones.
3. Las variables operativas del proceso de peletizado afectan la productividad del proceso y la calidad de los pelets obtenidos a partir de biomasa de cardo.
4. Los pelets elaborados a partir de biomasa de cardo presentan un comportamiento térmico y niveles de emisiones gaseosas compatibles con su uso como biocombustible sólido.
5. La eficiencia de los pretratamientos biológicos depende del material utilizado como inductor del secretoma, y estos pueden alcanzar una mayor liberación de azúcares fermentables y un mayor rendimiento teórico de bioetanol que el pretratamiento químico.
6. El uso de cardo para la obtención de bioenergía es sustentable ambientalmente, reduce las emisiones de gases de efecto invernadero y posee un balance energético positivo.

CAPÍTULO 1: MANEJO AGRONÓMICO DEL CULTIVO

1. INTRODUCCIÓN

El cardo (*Cynara cardunculus* var. *altilis*) es una especie perenne originaria de la cuenca mediterránea que ha despertado un creciente interés como cultivo multipropósito en distintas regiones del mundo. Entre sus usos potenciales se destaca su aprovechamiento como cultivo energético debido a su rusticidad y a su elevada capacidad de producir biomasa lignocelulósica y aquenios ricos en aceite (Fernández et al., 2006; Gominho et al., 2018). Estas características lo posicionan como una opción prometedora para la producción de biocombustibles sólidos y líquidos, contribuyendo a la diversificación de la matriz energética a partir de recursos renovables.

Uno de los factores decisivos para la viabilidad agronómica y económica del cardo como cultivo energético en una determinada región es el rendimiento en biomasa aérea y en grano. Estos parámetros pueden variar significativamente en función del manejo agronómico, particularmente de la fecha de siembra, la densidad de implantación y el sistema de labranza del suelo (Ierna et al., 2012; Francaviglia et al., 2016; Deligios et al., 2017). En este sentido, la optimización de dichas prácticas resulta clave para maximizar la productividad del cultivo y favorecer su adopción a escala productiva.

La fecha de siembra influye directamente sobre la duración del ciclo vegetativo, la acumulación térmica y el desarrollo radicular, afectando tanto la formación de biomasa como la eficiencia en la utilización de recursos, tales como el agua y la radiación. En climas mediterráneos, se ha demostrado que las siembras más tempranas favorecen un mayor desarrollo vegetativo y una mayor producción de biomasa en el cultivo de cardo (Macua et al., 2006). No obstante, la evaluación de fechas de siembra primaverales resulta relevante para analizar la adaptación del cultivo a condiciones edafoclimáticas no mediterráneas, así como su comportamiento frente a distintos regímenes térmicos e hídricos.

Por su parte, la densidad de siembra determina la competencia intraespecífica por recursos. Este factor incide tanto sobre el número de capítulos por unidad de superficie como sobre el tamaño individual de los mismos, así como sobre el rendimiento total de materia seca (Raccuia et al., 2012). En este marco, resulta fundamental identificar una densidad de implantación que maximice la cobertura del suelo y reduzca la competencia

con malezas, sin intensificar excesivamente la competencia intraespecífica entre plantas del cultivo.

El sistema de labranza constituye otro aspecto relevante del manejo agronómico, ya que incide sobre la estructura del suelo, la disponibilidad de nutrientes y la capacidad de retención de agua. Mientras que las labranzas tienden a desagregar los macroagregados por acción física directa, estimulando la mineralización de la materia orgánica y la liberación de nutrientes; la siembra directa conserva el rastrojo en superficie, protegiendo los agregados del impacto de la lluvia y mantiene mayores niveles de materia orgánica. Aunque existen abundantes evidencias sobre los efectos de los sistemas de labranza en numerosos cultivos, la información disponible acerca de su impacto específico sobre el cultivo de cardo es aún limitada, lo que justifica la evaluación de las prácticas más utilizadas en la región de estudio. En este sentido, el estudio de Deligios et al. (2017) analiza el manejo integral de insumos en el cultivo de cardo, sin evaluar de manera aislada el efecto de los sistemas de labranza.

En este contexto, el presente capítulo aborda el primer objetivo específico de la tesis en el que se plantea evaluar el rendimiento de biomasa aérea y grano de *Cynara cardunculus* L. var. *altilis* bajo diferentes condiciones de manejo agronómico, analizando la interacción entre fechas de siembra, densidades de siembra y sistemas de labranza. Esta información resulta fundamental para establecer recomendaciones técnicas que optimicen la productividad del cultivo en el sur de la provincia de Santa Fe, Argentina y contribuyan a su inserción en esquemas agrícolas sustentables.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Determinar la incidencia de la fecha de siembra, tipo de labranza y densidad de siembra sobre la cantidad de biomasa lignocelulósica y granos producidos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.Clima y suelo

El ensayo se llevó a cabo en un lote de 50 m^2 perteneciente al campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario (UNR) ubicado en Zavalla, Santa Fe, Argentina (33° 01′S; 60°53′W). Las características edáficas corresponden a un suelo Argiudol Vértico de la serie Roldán.

El área de estudio, presenta un clima templado húmedo, con cuatro estaciones medianamente definidas, temperatura media anual cercana a los 15 °C y precipitaciones distribuidas a lo largo del año, aunque algo menores durante el invierno. Las heladas son ocasionales y de intensidad moderadas.

Durante todo el período experimental (octubre de 2018 - febrero de 2022) se registraron las precipitaciones y las temperaturas mediante los datos provistos por la estación meteorológica de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNR.

2.2.Material vegetal y manejo del cultivo

Como material vegetal se utilizó una variedad local (*landrace*) de cardo cultivado (*Cynara cardunculus* L. var. *altilis*).

El experimento se llevó a cabo en un diseño factorial, en el que se evaluaron tres factores (F) con dos niveles cada uno:

- F1- fecha de plantación: octubre de 2018 y marzo de 2019.
- F2- sistema de labranza: labranza superficial y siembra directa.
- F3- densidad de plantación: 2 y 4 plantas m^{-2}.

Todas las combinaciones entre los factores se evaluaron en un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones. Cada parcela estuvo constituida por seis hileras de 10 m de longitud, con una distancia entre hileras de 0,52 m. Las diferentes densidades de siembra se lograron modificando la distancia entre plantas en las hileras (1 m y 2 m entre plantas para 4 y 2 plantas m^{-2}, respectivamente).

El experimento se condujo en condiciones de secano. Al principio de cada ciclo de cultivo se aplicó fertilización nitrogenada a razón de 50 kg ha^{-1} de urea, definida a partir de los análisis de suelo realizados previamente y de antecedentes bibliográficos que reportan una adecuada respuesta de *C. cardunculus* a dosis moderadas de nitrógeno, incluso de hasta 50 kg N ha^{-1} (Grammelis et al., 2008).

Los datos se recogieron en las cuatro filas centrales de cada parcela, a fin de evitar efectos de borde. La cosecha se realizó manualmente durante febrero de cada año, cuando las plantas presentaban la parte aérea seca y los capítulos maduros, a lo largo de tres ciclos de cultivo (2020, 2021 y 2022). Las plantas se cortaron a ras de suelo, se separaron los capítulos y se pesaron los tallos y las hojas en el lugar. Posteriormente, los capítulos se trillaron manualmente y se pesaron, por separado, los granos y el resto de los capítulos

(brácteas, receptáculos). Se determinó la biomasa aérea total y su partición en tallos y hojas, granos y capítulos. El rendimiento en granos y en biomasa se expresó en toneladas por hectárea (t ha^{-1}).

2.3.Análisis estadísticos

Se evaluó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro y Wilk (1965) y la homogeneidad de las varianzas mediante la prueba de Barlett (1937). Los datos que no cumplieron con el supuesto de normalidad fueron transformados utilizando la función exponencial. Posteriormente, los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) correspondiente a un diseño factorial, con el fin de determinar la existencia de diferencias significativas entre las fechas de siembra, los sistemas de labranza, las densidades de siembra y sus interacciones.

El análisis estadístico se realizó utilizando el software R Studio. Las comparaciones entre valores medios se efectuaron mediante la prueba de Tukey (1949), con un nivel de significancia del 1 %.

3. RESULTADOS

3.1.Condiciones climáticas durante el período experimental

Durante el período comprendido entre octubre de 2018 y febrero de 2022 se registraron marcadas variaciones estacionales en las condiciones térmicas y de precipitaciones (Figura 8). Las temperaturas medias mensuales oscilaron entre 9 °C (julio de 2020) y 26 °C (enero de 2022), reflejando un patrón típico de clima templado, con inviernos fríos y veranos cálidos.

Las temperaturas máximas absolutas alcanzaron valores elevados durante los meses estivales, con picos de hasta 43 °C en noviembre de 2019 y enero de 2022, mientras que en primavera y verano las temperaturas máximas mensuales se mantuvieron generalmente por encima de los 33 - 35 °C. En contraste, las temperaturas mínimas registraron valores negativos durante varios meses invernales, con mínimos de hasta - 6,7 °C en julio de 2020, evidenciando la ocurrencia de eventos de heladas.

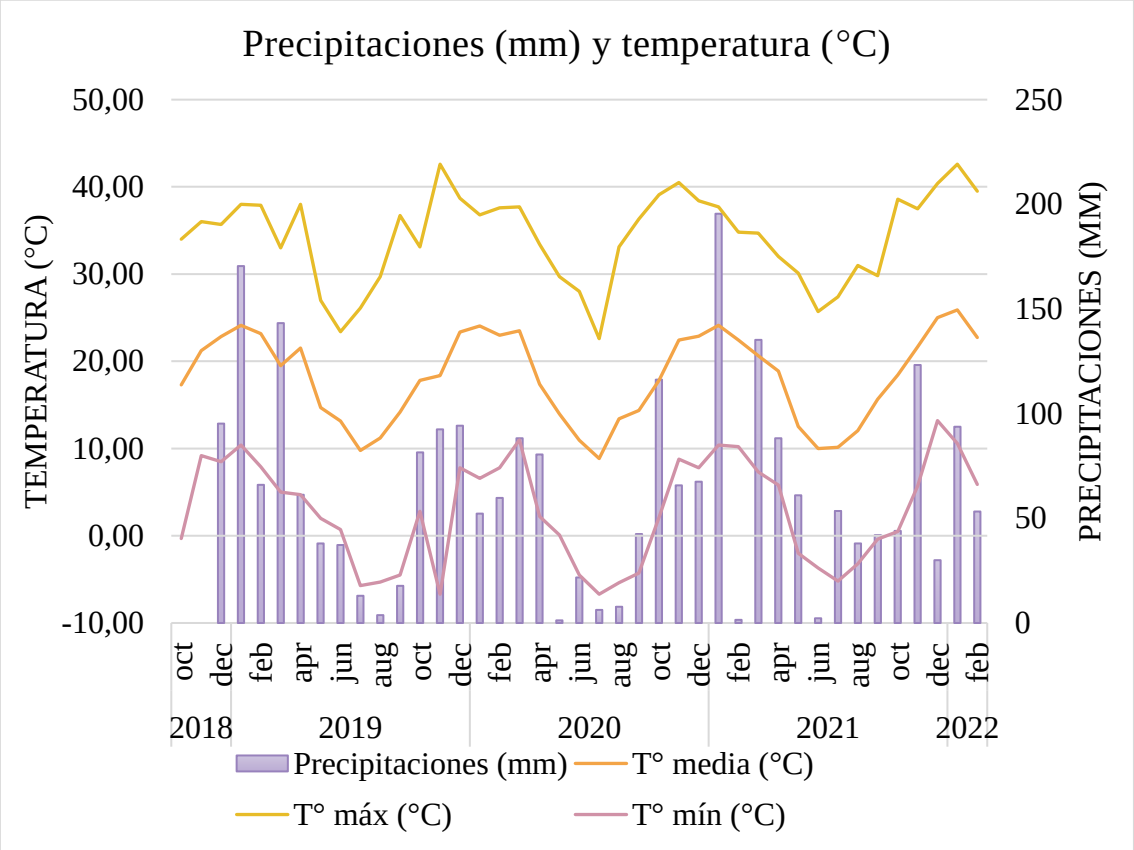
En términos de precipitaciones, se observó una alta variabilidad interanual y estacional. Los mayores acumulados mensuales se concentraron principalmente en primavera y verano, destacándose enero de 2019 (170,5 mm) y enero de 2021 (195,5 mm) como los

meses más lluviosos del período analizado. Por el contrario, se registraron meses con precipitaciones muy bajas o nulas, particularmente durante el invierno y algunos meses otoñales, como octubre y noviembre de 2018 (0 mm), mayo de 2020 (1,25 mm) y febrero de 2021 (1,5 mm).

El período invernal (junio - agosto) se caracterizó por bajas temperaturas medias, frecuentes valores mínimos bajo cero y precipitaciones reducidas, mientras que la primavera mostró un aumento progresivo tanto de la temperatura como de la disponibilidad hídrica. En los veranos analizados, las altas temperaturas coincidieron con eventos de precipitaciones intensas, aunque distribuidas de manera irregular entre años.

En conjunto, las condiciones climáticas registradas durante el período experimental evidencian una marcada amplitud térmica anual y una distribución irregular de las precipitaciones, factores que resultan relevantes para la interpretación de los resultados productivos y fisiológicos obtenidos en el cultivo bajo estudio.

Figura 8: Precipitaciones (mm), Temperaturas medias (T° media), máximas (T° máx) y mínimas (T° min) mensuales durante el período experimental (octubre de 2018 a febrero de 2022). Información obtenida de la estación meteorológica de la Facultad de Ciencias Agrarias

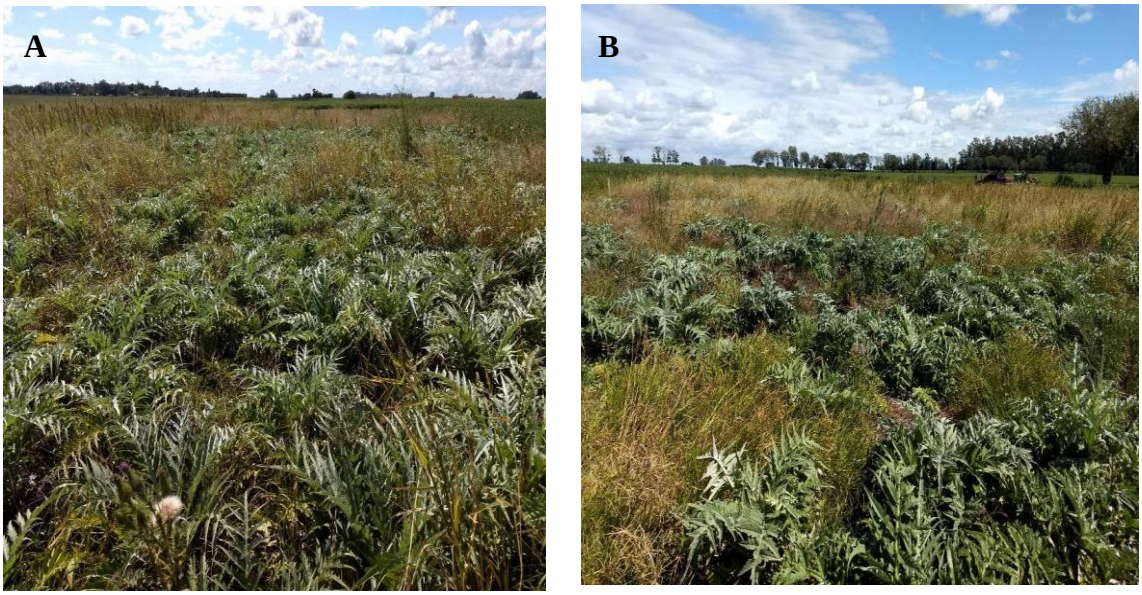


3.2.Establecimiento del cultivo y momentos de toma de datos

En el primer verano posterior a las siembras, independientemente de la fecha de implantación, no fue posible realizar cosechas debido al escaso desarrollo vegetativo de las plantas y la escasa o nula producción de capítulos (Figura 9 a y b). En consecuencia, la primera cosecha se efectuó en febrero de 2020 sobre las parcelas sembradas en octubre 2018, correspondientes a plantas con 15 meses de desarrollo. En el caso de las parcelas sembradas en marzo del 2019, la primera cosecha se realizó en febrero de 2021, a los 23 meses de la siembra.

De esta forma, las parcelas sembradas en octubre de 2018 fueron cosechadas durante tres ciclos consecutivos (2020, 2021 y 2022), mientras que aquellas sembradas en marzo de 2019 fueron cosechadas en dos oportunidades (2021 y 2022). Así, los datos obtenidos durante el año 2020 incluyeron exclusivamente las parcelas sembradas en octubre de 2018, por lo que fueron analizados de manera independiente respecto a los datos obtenidos en 2021 y 2022.

Figura 9: Parcelas de mayor (a) y menor densidad (b) de siembra en época de cosecha (febrero-2019)

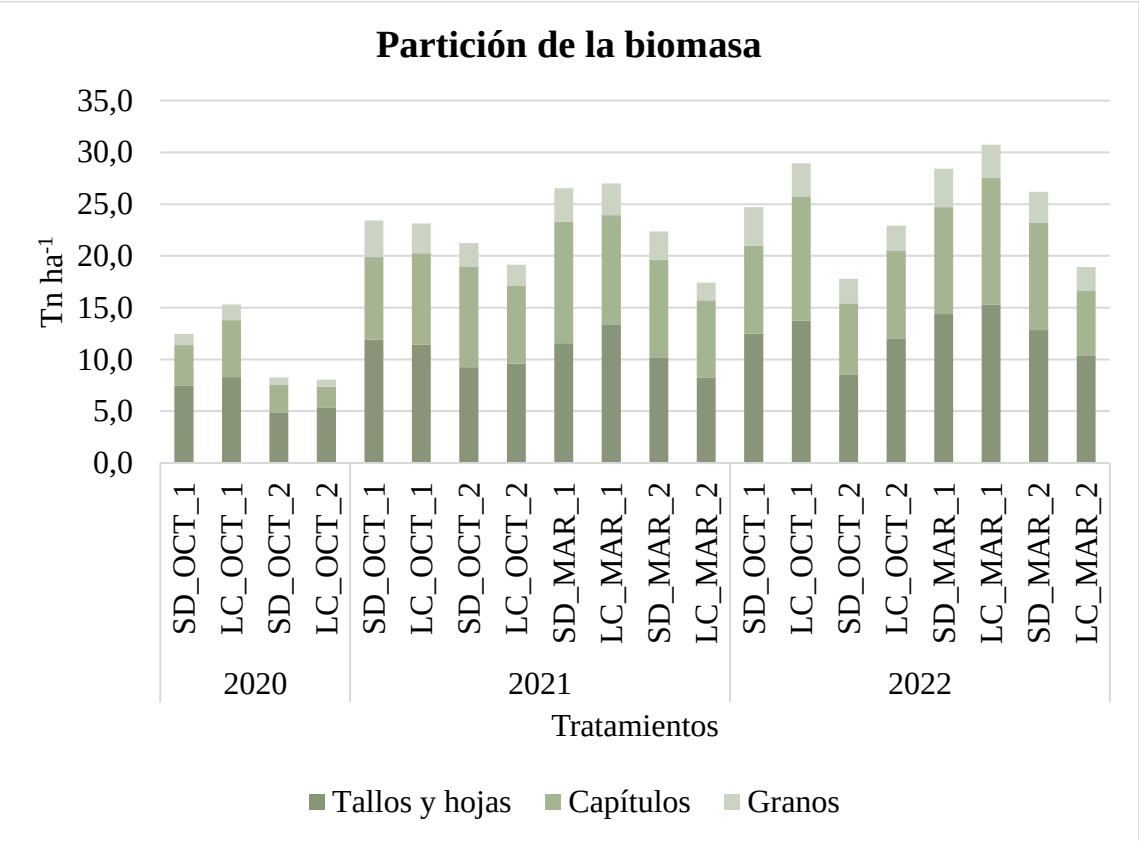


3.3.Partición de la biomasa

La partición de la biomasa mostró, en términos descriptivos, un cambio en la distribución relativa de sus componentes entre el primer y los ciclos posteriores de cultivo. En 2020, cuando solo se evaluaron los tratamientos implantados en octubre de 2018, los tallos y las

hojas representaron, en promedio, el 59,9 % de la biomasa total, los capítulos el 31,4 % y los granos el 8,7 %. En 2021, en los tratamientos correspondientes a la siembra de octubre, estas fracciones representaron el 48,6 %, 39,3 % y 12,1 %, respectivamente, mientras que en los implantados en marzo representaron el 46,5 %, 42,3 % y 11,3 %. En 2022, los tratamientos sembrados en octubre presentaron un 49,3 % de tallos y hojas, un 38,2 % de capítulos y un 12,5 % de granos, mientras que en los sembrados en marzo estas proporciones fueron del 51,1 %, 37,1 % y 11,8 %, respectivamente (Figura 10). En términos descriptivos, ambas fechas de siembra mostraron un patrón de partición semejante en 2021 y 2022. En comparación con 2020, en los ciclos posteriores se observó una disminución en la proporción de tallos y hojas, acompañada por un aumento de la participación de los capítulos y los granos.

Figura 10: Partición del total de biomasa aérea en tallos y hojas, capítulos y granos (expresada en t ha^{-1}) durante los tres años de evaluación (2020, 2021 y 2022) para los ochos tratamientos. SD: Siembra directa, LC: Labranza convencional, 1 y 2m (densidad de siembra de 2 y 4 plantas m^{-2})



3.4.Efecto del manejo agronómico sobre el rendimiento en granos y biomasa lignocelulósica

Los valores medios de rendimiento por año y por combinación de tratamientos se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1: Rendimiento medio y desvio estandar en grano y biomasa expresado en tn ha-1 por año y por combinación de tratamientos: Labranzas (SD: Siembra directa y LC: Labranza Convencional), Fecha de siembra (OCT: Octubre y MAR: Marzo) y Densidad de siembra: (1: 4 y 2: 2 plantas m^{-2})

Tratamientos	**Rendimientos medio en granos (tn ha^{-1})**			**Rendimientos medio en biomasa (tn ha^{-1})**		
	2020	*2021*	*2022*	*2020*	*2021*	*2022*
SD_OCT_1	1,10± 0,13	3,50± 0,43	3,72± 0,54	7,46± 1,18	16,40± 0,62	17,28± 2,81
LC_OCT_1	1,53± 0,90	2,87± 0,71	3,79± 0,17	8,29± 0,87	17,40± 1,59	22,50± 1,83
SD_OCT_2	0,68± 0,06	2,32± 0,78	2,79± 0,15	4,89± 0,39	16,60± 0,46	13,06± 0,84
LC_OCT_2	0,67± 0,13	2,03± 0,47	2,06± 0,15	5,32± 1,07	15,07± 2,47	18,13± 3,84
SD_MAR_1	-	3,22± 1,04	3,60± 0,49	-	20,10± 1,97	22,41± 2,16
LC_MAR_1	-	3,07± 0,40	3,22± 0,28	-	21,67± 1,88	24,28± 8,26
SD_MAR_2	-	2,73± 0,46	3,00± 0,50	-	16,90± 1,73	19,97± 3,49
LC_MAR_2	-	1,70± 1,01	2,56± 0,08	-	14,02± 0,63	14,40± 2,77

Valores expresados como media ± error estándar (n = 3)

En el año 2020 sólo fue posible evaluar el efecto de la densidad de siembra y del sistema de labranza. El análisis de la varianza no evidenció efectos significativos de ninguno de estos factores, ni de su interacción, sobre el rendimiento en grano ni sobre el rendimiento en biomasa lignocelulósica ($p < 0,01$, Tabla 2). No obstante, se observó una tendencia numérica hacia mayores rendimientos con la densidad de 4 plantas m^{-2}: los valores medios fueron de 1,32 t ha^{-1} de grano y 7,88 t ha^{-1} de biomasa lignocelulósica, frente a 0,68 y 5,11 t ha^{-1}, respectivamente, con 2 plantas m^{-2}. En ausencia de significancia estadística, estas diferencias se consideran tendencias descriptivas y no permiten atribuir un efecto concluyente a la densidad de siembra.

Tabla 2: Resultados del ANOVA (probabilidades de F) para el rendimiento en grano y biomasa lignocelulósica en el año 2020. Ds: densidad de siembra; Lb: tipo de labranza

2020	**Grano**	**Biomasa**
Ds	0,04 ns	0,03 ns
Lb	0,45 ns	0,18 ns
*Ds * Lb*	0,42 ns	0,18 ns

ns: no significativo

En las cosechas realizadas en los años 2021 y 2022 fue posible evaluar el efecto de la densidad de siembra, el sistema de labranza, la fecha de siembra y el año de cosecha, así como sus interacciones (Tabla 3). No se detectaron interacciones significativas entre los factores evaluados ni entre estos y el año de cosecha ($p < 0,01$).

Tabla 3: Resultados del ANOVA (probabilidades de F) para el rendimiento en grano y biomasa lignocelulósica en los años 2021 y 2022. Ds: densidad de siembra; Lb: tipo de labranza; Fs: fecha de siembra; Año: año de cosecha

2021 y 2022	**Grano**	**Biomasa**
Ds	0,0001*	0,0001*
Lb	0,009*	0,049 ns
Fs	0,992 ns	0,016 ns
Año	0,025 ns	0,050 ns
*Ds * Lb*	0,288 ns	0,040 ns
*Ds * Fs*	0,229 ns	0,077 ns
*Ds * Año*	0,975 ns	0,254 ns
*Lb * Fs*	0,741 ns	0,037 ns
*Lb * Año*	0,628 ns	0,225 ns
*Fs *Año*	0,991 ns	0,676 ns
*Ds * Lb * Fs*	0,703 ns	0,187 ns
*Ds * Lb * Año*	0,805 ns	0,932 ns
*Ds * Fs * Año*	0,341 ns	0,470 ns
*Lb * Fs * Año*	0,934 ns	0,061 ns
*Ds * Lb * Fs * Año*	0,134 ns	0,437 ns

*ns: no significativo; *: significativo (P < 0,01)*

En relación con los efectos principales, no se detectaron diferencias significativas entre las fechas de siembra para el rendimiento en biomasa lignocelulósica ni para el rendimiento en granos. Los rendimientos promedios en granos fueron similares tanto para las siembras otoñales como las primaverales, alcanzado 2,68 t ha^{-1} en 2021, mientras que en 2022 el rendimiento promedio para ambas fechas de siembra fue de 3,09 t ha^{-1}. En cuanto al rendimiento en biomasa lignocelulósica, en 2021 las siembras otoñales alcanzaron un promedio de 17,96 t ha^{-1}, mientras que en 2022 dicho valor ascendió a 19,91 t ha^{-1}. Si bien las siembras primaverales mostraron valores ligeramente inferiores (16,37 y 17,74 t ha^{-1} en 2021 y 2022, respectivamente) estas diferencias no resultaron significativas al nivel de probabilidad considerado.

La densidad de siembra tuvo efecto significativo tanto sobre el rendimiento en granos como sobre el rendimiento en biomasa lignocelulósica. Independientemente de los demás factores evaluados, la densidad de siembra de 4 plantas m^{-2} permitió alcanzarmayores rendimientos promedio de grano y de biomasa lignocelulósica por unidad de superficie que la densidad de 2 pl m^{-2}.

Tabla 4: Rendimiento promedio de granos y biomasa expresado en tn/ha según la densidad de siembra.

Densidad	**Grano**	**Biomasa**
2 pl m^{-2}	$2,38^{b}$	$16,16^{b}$
4 pl m^{-2}	$3,37^{a}$	$20,26^{a}$

Letras diferentes indican diferencias significativas al 1 % dentro de cada columna

El sistema de labranza afectó significativamente el rendimiento en granos, observándose valores promedios de 3,11 t ha^{-1} bajo siembra directa y 2,66 t ha^{-1} bajo labranza convencional. En cambio, el rendimiento en biomasa lignocelulósica no mostró diferencias significativas entre sistemas de labranza, aunque se registraron valores levemente superiores en siembra directa (19,25 t ha^{-1}) respecto de labranza convencional (18,28 t ha^{-1}).

4. DISCUSIÓN

Mientras que el comportamiento agronómico del cardo ha sido ampliamente estudiado en el sur de Europa (Gominho et al., 2018), en Argentina los estudios sobre el cultivo son

escasos y se han centrado, principalmente, en la identificación de regiones agroclimáticas aptas para su cultivo (Falasca, 2007) y en la evaluación comparativa de diferentes accesiones pertenecientes a las variedades botánicas *sylvestris* y *altilis*, para su cultivo como fuente de biomasa en la región central del país (Cravero et al., 2012; Mancini et al., 2023), sin profundizar en el efecto del manejo agronómico sobre la productividad del cultivo.

La germinación de las semillas de cardo se ve favorecida cuando la temperatura del aire oscila entre 15 y 25 °C (Calabrese et al., 2019). En las dos fechas de siembra evaluadas en el presente ensayo (primavera y otoño), se registraron temperaturas medias dentro de ese rango, con valores promedio de 20,5 °C y 16,5 °C, respectivamente, lo que indica que las condiciones térmicas fueron adecuadas para la implantación del cultivo en el sur de Santa Fe, Argentina.

Durante el período de establecimiento, las condiciones climáticas se caracterizaron por una marcada amplitud térmica estacional, con temperaturas máximas elevadas durante la primavera–verano y la ocurrencia de temperaturas mínimas cercanas o inferiores a 0 °C durante el invierno, junto con una distribución irregular de las precipitaciones. No obstante, estos valores se mantuvieron dentro de los rangos típicos de la región y no se registraron eventos climáticos extremos que comprometieran la supervivencia del cultivo.

En este contexto, los resultados obtenidos confirman que, bajo las condiciones agroecológicas del área de estudio, el cultivo de cardo presenta una marcada fase inicial de establecimiento, característica de los cultivos perennes, durante la cual el desarrollo vegetativo y reproductivo es limitado. Independientemente de la fecha de siembra, durante el primer verano posterior a la implantación las plantas mostraron un desarrollo reducido y una producción mínima de capítulos, lo que no justificó la realización de la cosecha en el primer año. Este comportamiento coincide con lo observado en otras regiones, en especial, en la región mediterránea, considerada el centro de origen y hábitat natural de la especie, donde se han reportado dinámicas de crecimiento similares, en las que el primer ciclo representa una fase de implantación y establecimiento, caracterizada por bajos rendimientos, seguido de incrementos sustanciales en los ciclos posteriores. En este contexto, los rendimientos promedio registrados en el presente estudio durante la primera cosecha (1,00 t ha^{-1} de granos y 6,49 t ha^{-1} de biomasa lignocelulósica (tallos y hojas) se encuentra dentro de los rangos esperables para una campaña inicial, en la que el cultivo prioriza la formación de estructuras vegetativas y del sistema radicular en

detrimento de la producción de biomasa cosechable. Con respecto a los años posteriores, los rendimientos de grano y de biomasa (tallos y hojas) mostraron un leve incremento durante el tercer año (2,98 y 19 t ha^{-1}, respectivamente) en comparación con el segundo año (2,68 y 17,27 t ha^{-1}, respectivamente), sin embargo, estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas.

Diversos estudios realizados en ambientes mediterráneos han documentado un incremento de la producción de biomasa entre la primera y las cosechas posteriores. Piscioneri et al. (2000) observaron aumentos del 780 % en la producción de biomasa entre el primer y segundo año de cosecha en siembras otoñales y un 60 % en siembras primaverales, realizadas en el sur de Italia, mientras que Angelini et al. (2009) y Mauromicale et al. (2014) registraron un salto productivo desde valores de 5,2 - 10 t ha^{-1} en el primer año hasta rendimientos estabilizados en torno a 15 - 19 t ha^{-1} en ciclos posteriores. De manera similar, Raccuia y Melilli (2007) registraron incrementos superiores al 170 % en biomasa y al 100 % en rendimiento en grano a partir del segundo año de cosecha. En el presente estudio también se observaron menores rendimientos durante la primera cosecha respecto de las posteriores, con un incremento particularmente marcado entre la primera y la segunda cosecha, mientras que las diferencias entre la segunda y la tercera fueron de menor magnitud. Este comportamiento es consistente con una menor productividad durante la etapa inicial de establecimiento del cultivo y un incremento de la producción una vez alcanzada la etapa productiva del cultivo, tal como ha sido observado en otros estudios sobre la especie. Por otro lado, Francaviglia et al. (2016) al evaluar el cultivo en una zona marginal del centro de Italia con una alta densidad de siembra (8 plantas m^{-2}), obtuvieron un bajo rendimiento de biomasa (1,73 t ha^{-1}) y nula producción de granos durante el primer año de implantación, mientras que en el segundo año observaron un aumento notable en los rendimiento alcanzando los 28,2 t ha^{-1} para biomasa y 3,5 t ha^{-1} para granos y, contrario a lo que sucedió en nuestra zona; a partir del tercer año ambos valores disminuyeron (17,92 t ha^{-1} de biomasa y 1,82 t ha^{-1} de grano), lo que sugiere que también podrían intervenir procesos de envejecimiento fisiológico y limitaciones ambientales que condicionan la persistencia productiva.

En este trabajo, la partición de la biomasa mostró variaciones entre los años de cosecha. Durante el primer año, correspondiente únicamente a los tratamientos implantados en octubre, la biomasa estuvo mayoritariamente constituida por tallos y hojas. En las cosechas posteriores se observó, en términos generales, una disminución de la

participación relativa de estas fracciones y un aumento de la proporción correspondiente a los capítulos y, en menor medida, a los granos. Sin embargo, este comportamiento no se presentó de manera uniforme en todos los tratamientos, por lo que las diferencias observadas deben interpretarse con carácter descriptivo. Las proporciones medias registradas durante el segundo y el tercer año fueron semejantes, lo que sugiere una mayor asignación relativa de biomasa hacia las estructuras reproductivas una vez superada la etapa inicial de establecimiento. Tendencias similares en la distribución de la biomasa a lo largo de los ciclos productivos han sido informadas para *Cynara cardunculus* en diferentes ambientes (Fernández et al., 2006; Raccuia y Melilli, 2007; Angelini et al., 2009).En conjunto, los resultados de la presente investigación y los antecedentes bibliográficos indican que el cultivo de *Cynara cardunculus* var. *altilis* presenta una menor producción de biomasa durante fase inicial de establecimiento respecto de los ciclos productivos posteriores. Esta característica no debe interpretarse como una limitación para el establecimiento del cultivo, sino como un aspecto que debe considerarse en el diseño del sistema productivo. En los tratamientos implantados en octubre, los rendimientos de biomasa y granos fueron menores durante la primera cosecha y aumentaron marcadamente a partir de la segunda. Entre el segundo y el tercer ciclo productivo, los rendimientos se mantuvieron relativamente estables, sin diferencias estadísticamente significativas. Este comportamiento, observado también en estudios realizados en otros ambientes, resulta consistente con el carácter perenne de la especie y con el aumento de su capacidad productiva una vez superada la etapa inicial de establecimiento, lo que resulta relevante para su integración en sistemas bioenergéticos de mediano y largo plazo. En este sentido, estudios realizados en el sur de Santa Fe (Argentina), donde se evaluaron los rendimientos durante el segundo año de implantación, registraron producciones de biomasa aérea comprendidas entre 12 y 19 t ha^{-1} en cardo cultivado (Cravero et al., 2012; Mancini et al., 2023), valores comparables con los reportados para otras regiones de clima templado.

En 2021, las precipitaciones estivales se concentraron en eventos de alta intensidad, particularmente durante enero y marzo, mientras que en 2022 presentaron una distribución más uniforme a lo largo del ciclo. Dado que la disponibilidad y la distribución temporal del agua pueden influir sobre la acumulación de biomasa y la producción de granos, estas diferencias entre campañas podrían haber generado respuestas productivas distintas. Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas en los rendimientos de

grano ni de biomasa entre 2021 y 2022. Asimismo, no se observó una interacción significativa entre la fecha de siembra y el año de cosecha. En las condiciones evaluadas, las diferencias meteorológicas registradas entre ambos años no se tradujeron en variaciones significativas del rendimiento del cultivo establecido.

En este marco, durante los ciclos 2021 y 2022 (segundo y tercer año de cosecha) fue posible evaluar el efecto de los distintos factores de manejo y sus interacciones. La ausencia de interacciones significativas entre los distintos factores evaluados y entre estos y el año de cosecha (tiempo de desarrollo del cultivo) sugiere una respuesta relativamente estable del cultivo frente a las prácticas agronómicas consideradas. En este contexto, la densidad de siembra emergió como el principal factor determinante del rendimiento, tanto en granos como en biomasa lignocelulósica. Las parcelas sembradas con 4 plantas m^{-2} superaron a las sembradas con 2 plantas m^{-2} en un 41 % en el rendimiento de granos y un 25 % en biomasa lignocelulósica Este comportamiento podría asociarse a una mayor cobertura del suelo y una mayor interceptación de la radiación, tal como ha sido reportado previamente (Sanz et al., 2016; Gominho et al., 2018). Sin embargo, el aumento del rendimiento observado al pasar de 2 a 4 plantas m^{-2} no fue proporcional al incremento de la densidad, lo que sugiere una mayor competencia entre plantas. Este comportamiento coincide con lo informado por Raccuia y Melilli (2007), quienes observaron que el aumento de la densidad de *C. cardunculus* redujo la producción de grano por planta y modificó la arquitectura y la partición de la biomasa. Por lo tanto, los resultados obtenidos muestran una respuesta positiva del rendimiento por unidad de superficie a la mayor densidad evaluada, aunque no permiten establecer una densidad óptima para el cultivo.

La influencia del tipo de labranza sobre el cultivo resultó más limitada y se manifestó principalmente sobre el rendimiento en granos. La siembra directa se asoció con mayores rendimientos en granos, con valores aproximadamente 17 % superiores a los obtenidos bajo labranza superficial. Este comportamiento resulta particularmente relevante, dado que se trata de una especie perenne con un sistema radicular profundo, cuya productividad depende en gran medida de la disponibilidad hídrica y nutricional durante las etapas reproductivas. La mayor estabilidad física del suelo y la mejor conservación de la humedad, características ampliamente reportadas para sistemas de labranza conservacionista, podrían favorecer una mayor disponibilidad de agua durante el período de llenado de grano y desarrollo de capítulos, etapas de elevada demanda de fotoasimilados (Pittelkow et al., 2015 a; Sadras y Calderini, 2021). En este contexto,

estudios sobre *Cynara cardunculus* han señalado que el rendimiento y la producción de biomasa se encuentran condicionados por las condiciones ambientales, en particular por la disponibilidad hídrica durante la fase reproductiva (Gominho et al., 2018) lo que permite inferir que prácticas de manejo orientadas a mejorar el balance hídrico del suelo podrían resultar beneficiosas para su implantación y desempeño productivo en ambientes pampeanos. En este contexto, la mayor estabilidad física y biológica del suelo bajo siembra directa favorecería la conservación de humedad y la disponibilidad de nutrientes, traduciéndose en un mejor desempeño reproductivo. Esta respuesta diferencial podría estar relacionada con los distintos requerimientos fisiológicos asociados a cada fracción. Mientras que la acumulación de biomasa vegetativa puede mantenerse bajo cierto grado de estrés, la producción de grano depende del adecuado desarrollo de las estructuras reproductivas y del posterior llenado de los aquenios, procesos que pueden verse afectados por restricciones hídricas o nutricionales. En *C. cardunculus*, se han reportado variaciones en el rendimiento y en los componentes del rendimiento de grano asociadas a las condiciones ambientales y al manejo hídrico (Ottaiano et al., 2017). Este comportamiento ha sido ampliamente documentado en la fisiología de cultivos, donde las etapas reproductivas suelen presentar una mayor sensibilidad a condiciones ambientales adversas (Pallardy, 2010).

En cultivos perennes, el efecto de las prácticas de labranza puede adquirir mayor relevancia a lo largo del tiempo, ya que la alteración reiterada del suelo modifica su estructura y puede afectar el desarrollo y funcionamiento del sistema radical. En este sentido, los sistemas de siembra directa han sido asociados con una mayor estabilidad de los agregados y una menor perturbación de la estructura del suelo respecto de la labranza convencional (Six et al., 2000), así como con cambios favorables en distintos componentes de la biota edáfica (van Capelle et al., 2012).

No obstante, la respuesta productiva a la labranza depende fuertemente de las condiciones ambientales y del manejo. A escala global, la siembra directa puede presentar rendimientos inferiores, equivalentes o superiores a la labranza convencional según el clima, la disponibilidad hídrica y su combinación con otras prácticas de agricultura de conservación; sus ventajas productivas tienden a ser mayores en sistemas de secano y ambientes con restricciones hídricas (Pittelkow et al., 2015b). Por lo tanto, la respuesta observada en *C. cardunculus* debe interpretarse en función de las condiciones particulares de suelo y clima de cada ciclo.

En conjunto, los resultados obtenidos en este capítulo indican que la respuesta inicial del cultivo, correspondiente la etapa de implantación, no permite distinguir los efectos de los factores de manejo, mientras que a partir del segundo año la siembra directa aporta beneficios concretos, en especial sobre el rendimiento en granos. Sumado a la elección de densidades de siembra adecuadas, esta práctica representa una herramienta relevante para optimizar la productividad del cardo en sistemas de manejo sustentables de mediano y largo plazo en la región. Esta información resulta clave para el diseño de sistemas productivos eficientes y sustentables basados en el cultivo de cardo en la región del sur santafesino.

5. CONCLUSIONES

En las condiciones del sur de Santa Fe, *Cynara cardunculus* L. var. *altilis* mostró un comportamiento agronómico favorable. En los tratamientos implantados en octubre, la primera cosecha presentó menores rendimientos de biomasa lignocelulósica y granos, mientras que a partir del segundo año la producción aumentó y se mantuvo relativamente estable. Este comportamiento confirma, para las condiciones locales, la importancia de considerar la etapa inicial de establecimiento al planificar el aprovechamiento productivo del cultivo.

La fecha de siembra no afectó significativamente los rendimientos de biomasa lignocelulósica ni de granos. En cambio, la densidad de siembra presentó un efecto significativo sobre ambas variables con rendimientos superiores en densidades 4 plantas m^{-2} respecto a los obtenidos con 2 plantas m^{-2}. También se observó un efecto significativo de la labranza sobre la producción de grano, con mayores valores bajo siembra directa. En cambio, la producción de biomasa no presentó diferencias entre sistemas de labranza. En conjunto, la densidad fue el factor con el efecto más amplio, ya que influyó tanto en la producción de grano como en la de biomasa. La siembra directa también favoreció la producción de grano, aunque ese efecto no se observó en la biomasa lignocelulósica.

CAPÍTULO 2: POTENCIAL ENERGÉTICO DE LA BIOMASA

1. INTRODUCCIÓN

En el contexto de transición energética, la biomasa es considerada una fuente de energía renovable de gran relevancia por su capacidad para sustituir parcialmente a los

combustibles fósiles y contribuir a la mitigación del cambio climático. Entre las principales ventajas asociadas a su utilización como materia prima para la obtención de biocombustibles pueden destacarse (Vignote Peña, 2016):

- Neutralidad en el balance de CO_2: las emisiones generadas durante su combustión son compensadas por la captura de carbono durante el proceso fotosintético.
- Bajo impacto ambiental: no emite contaminantes sulfurados ni nitrogenados, y genera escasa cantidad de partículas sólidas.
- Reducción de la dependencia energética externa: contribuye a disminuir la importación de combustibles fósiles.
- Madurez tecnológica: existen diversas tecnologías probadas que permite su conversión eficiente en energía útil en múltiples aplicaciones, desde la generación de calor y electricidad hasta biocombustibles avanzados, tales como gas de síntesis y biocombustibles líquidos.
- Prevención de riesgos forestales: la utilización de residuos forestales reduce la acumulación de material combustible en los bosques, reduciendo el riesgo de incendios y plagas.
- Valorización de residuos industriales y urbanos: reduce los volúmenes de desechos y mitiga los riesgos ambientales asociados a su disposición inadecuada.
- Desarrollo socioeconómico regional: el aprovechamiento de la biomasa puede fomentar la competitividad, generar empleo y contribuir al desarrollo de las economías locales, especialmente en áreas rurales.

Dentro de los distintos tipos de biomasa, la biomasa lignocelulósica constituye una de las fuentes más prometedoras para la generación de energía renovable (Angulo-Mosquera et al., 2021). Su amplia disponibilidad a partir de residuos agrícolas, forestales, subproductos de la industria de la madera y cultivos energéticos, la convierte en una alternativa local, abundante y versátil, capaz de contribuir de manera significativa a la independencia energética y a la reducción de gases de efecto invernadero. Además, su aprovechamiento presenta gran flexibilidad tecnológica, dado que puede convertirse en productos energéticos mediante dos vías principales: procesos termoquímicos y procesos bioquímicos.

Procesos termoquímicos: Constituye una de las principales rutas para la conversión energética de la biomasa. A través de transformaciones térmicas controladas, la materia orgánica se convierte en productos energéticamente valiosos, tales como calor, gases

combustibles, líquidos orgánicos o carbón sólido (Suman et al., 2020), con rendimientos y características dependientes de las condiciones operativas. Entre los procesos principales se incluyen:

- Combustión: proceso de oxidación completa de la biomasa en presencia de oxígeno, en el que se libera energía térmica en el rango de 800 - 1600 °C, la cual puede emplearse directamente para calefacción o generación de electricidad.
- Gasificación: implica una oxidación parcial de la biomasa a temperaturas de 600 - 1500 °C, produciendo gas de síntesis o gas productor, rico en CO, H_2 y CH_4 (Havilah et al., 2022), que puede utilizarse como combustible o como materia prima para la obtención de productos químicos o combustibles sintéticos mediante procesos catalíticos (Rauch et al., 2014)
- Pirólisis: se desarrolla en ausencia de oxígeno y a temperaturas de 450 - 1000 °C, generando una fracción líquida denominada bioaceite, un producto sólido carbonoso o biocarbón y una fracción gaseosa no condensable, compuesta principalmente por CO_2, CO, H_2, CH_4 y otros hidrocarburos ligeros (Bridgwater, 2000).
- Licuefacción hidrotermal: se realiza en un medio acuoso, bajo alta presión (5 - 25 MPa), evitando la ebullición del agua y a temperaturas de 200 - 500 °C. Temperaturas entre 200 y 250 °C favorecen la hidrólisis y fraccionamiento parcial de polímeros vegetales como celulosa, hemicelulosa y lignina, obteniéndose productos intermedios y sólidos ricos en carbono (hidrochar); las temperaturas intermedias-altas (250 - 374 °C) maximizan la producción de biocrudo (bio-oil), con rendimientos que pueden superar el 50 % en peso y una recuperación energética de hasta el 80 - 96 %; mientras que temperaturas más elevadas (> 374 °C) incrementan la formación de gases y reducen la fracción líquida, acercándose a la gasificación hidrotermal (Mathanker et al., 2021).

En conjunto, los procesos termoquímicos representan una alternativa versátil y eficiente para la valorización energética de una amplia gama de biomasas, permitiendo su transformación rápida y controlada en combustibles, productos químicos y energía útil.

Procesos bioquímicos: Se basan en la acción de microorganismos o enzimas que transforman los compuestos orgánicos en biocombustibles líquidos o gaseosos. Las rutas más empleadas son:

- Fermentación: utilizada en varios países para la producción de bioetanol a partir de materiales ricos en almidón como el maíz, azúcares como la caña de azúcar y la remolacha, o biomasa lignocelulósica como el cardo (tema abordado en el capítulo 3).
- Digestión anaeróbica: proceso biológico en el cual microorganismos degradan materia orgánica en ausencia de oxígeno, generando biogás (mezcla de metano y CO_2) y un residuo rico en nutrientes denominado digestato. Este proceso comprende cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, cuya eficiencia depende de variables como la temperatura, el pH, la relación C/N y el tiempo de retención del sustrato.

Mediante estas rutas de conversión, ya sea termoquímicas o bioquímicas, la biomasa puede transformarse en biocombustibles sólidos, líquidos o gaseosos (Velázquez Martí, 2018), adaptándose a distintas demandas energéticas y contextos regionales (Guo et al., 2015).

1.1.Biocombustibles sólidos

Los biocombustibles sólidos representan una de las formas más antiguas de aprovechamiento energético de la biomasa y, al mismo tiempo, una de las alternativas con mayor potencial en el contexto de la transición hacia sistemas energéticos sostenibles. A diferencia de otras fuentes renovables, la biomasa puede ser aprovechada tanto en su estado natural como tras procesos de conversión y densificación, lo que le otorga gran versatilidad para adaptarse a distintas escalas y contextos de utilización (Demirbas, 2004).

De acuerdo con distintos estudios, el sector residencial representa el principal demandante de biocombustibles sólidos, principalmente para calefacción y cocción a pequeña escala. En segundo lugar, se ubican los sectores industrial, comercial y agropecuario, que emplean este tipo de combustibles para la generación de calor de proceso y energía térmica. (Gaigalis y Skema, 2016; Lubwama y Yiga, 2018; Tauro et al., 2018; IEA, 2023b).

La diversidad de fuentes y formas de aprovechamiento permite clasificar a los biocombustibles sólidos tanto por su origen como por su nivel de procesamiento.

1.1.1. Clasificación según el origen de la biomasa:

- *Biomasa forestal:* comprende la materia orgánica derivada de los recursos forestales (troncos, ramas, cortezas, hojas, aserrín y virutas) utilizada para la producción de leña, carbón vegetal, astillas, pelets y briquetas. Además de su elevado poder calorífico, su aprovechamiento contribuye a la gestión sostenible de los recursos forestales y a la reducción de residuos generados en la industria maderera (Basotec, 2023; Forestal Cando, 2025)
- *Biomasa agrícola:* comprende los residuos de cultivos, tales como pajas, marlos, cáscaras y restos de cosecha. Este tipo de biomasa puede destinarse a la producción de pelets o briquetas, o emplearse directamente en calderas industriales (Basotec, 2023; Forestal Cando, 2025; Repsol, 2025). Su valorización contribuye a la economía circular, reduce la quema de rastrojos y disminuye la dependencia de combustibles fósiles en instalaciones industriales y de calefacción.
- *Residuos agroindustriales:* incluyen los subproductos generados durante los procesos de transformación de cultivos, como el bagazo de caña de azúcar o de frutas, pulpas secas y licor negro, que se emplean para generar energía térmica y eléctrica, contribuyendo a la economía circular (Basotec, 2023; Repsol, 2025). Este tipo de biomasa presenta disponibilidad continua y elevado potencial energético, especialmente en industrias azucareras, frutícolas y oleaginosa.
- *Residuos urbanos orgánicos:* provienen de restos de poda, fracciones orgánicas de residuos sólidos urbanos y desechos vegetales de jardines. Se utilizan para combustión en plantas de energía o producción de pelets industriales, reduciendo los volúmenes de vertidos y riesgos ambientales asociados.
- *Cultivos energéticos:* son especies cultivadas específicamente para la producción de bioenergía. Estas especies, leñosas o herbáceas, se caracterizan por su alta productividad, adaptación a condiciones marginales y bajos requerimientos de insumos. Entre las más estudiadas se encuentran el sauce (*Salix* spp) (Doffo et al., 2017), el álamo (*Populus* spp.) (Sixto et al., 2007), el eucalipto (*Eucalyptus* spp.) (Resquin Pérez, 2019) el mijo perenne (*Panicum virgatum*) (César et al., 2009) el miscanthus (*Miscanthus* x *giganteus*) (Santamaría Martínez, 2014), el cardo (*Cynara cardunculus* L.) (Ierna et al., 2020) y el sorgo biomásico (*Sorghum bicolor*) (Monti y Venturi, 2003). Los cultivos pueden destinarse a procesos

termoquímicos (combustión, gasificación o pirolisis) para la generación de energía térmica y eléctrica, o bien a procesos bioquímicos (fermentación o digestión anaeróbica) para la producción de biocombustibles líquidos y biogás. Su desarrollo contribuye a la diversificación de la matriz energética, a la reducción de emisiones de gases de efecto invernadero y al aprovechamiento sostenible de suelos agrícolas marginales. Asimismo, el cultivo puede integrarse en sistemas agroforestales o rotaciones agrícolas, reduciendo los impactos asociados al cambio indirecto de uso del suelo y mejorando la sostenibilidad global de la cadena bioenergética (Abreu et al., 2022).

1.1.2. Clasificación según el procesamiento

- *Leña:* constituye la forma más antigua y tradicional de aprovechamiento energético de la biomasa. Su uso se basa en la combustión directa de madera sin procesar proveniente de árboles enteros, ramas o podas forestales. La eficiencia energética depende de diferentes factores, sin embargo, el contenido de humedad es el factor determinante: la leña seca (< 20 % de humedad) mejora la combustión y reduce emisiones, mientras que la presencia de humedad disminuye la eficiencia térmica y aumenta la generación de humo y material particulado (Schueftan y Gonzalez, 2016). Representa una de las fuentes de energía más accesibles, especialmente en zonas rurales y en países en vías de desarrollo, donde se emplea en la cocción de alimentos, calefacción doméstica y generación de calor en pequeñas industrias rurales. Aunque es una fuente renovable, su utilización ineficiente (fogones abiertos o estufas simples) puede generar problemas de salud por exposición al humo y contribuir a la degradación ambiental cuando la extracción no se realiza de manera sostenible (Smith, 2006; HLPE, 2017).
- *Astillas de madera:* se obtienen mediante la trituración de biomasa leñosa, proveniente principalmente de industrias madereras (aserraderos y carpinterías), residuos forestales y podas urbanas o rurales. El tamaño puede variar según el grado de trituración, y su poder calorífico puede optimizarse mediante procesos simples de secado y clasificación. Se emplean en calderas industriales, sistemas de calefacción colectivos y, en algunos casos, en viviendas unifamiliares, constituyendo una alternativa renovable para la generación de calor y energía eléctrica a pequeña / mediana escala (IDAE, 2009; FAO, 2014; Garcia Ceca, 2024).

- *Carbón vegetal:* se genera por carbonización de biomasa lignocelulósica, principalmente de origen leñoso, bajo condiciones de pirólisis en ausencia parcial de oxígeno y a temperaturas que oscilan entre 400 y 700 °C. El producto obtenido, rico en carbono fijo, posee un poder calorífico superior al de la biomasa original (Antal y Grønli, 2003) y múltiples aplicaciones domésticas e industriales, incluyendo la metalurgia y la producción de acero, cemento y otros productos que requieren altas temperaturas sostenidas (Lehmann y Joseph, 2015).
- *Briquetas:* son bloques compactos de residuos lignocelulósicos (aserrín, virutas, pajas, cáscaras, restos de poda) elaborados mediante prensado mecánico o hidráulico. La lignina actúa como aglutinante natural, evitando el uso de aditivos. Su forma puede ser muy variada: macizas, huecas, prismática (rectangular, hexagonal u octogonal), aunque la más habitual es la cilíndrica. Su tamaño (40 - 100 mm) y densidad las hacen adecuadas para calderas industriales y calefacción comunitaria (Oladeji, 2015; Stolarski et al., 2016).
- *Pelets:* son cilindros pequeños y uniformes, (6 - 10 mm de diámetro, 10-30 mm de longitud). Por su alta homogeneidad y baja humedad son especialmente aptos para sistemas de combustión automatizados, como estufas y calderas domésticas, donde garantizan un suministro continuo y una combustión eficiente. Además, su formato facilita el transporte, almacenamiento y comercialización (Garcia-Maraver y Pérez-Jiménez, 2015; Ungureanu et al., 2016)

La leña, el carbón vegetal y las astillas han tenido un rol histórico en el consumo energético doméstico, sin embargo, presentan una muy baja densidad por lo que implican grandes volúmenes, lo que dificulta el transporte y almacenamiento. Por su parte, los biocombustibles densificados (pelets y briquetas) representan actualmente una de las opciones más eficientes y sostenibles para el aprovechamiento energético de la biomasa, ya que combinan facilidad logística, eficiencia térmica y reducción de emisiones, contribuyendo a la consolidación de cadenas bioenergéticas locales y sostenibles (Kaliyan y Vance Morey, 2009).

Las ***propiedades de combustión*** constituyen un conjunto de parámetros fundamentales para evaluar la aptitud de un material como biocombustible sólido. Estas propiedades pueden clasificarse en macroscópicas, relacionadas con el comportamiento global del material durante el manejo y la combustión propiamente dicha, **y** microscópicas,

vinculadas con los procesos internos de degradación térmica (Basu, 2018; Suman et al., 2020).

Las propiedades macroscópicas incluyen el contenido de humedad, la densidad aparente, el tamaño y forma de las partículas, así como el contenido de materias volátiles, cenizas y carbono fijo, determinados mediante el análisis inmediato, y el poder calorífico inferior (PCI). Estos parámetros determinan el comportamiento general del biocombustible durante la manipulación, el almacenamiento y la combustión, influyendo directamente en la eficiencia térmica, las emisiones y la formación de escorias o sinterizados en los equipos (Basu, 2018; Nunes et al., 2016).

Las propiedades microscópicas se asocian al comportamiento térmico y cinético del material durante la combustión, evaluadas mediante técnicas como el análisis térmico diferencial y estudios de cinética de combustión, así como a la composición mineral de las cenizas. Estos aspectos permiten determinar la reactividad del material, las etapas de liberación de volátiles y la formación de carbono residual, así como el comportamiento de los elementos inorgánicos a altas temperaturas (Vassilev et al., 2010).

Dentro de esta clasificación general, las propiedades macroscópicas y microscópicas pueden, a su vez, agruparse según su naturaleza en propiedades físicas, químicas, térmicas y minerales, las cuales aportan información complementaria sobre el comportamiento del biocombustible durante su preparación, combustión y generación de emisiones. Las propiedades físicas, (porosidad, densidad aparente, distribución de tamaño de partícula), dependen de los procesos de preparación del combustible (molienda, compactación, peletizado) (Nunes et al., 2016; Basu, 2018), mientras que las propiedades químicas (análisis elemental, el contenido de materiales volátiles, poder calorífico), determinan el potencial energético del material y su relación estequiométrica de combustión (Vassilev et al., 2010). Finalmente, las propiedades térmicas (tasa de pérdida de masa, velocidad de combustión, estabilidad de la llama) describen el comportamiento del combustible frente a la temperatura, y las propiedades minerales (composición de óxidos, presencia de elementos alcalinos y alcalinotérreos, y características de fusión de cenizas) determinan la tendencia a la formación de escorias, incrustaciones o sinterizados, influyendo en la operación de los equipos y en la calidad ambiental de las emisiones (Vassilev et al., 2010, 2013).

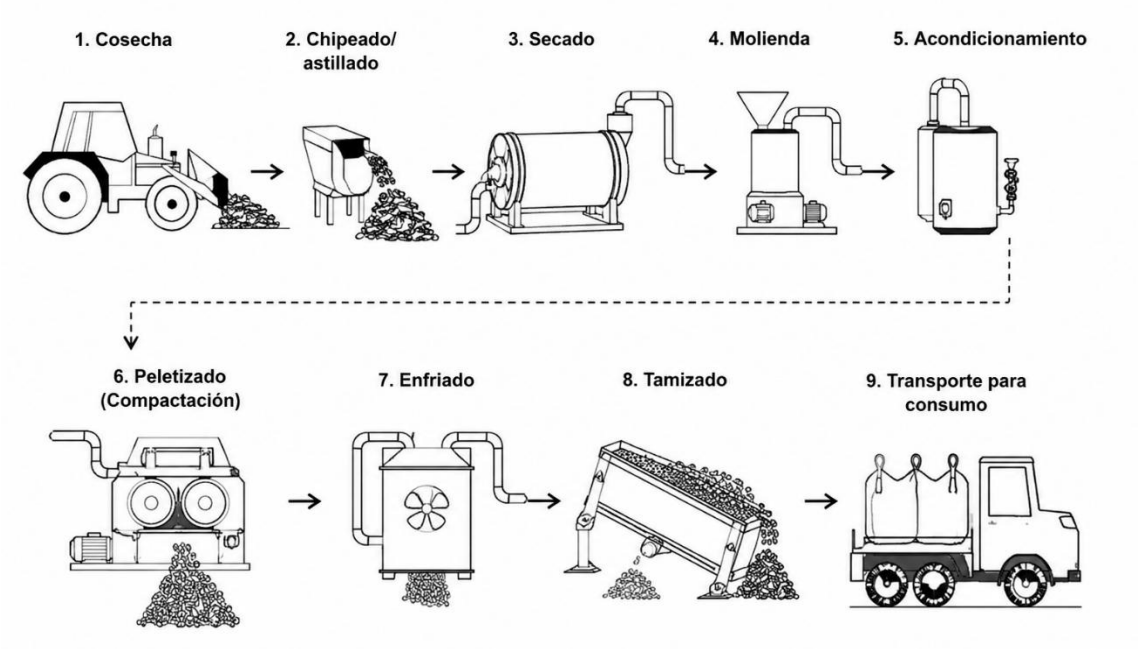
Durante la degradación térmica, la biomasa se descompone liberando humedad, materiales volátiles, carbono fijo y cenizas. La proporción de estos componentes depende

de la temperatura, el tiempo de residencia, la velocidad de calentamiento, la composición química de la materia prima y el tipo de reactor empleado (Demirbas, 2004). Estos factores, combinados, determinan el rendimiento energético y la estabilidad operativa durante la combustión o co-combustión de la biomasa.

1.2.Proceso de peletizado

El proceso de peletizado de biomasa lignocelulósica comprende una serie de etapas destinadas a transformar la materia prima en biocombustible sólido homogéneo y estable. Estas etapas incluyen la reducción de tamaño, secado, molienda, acondicionamiento, compactación (peletizado), enfriado y tamizado final (Figura 11) (Aragón-Garita et al., 2016). Cada una de ellas desempeña un papel crítico en la calidad y rendimiento del producto obtenido.

Figura 11: Esquema general del proceso de peletizado. Adaptado de (Aragón-Garita et al., 2016).



1.2.1. Reducción de tamaño inicial (chipeado o astillado)

La primera etapa consiste en el corte o astillado de la biomasa mediante el uso de chipeadoras con el objetivo de disminuir el tamaño de las partículas y facilitar su manipulación en operaciones posteriores. Este proceso aumenta la uniformidad del

material y optimiza su comportamiento durante el secado y la molienda (Kaliyan y Vance Morey, 2009).

1.2.2. Secado

El material astillado se somete luego a un proceso de secado, generalmente de tipo convectivo, mediante la circulación de aire caliente o gases calientes a través de la biomasa. A escala industrial, este proceso suele realizarse en secadores rotatorios, de banda o neumáticos; también pueden utilizarse sistemas indirectos, en los que el calor se transfiere al material sin contacto directo con los gases de combustión. El secado se mantiene hasta alcanzar un contenido de humedad adecuado para la compactación, cuyo valor depende del tipo de biomasa y de las condiciones del proceso. Este paso resulta fundamental para garantizar una correcta densificación del material y la estabilidad del pelet durante el almacenamiento. Un elevado contenido de humedad puede generar problemas de formación durante el prensado, disminuir la eficiencia energética y favorecer la degradación microbiológica (Stelte et al., 2011b; Garcia-Maraver y Pérez-Jiménez, 2015).

1.2.3. Molienda fina

El material seco se somete a una etapa de molienda mediante molinos de martillos u otros sistemas de trituración con el objetivo de obtener partículas homogéneas de tamaño reducido (generalmente menores a 4 mm). Este acondicionamiento mejora la cohesión entre partículas y la acción aglutinante de la lignina durante la compactación (Shankar Tumuluru et al., 2011) incrementando la calidad estructural y energética del pelet (Stelte et al., 2011b; Garcia-Maraver y Pérez-Jiménez, 2015).

1.2.4. Acondicionamiento de la biomasa

Durante esta etapa, la biomasa triturada es sometida a un ajuste de humedad y temperatura aplicándose, en algunos casos, vapor o calor adicional para optimizar las propiedades fisicoquímicas antes de la compactación. Este paso resulta determinante ya que tanto la temperatura como el contenido de humedad inciden directamente en la plasticidad y el comportamiento viscoelástico de los componentes lignocelulósicos, en particular de la lignina, que actúa como aglutinante natural durante el prensado (Stelte et al., 2011b).

1.2.5. Peletizado

El material previamente acondicionado se introduce en la peletizadora, donde los rodillos lo fuerzan a atravesar los orificios de una matriz. Durante este proceso, la biomasa es sometida a presión y su temperatura aumenta como consecuencia de la fricción y de la energía mecánica aplicada. Estas condiciones favorecen el ablandamiento de la lignina, la deformación plástica y el entrelazamiento de las fibras, contribuyendo a la unión entre las partículas y a la compactación del material (Kaliyan y Vance Morey, 2009). El peletizado no solo incrementa la densidad energética del material, sino que también mejora su comportamiento durante el transporte, almacenamiento y combustión.

1.2.6. Enfriado

Al salir de la matriz, los pelets presentan una temperatura considerablemente elevada, debido a la fricción interna y a la energía mecánica aplicada durante el proceso de compactación. En estas condiciones, el material aún conserva cierta plasticidad y humedad residual, lo que puede comprometer su estabilidad estructural, por lo que debe ser enfriado, mediante corrientes de aire ambiente o forzado, para estabilizar su estructura, solidificar la lignina y reducir la humedad a valores inferiores al 10 %, adecuados para el almacenamiento (Stelte et al., 2011b).

1.2.7. Tamizado y eliminación de finos

Finalmente, los pelets se someten a un tamizado para eliminar partículas no conformes (finas o sobredimensionadas), asegurando una granulometría uniforme y mejorando la calidad del producto final para su comercialización (Stelte et al., 2011b)

1.3.Calidad de los pelets

Las normas internacionales ISO 17225 constituyen el principal marco de referencia para la clasificación y estandarización de biocombustibles sólidos. Desarrolladas por la *International Organization for Standardization* (ISO), estas normas establecen especificaciones técnicas que aseguran la calidad, seguridad, trazabilidad y comercialización internacional de productos como leña, astillas, briquetas, pelets y carbón vegetal.

En términos generales, las series de normas ISO 17225 definen:

- Tipos de biocombustibles sólidos: leñosos, no leñosos, mezclas, residuos agrícolas, industriales y urbanos.
- Clases de calidad, establecidas según el tipo de biocombustible: Para los pelets no leñosos, la norma ISO 17225-6:2021 distingue las clases A y B. La clase A presenta requisitos más estrictos, mientras que la clase B admite límites mayores para determinados parámetros, como humedad, cenizas y contenido de algunos elementos químicos.
- Parámetros técnicos: tamaño de partícula, contenido de humedad y cenizas, poder calorífico, contenido de nitrógeno, azufre y cloro, densidad aparente y durabilidad mecánica (particularmente relevante en pelets y briquetas).

Dentro de esta serie de normas, ISO 17225-6 (2021) hace referencia a los pelets producidos a partir de biomasa no leñosa, tales como plantas herbáceas, residuos frutales, biomasa acuática y mezclas diversas. Esta norma reviste especial importancia para la valorización energética de cultivos no convencionales y residuos agrícolas, los cuales suelen presentar mayores contenidos de cenizas, sílice o cloro en comparación con la biomasa leñosa. En este marco, la ISO 17225-6 establece dos clases de calidad (A y B) en función de las características de la materia prima y de los requisitos físico-químicos del pelet. La clase A corresponde a pelets de mayor calidad, orientados principalmente a usos domésticos, mientras que la clase B admite una mayor diversidad de materiales, incluidos determinados subproductos industriales, con límites menos estrictos, aunque excluye el empleo de madera tratada químicamente. En ambos casos, la norma define controles de calidad destinados a minimizar problemas operativos, como la corrosión y la obstrucción de los equipos de combustión, facilitando así el aprovechamiento eficiente de materiales alternativos, como el cardo, en mercados energéticos cada vez más diversificados y en cadenas de suministro certificadas y sostenibles.

1.3.1. Parámetros de calidad

La calidad del pelet depende de las condiciones operativas y de las propiedades intrínsecas de la biomasa utilizada (Kaliyan y Vance Morey, 2009). Entre los parámetros más relevantes para su evaluación se incluyen el poder calorífico, la densidad aparente, la durabilidad mecánica, el contenido de humedad y cenizas, y la longitud del pelet. Cada uno de estos factores incide de manera directa en la eficiencia energética, la manipulación y el desempeño del biocombustible en los sistemas de combustión.

1.3.1.1.Poder calorífico

El poder calorífico es uno de los parámetros más importantes para caracterizar biocombustibles sólidos, ya que determina la cantidad de energía térmica liberada durante la combustión completa de una unidad de masa del material. Se puede clasificar en:

- Poder Calorífico Superior (PCS): representa la energía total liberada por la combustión, incluyendo el calor de condensación del vapor de agua generado por el hidrógeno presente en la biomasa.
- Poder Calorífico Inferior (PCI): excluye el calor de condensación, considerando únicamente la energía útil disponible en condiciones normales de uso, donde el vapor de agua producido no se condensa (Basu, 2018; Klass, 1998).

En los pelets de biomasa, el PCI se emplea como parámetro de referencia, ya que refleja con mayor precisión la energía efectivamente aprovechable en calderas y estufas. Un mayor PCI implica un combustible más eficiente, capaz de producir más calor por kilogramo consumido. Las normas internacionales de calidad ISO 17225-2:2021, para pelets de madera, e ISO 17225-6:2021, para pelets no leñosos, establecen valores mínimos de PCI, expresados en base tal cual, recibida, de 16,5 MJ kg^{-1} (4,6 kWh kg^{-1}) y 14,5 MJ kg^{-1} (4,0 kWh kg^{-1}), respectivamente. Dichos valores deben alcanzar para garantizar la competitividad energética de los pelets frente a otros combustibles sólidos y asegurar un rendimiento confiable en aplicaciones tanto residenciales como industriales.

1.3.1.2.Densidad aparente

La densidad aparente se define como la relación entre la masa de un material y el volumen total que ocupa, incluyendo tanto la fracción sólida como los espacios vacíos entre las partículas (Obernberger et al., 2006). En los pelets, este parámetro resulta clave ya que incide directamente en la eficiencia del almacenamiento, el transporte y el comportamiento en los sistemas de combustión. Una mayor densidad implica mejor compactación, mayor cantidad de energía por unidad de volumen y menores costos logísticos. Asimismo, se asocia positivamente con la durabilidad mecánica y la estabilidad del pelet: densidades bajas favorecen la fragilidad del pelet y la generación de polvo, reduciendo la calidad del biocombustible y su aceptación comercial (Gil et al., 2012). En consecuencia, la densidad aparente es un factor esencial para asegurar la competitividad del pelet frente a otros combustibles sólidos. Por ello, la norma ISO

17225-6:2021, aplicable a pelets no leñosos, establece una densidad aparente mínima de 600 kg m^{-3} (clase BD600)

1.3.1.3.Durabilidad mecánica

La durabilidad mecánica mide la capacidad de los pelets para resistir la abrasión, fragmentación y generación de polvo durante el manejo, transporte y almacenamiento (Stelte et al., 2011b). Pelets con baja durabilidad tienden a desintegrarse, generando finos que disminuyen la eficiencia de combustión y pueden provocar fallas en los sistemas de alimentación automática de las calderas. Además, un contenido elevado de polvo se asocia a mayores emisiones y riesgos de explosiones durante el almacenamiento y transporte (Obewenberger y Thek, 2010). Las normas internacionales ISO 17225 establecen valores mínimos de durabilidad mecánica del 97,5 % para pelets destinados a uso residencial, mientras que los estándares para uso industrial son más flexibles (96 %). Este porcentaje representa la proporción de la masa inicial que permanece retenida como pelet después del ensayo de abrasión y del posterior tamizado; por lo tanto, una durabilidad del 97,5 % equivale a una pérdida máxima de masa del 2,5 % en forma de finos. Este parámetro depende tanto de las características de la materia prima (contenido de lignina, tamaño de partícula, humedad) como de las condiciones de peletizado (presión, temperatura y aditivos), siendo objeto de numerosas investigaciones en el campo de la bioenergía (Gil et al., 2012; Durango Padilla et al., 2019).

1.3.1.4.Humedad

El contenido de humedad, expresado como porcentaje de la masa total, influye de manera directa sobre el poder calorífico, el almacenamiento y la eficiencia de combustión de los pelets. Un contenido elevado reduce la energía liberada, ya que parte de ella se destina a evaporar el agua durante la combustión (Obewenberger y Thek, 2010). Además, favorece la proliferación de microorganismos, la degradación del material y el riesgo de autofermentación durante el almacenamiento prolongado (Stelte et al., 2011b). La norma ISO 17225-6 (2021), establece límites inferiores al 12 % para pelets de calidad *premium* y residencial, y hasta 15 % para pelets de uso industrial. El control de la humedad depende tanto de las características iniciales de la biomasa como de las condiciones de secado y peletizado, siendo un factor crítico en la optimización del proceso y la competitividad del biocombustible frente a los combustibles fósiles (Gil et al., 2012).

1.3.1.5.Cenizas

El contenido de cenizas corresponde a la fracción inorgánica no combustible que permanece tras la combustión completa de la biomasa. Este parámetro influye tanto en el poder calorífico neto como en el desempeño operativo de los equipos de combustión. Un contenido elevado de cenizas reduce el rendimiento energético del biocombustible y genera problemas técnicos como la formación de residuos, incrustaciones y depósitos en calderas y estufas, lo que incrementa los costos de mantenimiento y reduce la vida útil de los equipos (Obewenberger y Thek, 2010; Nunes et al., 2016). La norma ISO 17225-6 (2021) establece límites específicos según el tipo de pelet y su destino. Para pelets residenciales de calidad *premium*, los valores máximos permitidos son inferiores al 3 % en base seca para biomasa leñosa y alrededor del 6% para biomasa no leñosa, mientras que para pelets de calidad industrial se toleran contenidos más elevados, llegando hasta un 10 - 20 % en biomasas herbáceas o agroindustriales. El control de este parámetro resulta esencial para garantizar la aceptación comercial del pelet y su competitividad frente a los combustibles fósiles.

1.3.1.6.Longitud

La energía consumida durante el peletizado, entendida como la energía eléctrica/mecánica[1] específica demandada por la peletizadora por unidad de masa procesada, refleja la resistencia que ofrece la biomasa al ser forzada a través de la matriz y, por lo tanto, el grado de compactación alcanzado. Este consumo depende de la tasa de alimentación, el diseño de la matriz y las propiedades del material, y determina la estabilidad del extrudado a la salida de la peletizadora. Cuando la energía aplicada es insuficiente, el extrudado presenta baja cohesión y se fragmenta, dando lugar a pelets más cortos y poco uniformes; en cambio, un mayor grado de compactación favorece la formación de pelets más largos y dimensionalmente estables. En consecuencia, el control de la energía específica de peletizado resulta clave para regular la longitud del pelet y su calidad. De acuerdo con la norma ISO 17225-6, para pelets de biomasa no leñosa se establece como referencia una longitud comprendida entre 3,15 y 40 mm. Valores excesivamente elevados pueden dificultar el funcionamiento de los sistemas automáticos

[1] Energía eléctrica absorbida por el motor, transformada en trabajo mecánico; para vencer la resistencia al flujo y a la deformación de la biomasa al pasar por la matriz.

de alimentación, mientras que una elevada proporción de partículas cortas puede asociarse a una mayor generación de finos. (Mani et al., 2006; Temmerman et al., 2006).

1.4.Biomasa residual del cardo

Cynara cardunculus L. var. *altilis* presenta características favorables como cultivo energético debido a su elevada productividad, rusticidad y capacidad de desarrollarse en suelos marginales, con bajos requerimientos hídricos y de insumos agrícolas. En este contexto, la biomasa lignocelulósica remanente luego de la separación de los granos constituye una materia prima con potencial para la producción de biocombustibles sólidos (Fernandez y Márquez, 1995; Piscioneri et al., 2000; Fernández et al., 2006; Gominho et al., 2018).

Entre las alternativas de valorización de esta biomasa, se encuentra la producción de biocombustibles líquidos, como el bioetanol, mediante procesos de hidrólisis y fermentación de su fracción lignocelulósica (Ballesteros et al., 2008; Fernandes et al., 2015; Pesce et al., 2020). Por otra parte, la biomasa de cardo también ha sido propuesta como una alternativa para la producción de biocombustibles sólidos destinados a la generación de calor y electricidad, en función de su poder calorífico y del elevado rendimiento en biomasa residual reportado en estudios previos (Fernandez y Márquez, 1995; Gominho et al., 2018). Sin embargo, la mayor parte de estos trabajos se basa en evaluaciones de carácter general, por lo que aún son limitados los estudios experimentales que describan en detalle las propiedades fisicoquímicas y el desempeño energético de la biomasa residual bajo condiciones específicas de aprovechamiento, ya sea mediante combustión directa o tras procesos de densificación. En este sentido, el conocimiento disponible sobre el peletizado y el acondicionamiento de la biomasa de cardo para su aprovechamiento energético proviene de un conjunto acotado de estudios experimentales, principalmente enfocados en la caracterización del material y su comportamiento durante las etapas de molienda y manejo, como los reportados por Bartolomé et al. (2008) y Gil et al. (2012).

En este capítulo se analiza el aprovechamiento energético de la biomasa residual de cardo mediante combustión directa, así como la factibilidad de su valorización a través de la producción de pelets. El estudio se centra, por un lado, en la caracterización fisicoquímica de la biomasa y la evaluación de su potencial energético como biocombustible sólido y, por otro, en el análisis del proceso de peletizado, considerando el efecto de distintas

variables operativas sobre la productividad del proceso, la calidad del biocombustible obtenido y su comportamiento térmico y ambiental durante la combustión. De este modo, se busca aportar información que contribuya a la diversificación de la matriz energética en el marco de una transición hacia sistemas más sostenibles.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Analizar las características y el potencial energético de la biomasa residual para la obtención de energía mediante combustión directa.

Analizar el efecto de diferentes variables del proceso de peletizado sobre la productividad del proceso y la calidad de los pelets obtenidos.

Evaluar el comportamiento térmico y las emisiones gaseosas durante la combustión de pelets de biomasa de cardo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.Material vegetal y procesamiento

2.1.1. Biomasa

La biomasa aérea de cardo, constituida por tallos y hojas, fue cosechada conforme a lo descripto en el Capítulo 1 del presente trabajo de tesis. Posteriormente, fue dispuesta en el campo en capas delgadas y uniformes, donde permaneció durante siete días en condiciones naturales de ventilación y exposición solar (Figura 12), a fin de reducir parcialmente el contenido de humedad inicial (presecado). Este procedimiento se adoptó de acuerdo con prácticas habituales de presecado de biomasa y con las condiciones de infraestructura disponibles. El final del período de presecado se determinó visualmente.

Figura 12: Biomasa de cardo recolectada



2.1.2. Chipeado

Una muestra homogeneizada, de 100 kg, de biomasa presecada, obtenida sin diferencial los tratamientos agronómicos, fue triturada con una chipeadora Bear Cat®, equipada con cuatro cuchillas de corte y capacidad de fragmentación de hasta 229 mm de diámetro (Figura 13), a fin de reducir el tamaño inicial y obtener fragmentos más homogéneos (Figura 14) para facilitar su manipulación y transporte, y optimizar el rendimiento en los equipos de molienda y peletizado. Una vez chipeado, el material fue homogeneizado manualmente y dividido en dos lotes de 40 kg cada uno, los cuales fueron enviados a la empresa BioTek S.A. (Maipú, Mendoza) para su caracterización y posterior peletizado.

Figura 13: Proceso de chipeado de la biomasa de cardo



Figura 14: Chip de cardo



2.1.3. Molienda

La biomasa chipeada fue procesada en un molino de martillos, equipado con una malla perforada de 4,5 mm de diámetro, obteniéndose biomasa molida con granulometría uniforme y adecuada para su densificación.

2.1.4. Secado y control de humedad

Ambos lotes fueron sometido a un secado controlado en estufa de convección forzada a una temperatura constante de 60 °C, hasta alcanzar una humedad del 13 % (lote 1) y 16 % (lote 2); con el propósito de analizar la influencia del contenido de humedad sobre la calidad del pelet obtenido. El contenido de humedad final fue verificado mediante el método gravimétrico estándar, consistente en el secado de tres de submuestras de 500 gr a 105 ± 2 °C durante 24 horas.

2.1.5. Peletizado

El proceso de peletizado se llevó a cabo en una peletizadora de matriz plana diseñada para el procesamiento de biomasas agroindustriales y forestales, con una capacidad de trabajo variable entre 0,7 y 16 toneladas por hora. El equipo contaba un acondicionador de 4 kW provisto de variador de velocidad, lo que permitió mantener un control preciso sobre las condiciones de alimentación y compactación del material. Las condiciones operativas fueron:

- Temperatura de entrada de la biomasa: 15 °C
- Velocidad de rotación de la matriz: 150 - 210 revoluciones por minuto (rpm)
- Distancia inicial entre rodillos y matriz: 0,2 mm
- Diámetro de los orificios de la matriz: 6 mm
- Ángulo de entrada del canal de la matriz: 60 °
- Profundidad del canal: 1 mm

Se implementó un diseño factorial para evaluar de manera sistemática la influencia de distintos parámetros operativos sobre la calidad y productividad de los pelets de cardo. Se consideraron tres factores principales:

- Longitud efectiva del canal de la matriz con tres niveles: 29, 34 y 41 mm.
- Humedad inicial de la biomasa, ajustada a dos niveles: 13 y 16 %.
- Frecuencia de alimentación del tornillo sinfín, fijada en dos valores: 16 y 45 Hz.

La combinación de estos factores dio lugar a un total de 12 tratamientos experimentales (Tabla 5), cada uno replicado tres veces. En cada repetición se utilizaron muestras de 1 kg de biomasa molida.

Tabla 5: Tratamiento realizados en ensayos de peletizado

Tratamiento	*Longitud (mm)*	*Humedad (%)*	*Alimentación (Hz)*
Pelet 1	29	13	16
Pelet 2	29	16	16
Pelet 3	29	13	45
Pelet 4	29	16	45
Pelet 5	34	13	16
Pelet 6	34	16	16
Pelet 7	34	13	45
Pelet 8	34	16	45
Pelet 9	41	13	16
Pelet 10	41	16	16
Pelet 11	41	13	45
Pelet 12	41	16	45

Finalizado el proceso de densificación, las muestras de pelets fueron sometidas a un acondicionamiento que incluyó la eliminación de partículas finas y de pelets de tamaño excesivo mediante abrasión controlada, a fin de asegurar la homogeneidad del producto.

La eficiencia del proceso de peletizado se determinó mediante la productividad horaria, definida como la masa total de pelets (kg) obtenida por unidad de tiempo (h).

2.2.Parámetros evaluados sobre la biomasa de cardo en sus tres estados (chips, biomasa molida y pelets)

2.2.1. Densidad aparente (kg m^{-3})

La densidad aparente de la biomasa en sus tres estados físicos (chip, biomasa molida y pelets) se determinó con el objetivo de cuantificar el incremento de densidad alcanzado a lo largo de las diferentes etapas de acondicionamiento. Se utilizó el método propuesto por Olesen (1971), que consiste en llenar un recipiente de 1 L con la muestra, evitando la compactación excesiva y nivelando la superficie sin ejercer presión. Posteriormente, el contenido del recipiente se pesó en una balanza analítica y, la densidad aparente (ρ) se calculó como la relación entre la masa de biomasa contenida y el volumen del recipiente (kg m^{-3}).

2.2.2. Humedad (% H_{bs})

El contenido de humedad se determinó mediante secado en estufa de convección forzada, siguiendo la norma UNE-CEN/TS 14774-3 (2010). Se utilizaron muestras de 5 g de biomasa, las cuales se secaron a 105 ± 2 °C hasta alcanzar peso constante. El contenido de humedad (% H_{bs}) se calculó como la pérdida de masa de la muestra expresada en porcentaje respecto a la masa inicial, según la siguiente ecuación (Ec.1):

Ecuación 1: Cálculo de contenido de humedad expresado en porcentaje (%).

$$\%\, H_{\beta s} = \frac{(Mi - Mf)}{Mi} * 100$$

Donde:

- Mi = Masa inicial (g)
- Mf = Masa final (luego de secado en estufa) (g)

2.3.Parámetros evaluados sobre la biomasa molida y pelets

2.3.1. Poder calorífico (MJ kg^{-1})

2.3.1.1.Poder calorífico superior (PCS)

El poder calorífico superior (PCS) de la biomasa molida y de los pelets se determinó mediante una bomba calorimétrica adiabática (IKA® C2000), de acuerdo con la norma UNE-EN 14918 (2009). Un gramo (1 g) de muestra seca se pesó con una balanza analítica y se introdujo en la bomba calorimétrica, asegurando condiciones de combustión completa en atmósfera de oxígeno. El PCS se calculó a partir del incremento de temperatura registrado, aplicando las correcciones correspondientes por formación de ácidos y por el calor de combustión del hilo de ignición.

2.3.1.2.Poder calorífico inferior (bs)

El poder calorífico inferior (PCI) en base seca, se calculó a partir del poder calorífico superior (PCS), de acuerdo con la norma UNE-EN 14918 (2009), considerando la pérdida de energía asociada a la vaporización del agua formada durante la combustión y al contenido de humedad de la muestra. El PCI se estimó mediante la siguiente ecuación (Ec. 2):

Ecuación 2: Cálculo del Poder Calorífico Inferior (PCI) expesado en MJ kg^{-1}.

$$PCI = PCS - 212.2\ x\ H - 0.8\ x\ [O + N]$$

Donde:

- PCI: Poder calorífico inferior (MJ kg^{-1})
- PCS: Poder calorífico superior (MJ kg^{-1})
- H, O, N: Contenidos de hidrógeno, oxígeno y nitrógeno en base seca.

El contenido elemental de hidrógeno (H) se estimó mediante las correlaciones propuestas por (Shen et al., 2010) basadas en datos de análisis proximal. Asimismo, los contenidos elementales de oxígeno (O) y nitrógeno (N) se consideraron a partir de valores de referencia reportados en la literatura para biomasa de cardo (Gominho et al., 2018).

2.3.2. Cenizas

El contenido de cenizas se determinó por método gravimétrico siguiendo la norma UNE-EN 14775 (2009). Las muestras secas se pesaron (1 g) con balanza de precisión y luego se sometieron a calcinación en una mufla a 550 °C ± 10 °C durante 4 horas, hasta alcanzar peso constante. El residuo inorgánico remanente se enfrió en desecador y se volvió a pesar, calculándose el porcentaje de cenizas sobre base seca en relación a la masa inicial de la muestra. Con respecto a dicha medición sobre los pelets, se tomó una mezcla representativa de todos los tratamientos y se realizó una única determinación, ya que la peletización no implica cambios en la fracción mineral de la biomasa, sino únicamente una modificación de sus propiedades físicas. Por este motivo, el contenido de cenizas se determinó con fines de caracterización general del material peletizado y no se evaluó de forma independiente para cada tratamiento.

2.4.Parámetros evaluados sobre la biomasa molida

2.4.1. Materia volátil

La determinación del contenido de materias volátiles (MV) se realizó según la norma UNE-EN 15148 (2009). Se colocaron muestras de 1 g en crisoles previamente pesados, los cuales se introdujeron en una mufla estabilizada a 900 °C, durante 7 minutos, en atmósfera controlada sin aporte de aire.

Posteriormente, los crisoles se retiraron y se enfriaron en desecador hasta alcanzar temperatura ambiente. El contenido de materias volátiles se calculó como la pérdida de

masa de la muestra, una vez descontada la fracción de humedad, de acuerdo con la siguiente ecuación (Ec. 3):

Ecuación 3: Cálculo del contenido de materiales volátiles expresado en porcentaje (%).

$$\%\ MV_{\beta s} = \frac{(Mi - Mf)}{Mi} * 100$$

Donde:

- Mi es la masa inicial seca de la muestra y
- Mf es la masa final después del tratamiento en mufla.
- Este parámetro permite evaluar el comportamiento termoquímico y la reactividad de la biomasa durante procesos de combustión y pirólisis.

2.4.2. Carbono fijado (% $_{bs}$)

El contenido de carbono fijo (CF) en base seca, de acuerdo con ASTM D3172, se calculó utilizando la siguiente ecuación (Ec. 4):

Ecuación 4: Cálculo del contenido de carbono fijo expresado en porcentaje (%).

$$CF = 100 - (\%\ MV_{\beta s} + \%\ Cz_{\beta s})$$

Donde:

- % CF= Contenido de carbono fijo (%),
- % MV $_{\beta s}$ =Porcentaje de materia volátil en base seca y,
- % Cz $_{\beta s}$ = Porcentaje de cenizas en base seca.

2.5.Parámetros evaluados sobre pelets

2.5.1. Dureza mecánica

La resistencia mecánica de los pelets, tanto a impacto como a abrasión, se evaluó según el protocolo establecido en la norma UNE-CEN/TS 15210-1 (2005). Se utilizó un equipo rotatorio de caída libre, seguido de un proceso de tamizado para cuantificar la fracción desintegrada.

Todos los ensayos fueron realizados por triplicado y los resultados se expresaron como el valor promedio de las tres determinaciones.

2.6.Combustión

Los ensayos de combustión se realizaron para evaluar el comportamiento térmico y las emisiones gaseosas generadas durante la combustión de los pelets obtenidos. Para ello se utilizó un túnel de dilución diseñado según la norma USEPA 5G (Figura 15), utilizando como equipo de referencia una estufa alimentada a pelets (marca Mocca). La estufa operó bajo tres niveles de potencia térmica útil medida: Pt1 (máxima, 5 kW), Pt2 (media, 2,5 - 4 kW) y Pt3 (mínima, 1,5 - 2 kW), regulados mediante la velocidad de alimentación de combustible desde la tolva hacia la cámara de combustión.

Figura 15: Estufa utilizada durante el ensayo de combustión en túnel de dilución.



Los ensayos se realizaron en condiciones ambientales controladas, empleando un lote representativo del pelet 1 (P1), seleccionado por haber presentado el mejor desempeño durante el proceso de peletizado. Para cada nivel de potencia (Pt1, Pt2 y Pt3) se registraron los siguientes parámetros:

- Tiempo de combustión (min): intervalo comprendido entre el encendido estable del pelet y la extinción de la llama, o el agotamiento total del combustible (combustión efectiva).
- Cantidad de pelets (combustible) consumido (kg): masa total de pelets efectivamente quemada durante el ensayo, determinada por diferencia de masa en la tolva antes y después del experimento.

- Consumo másico horario (kg h^{-1}): tasa de consumo de combustible por hora, calculada como la relación entre la cantidad de pelets (combustible) consumida y el tiempo total de combustión, según la siguiente ecuación (Ec. 5):

Ecuación 5: Cálculo del consumo másico horario expresado en kg h^{-1}.

$$Consumo\ (\frac{kg}{h}) = \frac{\text{Combustible consumido (kg)}}{\text{Tiempo (h)}}$$

- Temperatura de llama (°C): temperatura máxima instantánea registrada en la zona luminosa de la llama durante la combustión. La medición se realizó mediante un termómetro digital con termocupla tipo K, ubicado en posición fija por encima del crisol, centrado respecto a la llama y sin contacto directo con el combustible. El valor informado corresponde al máximo registrado durante cada ensayo.

Adicionalmente, se realizó un ensayo complementario utilizando un blend compuesto por una mezcla física de 50 % de pelets de cardo y de 50 % de pelets comerciales de pino (Figura 16), operando bajo condiciones de potencia máxima (Pt1), a fin de evaluar posibles mejoras en la estabilidad de la combustión.

Figura 16: Blend compuesto por pelets de cardo y de pino



Las emisiones de monóxido de carbono (CO) y el contenido de oxígeno residual (O_2) se midieron en forma continua mediante un analizador portátil de gases de combustión,

conectado a la chimenea del sistema. Las concentraciones de CO fueron posteriormente corregidas a un contenido de oxígeno del 13 % (μCO), de acuerdo a lo establecido por la normativa europea vigente (Comisión Europea, 2015).

Las temperaturas de los gases de combustión (T_{gas}) y de la llama (T_{llama}) se registraron con termopares tipo K ubicados en la cámara de combustión. La eficiencia de combustión (η) se estimó mediante un método indirecto basado en el balance de pérdidas térmicas, aplicando la ecuación (Ec. 6):

Ecuación 6: Cálculo de la eficiencia de combustión(η) por el método indirecto; expresado en porcentaje (%).

$$\eta = 100 - (qT + q\ CO)$$

donde:

- η corresponde a la eficiencia de combustión (%)
- qT corresponde a las pérdidas asociadas al calor sensible de los gases de combustión (%).
- qCO representa las pérdidas debidas a combustión incompleta (%).

Este procedimiento se basó en los lineamientos establecidos en las normas UNE-EN 14785 (2007) y EN 303-5 (2012).

2.7. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron evaluados mediante el software estadístico RStudio (R Core Team, 2024). En primer lugar, se evaluaron los supuestos de normalidad (Shapiro y Wilk, 1965) y homogeneidad de varianzas (Barlett, 1937). Cuando se cumplieron dichos supuestos, los datos fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA) considerando un nivel de significancia de $p < 0,05$. Para las variables en las que se observaron diferencias estadísticamente significativas, se aplicó la prueba de comparación múltiple de valores promedio de Tukey (Tukey, 1949).

3. RESULTADOS

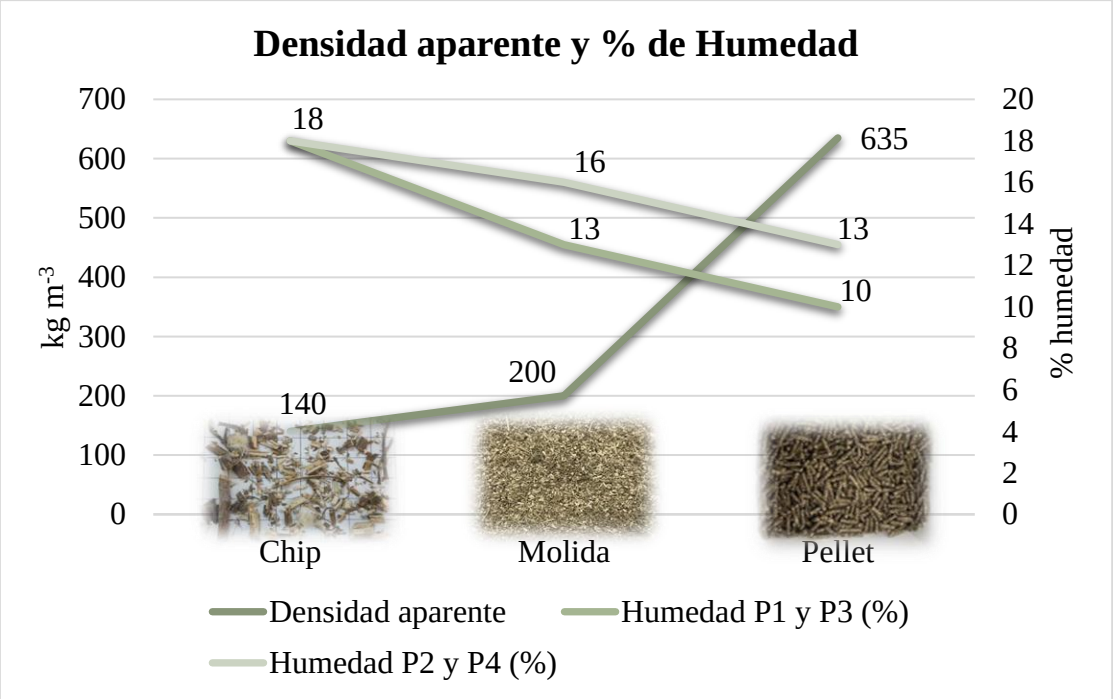
3.1.Densidad aparente y contenido de humedad

Se evaluó la densidad aparente de las tres formas de biomasa de cardo analizadas (chips, biomasa molida y pelets), con el objetivo de cuantificar el incremento de densidad logrado a través de los procesos de reducción de tamaño y densificación. Tal como se observa en

la Figura 17 la biomasa en forma de chips presentó una densidad promedio de 140 kg m^{-3}, mientras que la biomasa molida alcanzó valores de 200 kg m^{-3} y los pelets presentaron una densidad aparente promedio 635 kg m^{-3}. Estos resultados evidencian un incremento del 43 % al pasar de chips a biomasa molida y del 354 % al considerar la transformación completa de chips a pelets.

Asimismo, en la Figura 17 se observa la variación en el contenido de humedad de la biomasa, que presentó un valor inicial del 18 % en los chips. Previo al proceso de peletización, la biomasa molida fue acondicionada a diferentes contenidos de humedad según el tratamiento aplicado. En este contexto, los pelets P1 y P3 se elaboraron con una humedad previa a la peletización del 13 %, presentando una humedad final cercana al 10 %, mientras que los pelets P2 y P4 se produjeron con una humedad previa del 16 %, alcanzando valores finales de humedad próximos al 13 % en promedio luego del peletizado.

Figura 17: Densidad aparente y porcentaje de humedad del chip, biomasa molida y pelets. P1, P2, P3 y P4: Pelets 1, 2, 3 y 4



3.2.Caracterización de la biomasa molida de cardo

Con el objetivo de estimar el potencial de aprovechamiento energético de la biomasa de cardo, se determinaron sus principales propiedades termoquímicas. En la Tabla 6 se

presentan los valores correspondientes al análisis próximo (porcentaje de materiales volátiles, carbono fijo, cenizas), así como los valores de poder calorífico de la biomasa molida. Asimismo, se incluyen los contenidos de hidrógeno (H), oxígeno (O) y nitrógeno (N), parámetros necesarios para el cálculo del poder calorífico inferior (PCI). En conjunto, estos indicadores permiten caracterizar el comportamiento de la biomasa durante la combustión y evaluar su idoneidad como biocombustible sólido.

Tabla 6: Propiedades termoquímicas de la biomasa molida de cardo

Propiedades termoquímicas	**Valores de referencia (*)**	**Valores**
Materiales volátiles (%)	65 – 85	74,98
Carbono fijo (%)	10 – 25	17,41
Cenizas (%)	0,3 – 15	7,60
Poder calorífico superior en base seca (MJ kg^{-1})	16 – 20	17,25
Poder calorífico inferior en base seca (MJ kg^{-1})	15 – 18	16,02
Contenido de Hidrógeno (%)	5,0 - 6,5	5,60
Contenido de Nitrógeno (%)	0,1 - 2,0	1,45
Contenido de Oxígeno (%)	40 – 55	53,3

(*) Valores de referencias de biocombustibles sólidos, tomados de (Vassilev et al., 2010).

3.3.Caracterización del pelet

En el proceso de peletizado utilizando matrices de 34 y 41 mm no fue posible la formación de pelets, por lo que solamente se pudieron analizar los pelets obtenidos con la matriz de 29 mm. La productividad (kg h^{-1}) obtenida con esta matriz en combinación con los demás factores analizados: humedad inicial de la biomasa y velocidad de alimentación de la peletizadora, se muestran en la Tabla 7.

La velocidad de alimentación de la peletizadora resultó el factor más determinante sobre la productividad, registrándose incrementos de entre 150 y 216 % al operar a 45 Hz, en comparación con una alimentación a 16 Hz. La humedad inicial no mostró diferencias estadísticamente significativas en cuanto a su incidencia en la productividad; no obstante,

se observaron rendimientos levemente superiores al trabajar con biomasa con mayor contenido de humedad (16 %).

Tabla 7: Productividad (kg h^{-1}) obtenida con las diferentes condiciones de peletizado (tratamientos).

Tratamiento	Longitud (mm)	Humedad (%)	VA(Hz)	Productividad (kg h^{-1})
Pelet 1	29	13	16	3,17 ± 0,12[b]
Pelet 2	29	16	16	4,67 ± 0,35 [b]
Pelet 3	29	13	45	10,03 ± 1,00 [a]
Pelet 4	29	16	45	11,60 ± 1,01[a]

** Valores de productividad acompañados por letras diferentes difieren significativamente entre sí al nivel de significancia del 5 % (p < 0,05) para el factor velocidad de alimentación.*

***VA: Velocidad de alimentación*

En la Tabla 8 se presentan los parámetros de calidad determinados para cada tipo de pelet obtenido, junto con los límites establecidos por la norma ISO 17225-6. Tres de los cuatro tipos de pelets obtenidos (pelet 1, 2 y 3) presentaron valores dentro de los rangos establecidos por las normas internacionales para todas las características evaluadas (exceptuando el contenido de ceniza). El pelet 4 (procedimiento con el que se alcanzó la máxima productividad), excede los valores máximos previstos en ambas categorías (A y B) en cuanto al porcentaje de humedad y no alcanza los niveles mínimos de dureza mecánica requeridos. Mediante el proceso utilizado en la producción del pelet 3 (13 % humedad de biomasa y 45 Hz de velocidad de alimentación) se obtuvo una productividad similar a P4 (Tabla 7) y los parámetros de calidad alcanzados estuvieron dentro de los valores máximos y mínimos establecidos por la mencionada norma internacional, aunque, los valores de dureza mecánica y contenido de cenizas sitúan estos pelets en la Categoría B. Mediante los procesos 1 y 2 se obtuvieron pelets de mayor calidad, con valores acordes a la Categoría A (excepto para el contenido de cenizas), aunque la productividad del proceso resultó significativamente menor. El contenido de cenizas (7,58 %) ubica a todos los pelets en la Categoría B.

Tabla 8: Parámetros de calidad evaluados sobre los pelets de cardo obtenidos a través de los diferentes tratamientos.

Parámetros	Categoría A	Categoría B	Pelet 1	Pelet 2	Pelet 3	Pelet 4

Humedad (%)	< 12	< 15	10,33± 0,58[b]	10,67± 0,58[b]	11,67± 1,53[b]	15,00± 1, 73a
PCI (KJ kg^{-1})	> 14500	> 14500	1532± 14, 93[a]	15330± 13,23[a]	15323± 9,17[a]	15224± 8,89[b]
Densidad aparente (kg m^{-3})	>= 600	>= 600	648± 5,57[a]	650± 4,36[a]	628± 5,29[a]	612± 3,61[b]
Dureza mecánica (%)	>= 97,5	>= 96	97,67± 1,15[b]	98,27± 0,56[a]	96,65±1 ,33[c]	82,60± 1,20[d]
Ceniza (%)	< 6	< 10	7,58± 0,51	7,58± 0,51	7,58± 0,51	7,58± 0,51

** Valores acompañados por letras diferentes difieren significativamente dentro de cada fila al nivel de significancia del 5 % (p < 0,05) para los diferentes parámetros.*

3.4.Combustión del pelet

En la Tabla 9 se muestran los valores obtenidos para tiempo de combustión (min), cantidad de pelets consumido (kg), consumo horario (kg h^{-1}) y temperatura de llama (°C) registrados en cada uno de los ensayos realizados con diferentes niveles de potencia térmica útil medida. Para la condición Pt1, el ensayo presentó una duración de 62 min, con un consumo total de combustible de 0,9 kg por lo que el consumo horario fue de 0,9 kg h^{-1}. En Pt2 y Pt3, los ensayos fueron de menor duración efectiva. La temperatura de llama reportada en la Tabla 9 corresponde a los intervalos temporales en los que fue posible identificar una combustión estable, y no al promedio de todo el ensayo. En el caso de Pt1 con pelets 100 % C. *cardunculus*, no fue posible definir un período estable de combustión, por lo que no se reporta un valor de temperatura representativo. En cambio, para Pt2, Pt3 y Pt1 (blend), las temperaturas indicadas corresponden a los intervalos de mayor estabilidad térmica, cuya duración se especifica entre paréntesis. Así Pt2 y Pt3 mostraron temperaturas de llama del orden de 650 °C y 648 °C, respectivamente, medidas durante intervalos acotados de tiempo (12 y 8 minutos). En el ensayo Pt1 (blend) se alcanzó la mayor temperatura de llama (700 °C), sostenida durante aproximadamente 20 minutos, junto con un mayor consumo horario (1,5 kg h^{-1}), evidenciando una combustión más estable en comparación con el pelet de cardo puro.

Tabla 9: Ensayos de combustión a diferentes potencias térmica útil medida

Potencia	**Tiempo (min)**	**Combustible (kg)**	**Consumo horario (kg h^{-1})**	**T° llama (°C)**
Pt1	62	0,9	0,9	-
Pt2	27,4	0,3	0,7	650 (12´)
Pt3	50,7	0,65	0,8	648 (8´)
Pt1 (blend)	52	1,3	1,5	700 (20´)

Durante los ensayos con pelets 100 % *Cynara cardunculus* se observó que, tras los primeros minutos de combustión, la llama tendió a perder intensidad, lo que se manifestó en una combustión inestable, con variaciones en la temperatura de la llama y la ocurrencia de apagones intermitentes, particularmente en los ensayos a potencia Pt1. Como resultado, no fue posible registrar de manera confiable las emisiones gaseosas (CO y O_2 residual), ya que los valores obtenidos excedieron la capacidad del analizador debido a la inestabilidad del proceso. Para poder analizar de manera confiable las emisiones gaseosas, el proceso de combustión debería haber alcanzado un régimen estacionario, caracterizado por una llama estable, una temperatura aproximadamente constante y una tasa de alimentación de combustible sostenida en el tiempo. En cuanto al blend formado con pelets de pino y cardo, fue posible registrar de manera confiable las emisiones gaseosas, dado que el proceso de combustión presentó una mayor estabilidad, con una llama sostenida y temperaturas más elevadas y constantes en el tiempo, en comparación con los ensayos realizados con pelets 100 % cardo. Esta mayor estabilidad permitió alcanzar un régimen cuasi estacionario, condición necesaria para la correcta operación del analizador de gases.

Asímismo, al finalizar los ensayos con pelets de cardo se observó una elevada proporción de pelets parcialmente quemados, junto con cenizas que presentaban un característico color turquesa (Figura 18).

Figura 18: Cenizas de color turquesa y restos de pelets quemados parcialmente.



En la Tabla 10 se presentan los valores de los principales parámetros medidos durante los ensayos de combustión del blend de pelets de pino y *Cynara cardunculus*, incluyendo temperatura de llama (°C) concentración de oxígeno (O_2), monóxido de carbono (CO), monóxido de carbono corregido al 13 % de O_2 (μCO), eficiencia del sistema (η) y temperatura de los gases de combustión. Los tiempos presentados en la Tabla 10 corresponden a instantes representativos del proceso de combustión, seleccionados para reflejar tanto la etapa de encendido como los períodos de mayor estabilidad térmica y composicional. Cuando las condiciones lo permitieron, se priorizaron aquellos tiempos en los que fue posible registrar simultáneamente los principales parámetros de combustión. En determinados intervalos no fue posible obtener todos los registros debido a limitaciones operativas del analizador durante condiciones transitorias de combustión.

Tabla 10: Parámetros medidos durante los ensayos de combustión del blend de pelets de pino y Cynara cardunculus.

Tiempo (minuto)	**T° llama (°C)**	**O_2 (%)**	**CO (ppm)**	**μCO (ppm)**	**η**	**T° gas**
8	570	-	-	-	-	-
15	-	20,7	842	-	-	-
20	700	-	-	-	-	-
24	-	20,6	389	-	-	-
35	689	16,6	920	1673	64,8	239
43	649	20,7	89	-	-	31,2
50	645	18,1	680	1876	53,9	208,4

Los resultados mostraron variaciones a lo largo del tiempo en los parámetros de combustión, particularmente en la concentración de CO, que osciló entre 89 y 920 ppm. La concentración de O_2 varió entre 16,6 y 20,7 %. Al corregir estos valores al 13 % de O_2, se obtuvieron concentraciones de μCO del orden de 1673 a 1876 ppm en los períodos de combustión estable, significativamente superiores a los valores de referencia establecidos por la normativa vigente, para estufas a pelets, que fija límites máximos de CO corregido al 13 % de O_2 del orden de 500 - 1000 ppm, dependiendo del tipo de equipo y potencia (EN 303-5 2012). La corrección de las concentraciones de CO al 13 % de O_2 (μCO) se realizó únicamente en aquellos intervalos temporales en los que fue posible identificar un período de combustión estable, caracterizado por una llama sostenida, temperaturas de llama relativamente constantes y valores de O_2 y CO sin fluctuaciones abruptas. En este sentido, no todos los tiempos de medición cumplen simultáneamente estas condiciones, motivo por el cual la corrección a μCO se aplicó únicamente en los intervalos en los que el proceso alcanzó un comportamiento cuasi estacionario, correspondientes a los tiempos de 35 y 50 min del ensayo.

Las temperaturas de llama se situaron entre 635 y 700 °C, mientras que la eficiencia térmica calculada varió entre 53,9 y 64,8 % en los períodos en los que fue posible obtener registros confiables.

4. DISCUSIÓN

Al analizar el efecto de la reducción del tamaño de partícula de biomasa de cardo, se observó un aumento progresivo en la densidad aparente y una disminución en el contenido de humedad a medida que avanzaron los procesos de molienda y densificación. Estos cambios se vinculan directamente con una mayor compactación de la biomasa y la mayor homogenización estructural, factores clave para su aprovechamiento energético.

En relación con la densidad aparente, los valores reportados para la biomasa de cardo en la bibliografía muestran una considerable variabilidad según la fracción vegetal analizada. Pereira et al. (1994) informaron valores de 208 kg m^{-3} y 66 kg m^{-3} para chips de tallos y hojas, respectivamente, mientras que Quilhó et al. (2004) reportaron 160 kg m^{-3} para chips de biomasa aérea sin discriminación entre tallos y hojas (18 x 20 x 5 mm). Otros autores registraron valores del orden de 214 - 125 kg m^{-3} para biomasa en astillas o triturada (Gil et al., 2012; Abelha et al., 2013). En este estudio, los chips constituidos por

tallos y restos foliares presentaron una densidad aparente intermedia y consistente con la variabilidad reportada para esta especie (139,88 kg m^{-3}). No obstante, esta densidad se encuentra en el extremo inferior de los valores informados para biomasas leñosas utilizadas con fines energéticos, para las cuales se han reportado densidades aparentes del orden de 150 - 200 kg m^{-3} en chips y aserrín. (Tumuluru et al., 2011). Esto constituye una limitación práctica, ya que dificulta el transporte, el almacenamiento y la manipulación del material, incrementando los costos logísticos. En este contexto, el proceso de densificación demostró ser altamente eficiente: la densidad aparente se incrementó un 42 % al pasar de chip a biomasa molida y un 353 % al transformarse en pelet, reflejando una mejora sustancial en la calidad física del biocombustible. Respecto al contenido de humedad, Gominho et al. (2018) señalan que la biomasa aérea de *Cynara cardunculus* presenta valores relativamente bajos al momento de la cosecha, lo que favorece su aprovechamiento energético. En este trabajo, la biomasa secada a campo y posteriormente chipeada presentó 18 % de humedad. Valores más bajos fueron reportados por Gil et al. (2012) que obtuvieron valores de humedad entre el 10,5 y 14 % para tallos de cardo triturados y almacenados durante un año en espacio cerrado, período durante el cual es previsible continúe disminuyendo la humedad de la biomasa. Tras la molienda, se diferenciaron dos lotes de biomasa con distintos contenidos de humedad, para evaluar la influencia de este parámetro sobre el proceso de peletizado.

El análisis próximo es una herramienta clave para evaluar el comportamiento termoquímico de combustibles sólidos mediante tres parámetros principales: materia volátil (MV), carbono fijo (CF) y cenizas (Cz) (Vassilev et al., 2010). El contenido de materia volátil, carbono fijo y cenizas observado en la biomasa de cardo condiciona su comportamiento durante la combustión. En particular, el elevado contenido de cenizas puede limitar la eficiencia del proceso y favorecer la acumulación de residuos, mientras que la fracción volátil y el carbono fijo influyen sobre la ignición, la estabilidad de la llama y la formación de brasa (Vassilev et al., 2017). En esta tesis, la biomasa residual de cardo presentó 74,98 % de materia volátil (MV) y 17,41 % de carbono fijo (CF), valores comparables a los reportados por Grammelis et al. (2008) (70 % de MV y 14 % de CF) y Angelini et al. (2009) (73 % y 13,1 % respectivamente). Hajji Nabih et al. (2021) pusieron en evidencia la influencia de la fracción vegetal y del estado fisiológico de las plantas al comparar diferentes tejidos (tallos y hojas) en fase vegetativa, donde registraron

menores valores de CF (3,32 % y 2,81 % para hojas y tallos, respectivamente) debido a la menor lignificación.

El valor de CF depende principalmente de la composición química de la biomasa, en particular de la proporción relativa de lignina, celulosa y hemicelulosa. La lignina constituye un factor determinante, dado que es más estable térmicamente que la celulosa y hemicelulosa (Demirbas, 2004), contribuyendo a un mayor contenido de CF y a la formación de brasas durante la combustión, mientras que la celulosa y la hemicelulosa se volatilizan más fácilmente durante el proceso.

Los valores de materia volátil (MV) observados en esta tesis se encuentran dentro del rango típico reportado para biocombustibles sólidos lignocelulósicos (65 - 85 % en base seca), considerado adecuado para procesos de combustión o gasificación en sistemas a gran escala (Lewandowski y Kicherer, 1997; Vassilev et al., 2010). Un contenido elevado de MV favorece una ignición más rápida y una mayor reactividad del combustible, contribuyendo a una combustión más completa; sin embargo, requiere un control más preciso del suministro de aire para evitar pérdidas de eficiencia térmica y la formación de emisiones no deseadas (Koppejan y van Loo, 2012; Basu, 2018).

El contenido de cenizas determinado en este trabajo (7,6 %) fue superior al reportado para otros cultivos energéticos como el *Sorghum bicolor* L. Moench (3,9 %) (Morales et al., 2024) o el *Miscanthus* × *giganteus* (2,76) (Kowalczyk-Juśko et al., 2022) pero consistente con el valor reportado por Grammelis et al. (2008) (7,2 %) e inferior al informado por Angelini et al. (2009) (13,1 %) para biomasa aérea de cardo. Mancini et al. (2023) reportaron un valor promedio similar para cultivares de cardo (7,48 %) implantados en la misma área de estudio que la presente tesis, aunque evaluados en campañas agrícolas diferentes. Diferentes autores también detectaron diferencias significativas en el contenido de cenizas entre las fracciones vegetales y según el estado fenológico de la planta. Damartzis et al. (2011) reportaron valores de 29,6 % y 7,6 % en hojas y tallos, respectivamente, mientras que para Bartolomé et al. (2008) los valores obtenidos fueron de 15,1 % y 5,1 %, considerando las mismas fracciones, en ambos casos en estado senescente. Hajji Nabih et al. (2021) también compararon el contenido de cenizas en hojas y tallos, pero en estado vegetativo, obteniendo valores del 6,35 % y 8,1 %, respectivamente. Diversos factores, tales como las condiciones edafoclimáticas, el contenido mineral del suelo y la forma de cosecha, pueden influir en el contenido de cenizas de la biomasa (Vassilev et al., 2013; Fitria et al., 2023). En el presente estudio, la

biomasa fue cosechada en estado senescente y secada a campo, por lo que la incorporación de partículas de suelo durante estas etapas pudo contribuir al contenido de cenizas observado.

El poder calorífico es un parámetro clave para evaluar la calidad energética de los biocombustibles sólidos, ya que indica la energía térmica liberada por unidad de masa durante la combustión. Pueden considerarse dos tipos: el Poder Calorífico Superior (PCS), que incluye la energía de condensación del vapor de agua generado por el hidrógeno de la biomasa, y el Poder Calorífico Inferior (PCI), que la excluye y refleja la energía realmente disponible en condiciones normales de uso (Klass, 1998; Basu, 2018). Para comparar y definir la eficiencia de los biocombustibles sólidos se utiliza el PCI. En este trabajo el PCI en base seca fue de 16,02 MJ kg^{-1}, coincidente con lo reportado previamente para la especie (Bartolomé et al., 2008; Abelha et al., 2013). Este valor resulta competitivo en comparación con residuos agrícolas comúnmente utilizados para la obtención de bioenergía como paja de trigo (14 - 16 MJ kg^{-1}), paja de maíz (14 - 17 MJ kg^{-1}), cáscara de arroz (13 - 15 MJ kg^{-1}) y cáscara de girasol (16 - 18 MJ kg^{-1}) (Jenkins et al., 1998; Demirbas, 2004), lo que demuestra el potencial del cardo como fuente sostenible de biocombustible sólido.

En el presente trabajo, el incremento del 353 % en la densidad aparente, al pasar de chips a pelets, valida la efectividad de la densificación como estrategia para mejorar las propiedades físicas del biocombustible.

Durante el peletizado, la temperatura del material aumentó desde aproximadamente 14,5 °C hasta valores cercanos a 70 °C. Este incremento puede atribuirse a la presión de compactación y a la fricción desarrollada en el canal de la matriz (Kaliyan y Vance Morey, 2009; Adapa et al., 2013). Estas condiciones térmicas podrían haber favorecido la plasticización parcial de la lignina y, junto con la humedad residual de la biomasa, contribuir a la cohesión de los pelets obtenidos (Stelte et al., 2011b). En este contexto, se evaluaron diferentes parámetros operativos del proceso de peletizado y su incidencia sobre la productividad (kg h^{-1}) y la calidad del producto final. Entre los parámetros analizados, la longitud efectiva de la matriz se identificó como un factor determinante. De las tres matrices evaluadas, únicamente la de 29 mm permitió una peletizado estable, mientras que las matrices de 34 y 41 mm presentaron obstrucciones recurrentes. La longitud de la matriz influye directamente sobre el tiempo de residencia del material en el canal de compresión y, en consecuencia, sobre el grado de compactación alcanzado

(Mani et al., 2003; Temmerman et al., 2006). Si bien un incremento de dicha longitud puede favorecer una mayor densidad aparente y resistencia mecánica del pelet, también incrementa la fricción interna y la demanda de potencia del equipo, aumentando el riesgo de bloqueo del canal de extrusión (Stelte et al., 2011b). En el presente estudio, los resultados negativos obtenidos con matrices de mayor longitud se atribuyen a la elevada fricción generada y a la potencia limitada del motor, insuficiente para sostener un flujo estable de extrusión. Esta limitación se ve agravada por las características intrínsecas de la biomasa de cardo, que presenta una estructura fibrosa y relativamente rígida, con un contenido de lignina moderado (11 % en base seca, ver Capítulo 3). Este valor es considerablemente inferior al reportado para biomasas leñosas comúnmente utilizadas en peletizado, como el pino, cuyo contenido de lignina se sitúa típicamente entre 25 y 30 %. Dado que la lignina actúa como un aglutinante natural cuando se ablanda por efecto de la temperatura y la presión, un menor contenido de este componente reduce la plasticidad del material y dificulta la formación de pelets cohesivos si no se dispone de condiciones adecuadas de potencia y humedad (Kaliyan y Vance Morey, 2009; Adapa et al., 2013). Resultados similares han sido reportados para otras biomasas herbáceas con bajo contenido de lignina y elevado contenido mineral, las cuales suelen presentar mayores dificultades durante el proceso de densificación y una menor durabilidad de los pelets en comparación con biomasas leñosas, lo que hace necesario optimizar las condiciones de peletizado para alcanzar un desempeño adecuado (Whittaker y Shield, 2017).

El análisis de los restantes parámetros operativos evidenció que la velocidad de alimentación de la peletizadora fue el factor con mayor incidencia sobre la productividad del proceso. Al operar a 45 Hz (pelet 3 y 4), se registraron incrementos promedios de productividad de 176 % respecto de velocidades inferiores. No obstante, si bien esta condición favoreció la producción, los pelets obtenidos con los tratamientos 3 y 4 presentaron una calidad inferior en comparación con los tratamientos 1 y 2, elaborados a 16 Hz, los cuales se ubicaron dentro de la categoría A en términos de contenido de humedad final, poder calorífico inferior, densidad aparente y dureza mecánica. Este comportamiento concuerda con lo reportado en la literatura, donde se señala que un aumento en la tasa de alimentación favorece el llenado de los canales de la matriz y mejora la eficiencia del proceso, siempre que el equipo disponga de la potencia necesaria para sostener la compactación (Kaliyan y Vance Morey, 2009). Sin embargo, velocidades de alimentación excesivas reducen el tiempo de residencia del material y la presión efectiva

de compactación, lo que deriva en pelets con menor cohesión, densidad aparente y durabilidad mecánica (Kaliyan y Vance Morey, 2009; Shankar Tumuluru et al., 2011). Estos resultados ponen de manifiesto la necesidad de establecer un compromiso entre productividad y calidad del pelet, en función de las limitaciones técnicas del proceso de densificación.

En particular, se observó que los pelets obtenidos a partir de biomasa con un contenido de humedad del 16 % y una velocidad de alimentación de la matriz de 45 Hz (pelet 4) presentaron valores de dureza mecánica inferiores a los requeridos para ambas categorías de calidad establecidas por ISO 17225-6 (2021). Este comportamiento se atribuye a un tiempo de residencia insuficiente en la matriz para permitir una adecuada redistribución y evaporación parcial de la humedad, lo que afectó negativamente la compactación y la formación de enlaces interparticulares estables durante la peletizado. Este efecto ha sido previamente señalado como crítico en biomasas con bajo contenido de lignina, donde el control del tiempo de residencia y de la humedad resulta determinante para alcanzar pelets de adecuada resistencia mecánica (Adapa et al., 2013; Kaliyan & Vance Morey, 2009). En contraste, los pelets obtenidos a partir de biomasa con el mismo contenido de humedad inicial, pero con una menor velocidad de alimentación del equipo (pelet 2), presentaron valores más elevados de dureza, evidenciando que un mayor tiempo de residencia del material dentro de la matriz permite eliminar la humedad excedente.

En relación al contenido de humedad inicial de la biomasa, se observó un efecto positivo, aunque no significativo desde el punto de vista estadístico, sobre la productividad al emplear biomasa con mayor contenido de humedad (16 %). Este comportamiento puede atribuirse a que una humedad moderada mejora la plasticidad y cohesión de las partículas, favoreciendo el flujo del material dentro de la matriz y la acción aglutinante de la lignina (Stelte et al., 2011b; Jiang et al., 2020). No obstante, valores superiores al 18 - 20 % pueden provocar obstrucciones y disminuir la eficiencia energética del proceso debido al aumento de la fricción interna y a la evaporación del agua (Adapa et al., 2010; Mani et al., 2006; Stelte et al., 2011a). Dentro de los tratamientos con velocidad elevada (pelet 3 y 4), el efecto de la humedad fue más marcado para los parámetros de calidad: pelet 3 alcanzó humedad final del 11 % (categoría A), mientras que pelet 4 registró 15 % (límite de categoría B). En cuanto al PCI y la densidad aparente, ambos tratamientos generaron pelets dentro de los límites establecidos para la categoría A, aunque con diferencias significativas entre sí. Finalmente, como ya se mencionó, la dureza mecánica del pelet 4

fue muy baja, quedando fuera de ambas categorías, mientras que pelet 3 calificó dentro de la categoría B. En contraste, los pelets 1 y 2, correspondientes a menores velocidades de alimentación, permitieron obtener pelets de mayor calidad, con valores mayoritariamente acordes a la Categoría A, aunque a expensas de una productividad significativamente menor del proceso.

El elevado contenido de cenizas en los pelets de biomasa afecta negativamente su eficiencia de combustión. Las cenizas no solo reducen la energía útil que puede ser liberada durante el proceso, sino que también incrementan la generación de residuos sólidos, los cuales requieren una gestión adecuada post-combustión. El contenido de cenizas en los pelets de cardo alcanzó un valor de 7,58 % en base seca. Conforme a las normativas de calidad, este valor excluye a los pelets de cardo de la categoría A, aunque los mantiene dentro de la categoría B. Aunque el contenido de cenizas es intrínseco a la materia prima (Herguedas et al., 2012) aspectos vinculados al manejo del cultivo, como la modalidad de cosecha, pueden incidir en la incorporación de partículas minerales del suelo. Durante los ensayos de combustión se observó la formación de cenizas de tonalidad turquesa, atribuibles a la presencia de compuestos minerales ricos en potasio (K), calcio (Ca) y silicio (Si). Esto concuerda con los datos reportados por Angelini et al., (2009) y Abelha et al., (2013), quienes determinaron que las cenizas de la biomasa de *Cynara cardunculus* L. son ricas en elementos alcalinos como el potasio (K) y sodio (Na), seguidos por calcio (Ca), sílice (Si) y fósforo (P), y pequeñas cantidades de magnesio (Mg), con contenidos muy bajos de hierro (Fe) y aluminio (Al). Si bien el color no afecta directamente la eficiencia de combustión, constituye un indicador de la composición inorgánica de la biomasa, que adquiere relevancia por su influencia en la reducción del punto de fusión de la ceniza y la formación de depósitos, problemática frecuentemente asociada a biomasas herbáceas, con altos contenidos de K y Ca (Jenkins et al., 1998; Obernberger et al., 2006).

Diversos estudios han demostrado que la combinación de biomasas herbáceas con materiales leñosos mejora significativamente las propiedades físicas, energéticas y de combustión de los pelets cuando la mezcla se realiza previo al proceso de peletizado. Mohammadi et al., (2023) estudiaron pelets elaborados mediante mezclas de Miscanthus y aserrín de pino en distintas proporciones, y reportaron que las mezclas presentaron menores contenidos de cenizas, mayor dureza mecánica y mayor poder calorífico que los pelets elaborados a partir de Miscanthus puro. Asimismo, Obidziński et al., (2024)

observaron que la incorporación de pulpa de papa a pelets de aserrín de pino permitió reducir las emisiones de CO_2, CO y NO, mejorando la calidad de la combustión respecto al material leñoso sin aditivos. Si bien estos antecedentes confirman el potencial de la combinación de biomasas como estrategia de optimización, en el presente trabajo se evaluó un enfoque alternativo basado en la mezcla mecánica posterior de pelets ya formados (blending). Esta estrategia representa una alternativa operativamente más flexible, ya que permite evaluar posibles mejoras en el comportamiento durante la combustión de los pelets de cardo mediante su mezcla con pelets de pino, sin modificar el proceso de peletizado ni la infraestructura industrial existente, lo cual resulta particularmente relevante desde una perspectiva de aplicación industrial. Los ensayos de combustión de pelets de cardo y de la mezcla cardo/pino permitieron determinar parámetros clave tales como el tiempo de combustión, la masa de combustible consumida, el consumo horario y la temperatura de la llama, los cuales, analizados de manera conjunta, constituyen indicadores relevantes de la estabilidad del proceso de combustión y de la eficiencia térmica del sistema. En este sentido, los pelets de *Cynara cardunculus* presentaron un comportamiento de combustión menos estable, con pérdida progresiva de intensidad de la llama y apagones intermitentes, lo que impidió alcanzar un régimen estacionario, especialmente a bajos niveles de potencia térmica útil. Los menores consumos horarios observados bajo estas condiciones no reflejan una mayor eficiencia del proceso, sino que son consecuencia directa de la inestabilidad de la combustión. La principal causa de esta inestabilidad puede atribuirse al elevado contenido de cenizas del cardo. Durante la combustión, la acumulación de residuos inorgánicos en el crisol favorece la formación de depósitos que obstruyen parcial o totalmente las entradas de aire primario, reduciendo la disponibilidad efectiva de oxígeno en la zona de reacción. Este fenómeno afecta negativamente la continuidad del proceso y la eficiencia térmica, promoviendo la extinción prematura de la llama y una combustión incompleta, tal como ha sido ampliamente reportado en la literatura para biocombustibles sólidos con alto contenido mineral (Obernberger et al., 2006).

En contraste, la incorporación de biomasa leñosa en el blend cardo/pino permitió diluir el contenido de cenizas del combustible, reduciendo los efectos adversos asociados a la acumulación de material inorgánico. Como resultado, el proceso de combustión mostró una mayor estabilidad, con una llama sostenida y temperaturas más elevadas y constantes en el tiempo, lo que posibilitó el establecimiento de un régimen cuasi estacionario. Este

comportamiento evidencia que la formulación de blends constituye una estrategia eficaz para mejorar el desempeño térmico y la operabilidad de biocombustibles sólidos de origen herbáceo.

Si bien los tiempos de combustión y las masas totales de combustible consumidas difirieron entre las condiciones operativas Pt1, Pt2 y Pt3, las tasas de consumo horario resultaron relativamente similares. Este comportamiento podría estar relacionado con el sistema de control automático de la estufa, el cual regula de manera conjunta la tasa de alimentación de pelets y el suministro de aire de combustión con el objetivo de mantener la potencia térmica útil programada. En este contexto, la estufa ajusta la cantidad de combustible alimentada por unidad de tiempo, independientemente de la duración total del ensayo.

En consecuencia, aunque la condición Pt2 presentó una menor duración de la combustión y una masa total de pelet consumida significativamente inferior, la tasa de alimentación de combustible durante los períodos activos de combustión fue comparable a la observada en Pt3, lo que se refleja en valores de consumo horario cercanos. Este tipo de regulación es característico de estufas de pelets de pequeña escala, diseñadas para operar a potencia controlada, y ha sido reportado previamente en estudios de combustión residencial. (Obernberger et al., 2006; Koppejan y van Loo, 2012). No obstante, la condición Pt2 evidenció un comportamiento diferenciado, asociado a un régimen de operación menos eficiente y menos estable. Mientras que en Pt1 la estufa opera a potencia máxima, con una alimentación continua de combustible y un mayor caudal de aire que favorecen una combustión sostenida, y en Pt3 la alimentación es baja pero constante, permitiendo una combustión lenta y relativamente estable, en Pt2 la estufa funciona en un régimen intermedio donde la alimentación del pelet resulta intermitente y el flujo de aire no se sincroniza adecuadamente con la entrada de combustible. Esta falta de sincronización genera una combustión irregular, de menor duración y con una masa total quemada inferior, lo que explica que Pt2 no se comporte como un punto medio entre Pt1 y Pt3, sino como un régimen transicional con menor estabilidad. Comportamientos similares han sido observados en otros sistemas de combustión a pelets operando en regímenes parciales de carga (Jenkins et al., 1998; Nussbaumer, 2003).

La temperatura de la llama se utilizó como un indicador adicional de la eficiencia térmica y de la estabilidad del proceso. En los ensayos Pt2 y Pt3 con pelets de cardo se registraron temperaturas máximas de llama cercanas a 650 °C, alcanzadas a los 12 y 8 minutos,

respectivamente, seguidas de una disminución rápida asociada a la pérdida de estabilidad de la llama. Este comportamiento puede atribuirse, nuevamente, al elevado contenido de cenizas característico de la biomasa herbácea, que favorece la acumulación de residuos en el crisol, interfiere en la transferencia de calor y dificulta la combustión de los compuestos volátiles (Obernberger et al., 2006). En contraste, la mezcla cardo-pino presentó una combustión notablemente más estable, con una llama sostenida durante un mayor período (20 minutos) y una temperatura máxima cercana a 700 °C. La incorporación de biomasa leñosa, caracterizada por un menor contenido de cenizas y un comportamiento termoquímico más favorable, contribuyó a una combustión más eficiente y a una mayor liberación de energía, en concordancia con lo reportado en estudios de co-combustión de biomasas herbáceas y leñosas (Koppejan y van Loo, 2012; Nunes et al., 2014).

La cantidad total de combustible consumido durante los ensayos con pelets de cardo varió entre 0,30 y 0,90 kg. Estas diferencias deben interpretarse conjuntamente con la duración de cada ensayo, ya que Pt2 presentó el menor tiempo de combustión (27,4 min) y, consecuentemente, la menor masa total consumida (0,30 kg), mientras que en Pt1 se consumieron 0,90 kg durante 62 min y en Pt3 0,65 kg durante 50,7 min. Al expresar estos valores como consumo másico horario, las diferencias entre las tres condiciones fueron menores, con valores comprendidos entre 0,7 y 0,9 kg h^{-1}. Esto indica que las diferencias observadas en la cantidad total de combustible consumido estuvieron asociadas, en buena medida, a la distinta duración de los ensayos. En el ensayo realizado con el blend cardo-pino bajo Pt1 se registró el mayor consumo horario, con 1,5 kg h^{-1}, frente a 0,9 kg h^{-1} obtenidos para los pelets de cardo bajo la misma condición de potencia. Asimismo, durante los 52 min de ensayo se consumieron 1,30 kg de combustible. Este comportamiento muestra una mayor tasa de alimentación y consumo del blend en las condiciones evaluadas, coincidente con la combustión más sostenida observada para esta mezcla. Sin embargo, dado que los ensayos no fueron diseñados específicamente para determinar las causas de estas diferencias en el consumo, no es posible atribuirlas exclusivamente a la composición del combustible.

En el caso de los pelets de *Cynara cardunculus*, no fue posible obtener registros confiables de las emisiones gaseosas (CO y O_2 residual), lo cual no debe interpretarse como una limitación del sistema de medición, sino como una consecuencia directa de la marcada inestabilidad del proceso de combustión. Las fluctuaciones abruptas de la llama

y los apagones intermitentes impidieron el establecimiento de un régimen estacionario, condición indispensable para la correcta operación del analizador de gases y para la interpretación representativa de las emisiones. Este comportamiento es consistente con una combustión incompleta y transitoria, en la cual la variabilidad en la disponibilidad de oxígeno y en la tasa de alimentación de combustible genera concentraciones instantáneas de CO que pueden exceder los rangos operativos del equipo de medición. En este sentido, la imposibilidad de cuantificar las emisiones constituye en sí misma un indicador indirecto de la baja estabilidad y del deficiente desempeño ambiental del proceso de combustión de los pelets de cardo puro. En cuanto al blend, las concentraciones de O_2 registradas durante el proceso (16,6 - 20,7 %) fueron superiores a las informadas por Polonini et al. (2023) para condiciones favorables de combustión en una estufa a pelets, donde las menores emisiones de CO se observaron con concentraciones de O_2 del orden de 8 - 9 %. Los elevados valores registrados en el presente ensayo sugieren un exceso de aire, condición que puede disminuir la temperatura de combustión y afectar la oxidación del CO a CO_2 (Nussbaumer, 2003). Asimismo, las temperaturas de llama moderadas observadas durante los ensayos, junto con la variabilidad en la eficiencia térmica, evidencian un proceso de combustión inestable, caracterizado por fluctuaciones en la alimentación del combustible y en el suministro de aire. Este comportamiento puede estar asociado a deficiencias en el diseño del equipo, particularmente en la gestión de las cenizas, cuya acumulación puede obstruir la entrada de aire primario y alterar la distribución del flujo gaseoso en la cámara de combustión. En este sentido, Vassilev et al. (2017) ha señalado que la acumulación de cenizas en sistemas que utilizan biomasas herbáceas o mezclas con alto contenido de inorgánicos favorece la inestabilidad del proceso y el incremento de emisiones de CO.

5. CONCLUSIONES

Si bien la biomasa de *Cynara cardunculus* L. posee potencial para ser utilizada como biocombustible sólido desde el punto de vista energético, su elevada generación de cenizas y la sensibilidad de los procesos de peletizado y combustión condicionan su aplicación directa en sistemas domésticos. Los resultados obtenidos demuestran que el ajuste de parámetros operativos (velocidad de alimentación y humedad inicial) mejora parcialmente la calidad del pelet, pero no resulta suficiente para garantizar su comportamiento térmico. En este contexto, la co-combustión con biomasas leñosas de bajo contenido de ceniza surge como una estrategia efectiva para incrementar la

estabilidad de combustión, mejorar la eficiencia energética y reducir los problemas asociados al manejo de residuos, consolidando una alternativa viable para su uso en condiciones controladas. Además, desde el punto de vista tecnológico, los resultados obtenidos ponen en evidencia la necesidad de incorporar estrategias de mejora en el sistema de combustión, tales como el uso de parrillas móviles que faciliten la evacuación continua de cenizas, la implementación de sistemas de control automático del flujo de aire mediante sondas lambda y una adecuada aislación térmica de la cámara de combustión.

CAPÍTULO 3: BIOETANOL

1. INTRODUCCIÓN

El bioetanol es un alcohol renovable obtenido a partir de la fermentación de azúcares simples, que derivan de materias primas vegetales ricas en sacarosa, almidón o celulosa. Su uso como biocombustible líquido se ha consolidado como una estrategia clave para reducir la dependencia de combustibles fósiles y mitigar las emisiones de gases de efecto invernadero, en línea con los objetivos globales de transición hacia sistemas energéticos más sostenible (Demirbas, 2008; IEA, 2023a). Al igual que todos los biocombustibles, el bioetanol puede clasificarse, en función de la materia prima utilizada para su obtención, como bioetanol de primera, segunda y tercera generación. El bioetanol de primera generación (1G) se produce a partir de cultivos alimentarios ricos en azúcares fácilmente fermentables, como la caña de azúcar, la remolacha azucarera (ricos en sacarosa) y el maíz (rico en almidón), mediante procesos relativamente simples que implican la hidrólisis enzimática del almidón seguida de fermentación alcohólica (Balat y Balat, 2009). Si bien esta vía presenta alta eficiencia técnica y se encuentra ampliamente desarrollada a escala industrial, su sostenibilidad es objeto de debate debido a la competencia con la producción de alimentos, el uso intensivo del suelo y el requerimiento de insumos agrícolas (Cherubini, 2010).

El bioetanol de segunda generación (2G), en cambio, se obtiene a partir de biomasa lignocelulósica, un recurso abundante, no comestible y disponible como residuos agrícolas (por ejemplo, bagazo de caña, paja de cereal), forestales y urbanos. Esta alternativa permite valorizar subproductos y reducir los conflictos asociados al uso de cultivos alimentarios, aunque requiere etapas de pretratamiento e hidrólisis más complejas para liberar los azúcares fermentables.

Finalmente, el bioetanol de tercera generación (3G) se basa en el aprovechamiento de ciertos organismos como levaduras, hongos y microalgas, capaces de sintetizar y acumular elevadas cantidades de lípidos, proteínas y carbohidratos en cortos períodos de tiempo (Assaf et al., 2024; Melendez et al., 2025). Estos sistemas presentan un valor añadido, ya que, además de su potencial energético, pueden emplearse para la obtención de compuestos de interés en las industrias alimentaria, química y farmacéutica.

En Argentina, el maíz constituye una de las principales materias primas para la producción de bioetanol, el cual se obtiene principalmente a partir del grano cuya elevada

concentración de almidón permite una conversión eficiente a glucosa y, posteriormente, a etanol a través de fermentación. Considerando un rendimiento promedio nacional de aproximadamente ocho toneladas de granos por hectárea y una producción estimada de 370 litros de etanol por tonelada de maíz (MAGyP, 2016), el rendimiento total de etanol alcanza valores cercanos a 3.000 litros por hectárea. Por otro lado, la caña de azúcar, se procesa mediante la fermentación del jugo o melaza, un subproducto de la industria azucarera. En el primer caso, el uso del jugo de caña de azúcar, al igual que el maíz, genera debates vinculados a la competencia con la producción de alimentos y no se encuentra generalizado en Argentina. En este contexto, el cardo (*Cynara cardunculus* L. var. *altilis*) emerge como un cultivo energético de alto potencial para un aprovechamiento integral, dado que permite la valorización de distintas fracciones de la planta en múltiples cadenas bioenergéticas. Tras la cosecha de los aquenios, que pueden ser destinados principalmente a la obtención de aceites para la producción de biodiésel, la biomasa lignocelulósica residual, constituida mayoritariamente por tallos y, en menor proporción, por hojas, puede emplearse como materia prima para la producción de bioetanol 2G, biocombustibles sólidos u otros bioproductos.

1.1.Biomasa lignocelulósica

La biomasa lignocelulósica constituye la fuente más abundante de compuestos orgánicos renovables del planeta. La producción mundial de dicha biomasa, la cual comprende residuos agrícolas, residuos de jardinería y una fracción de los residuos sólidos orgánicos urbanos, supera los 220 000 millones de toneladas anuales (Zagrodnik et al., 2021). El aprovechamiento de la lignocelulosa como materia prima para la obtención de biorrecursos permite reducir los costos de producción y optimizar la valorización de biomasa no comestible. La biomasa lignocelulósica está constituida por tres polímeros estructurales principales (Figura 19):

Celulosa (40 - 50 %): Es el polisacárido más abundante en la biosfera y constituye el principal componente estructural de la pared celular vegetal, especialmente en la pared secundaria de células maduras. Está compuesta por cadenas largas lineales de D-glucosa unidas mediante enlaces β-(1→4)-glicosídicos. Estas cadenas se agrupan por puentes de hidrógeno para formar estructuras altamente organizadas conocidas como fibrillas elementales (Somerville et al., 2004) que a su vez se organizan en microfibrillas, rodeadas por una matriz amorfa de hemicelulosa y lignina, que confiere resistencia mecánica,

hidrofobicidad y protección frente a ataques microbiológicos (Cosgrove, 2005; Klemm et al., 2005). Las microfibrillas se organizan jerárquicamente en macrofibrillas, cuya orientación específica en las distintas capas de la pared celular secundaria contribuye a la integridad estructural del tejido vegetal (Niklas, 1992).

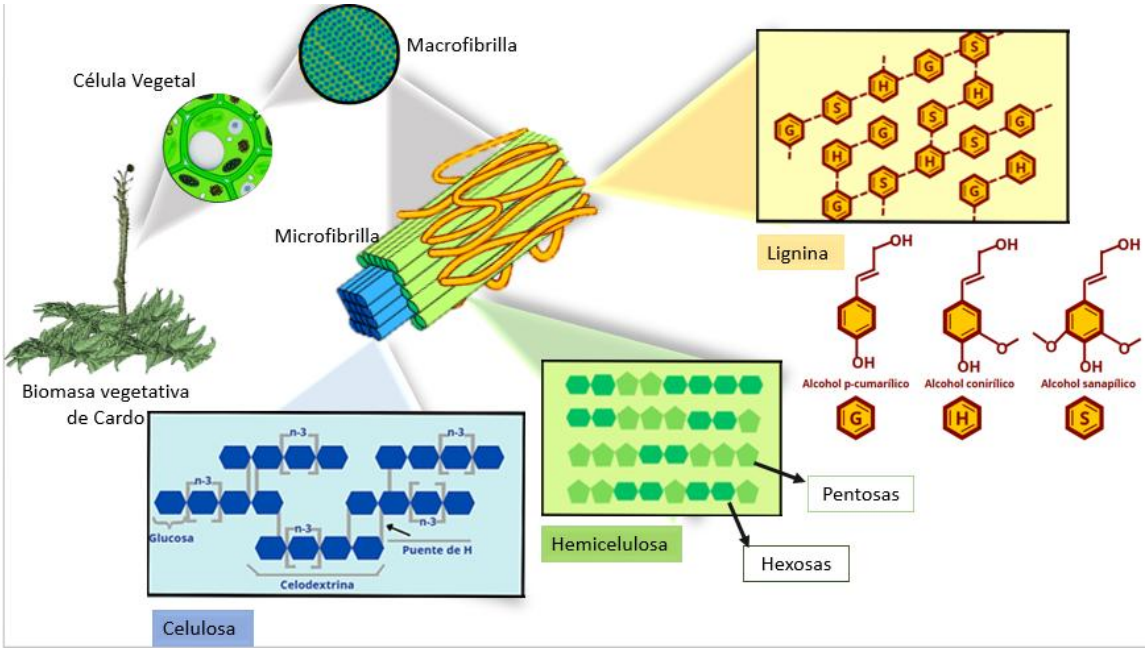
Hemicelulosa (25 - 35 %): Es una mezcla heterogénea de polisacáridos ramificados. A diferencia de la celulosa, está compuesta por cadenas cortas de azúcares que pueden incluir pentosas como la β-D-xilosa y la α-L-arabinosa, hexosas como la β-D-glucosa, β-D-manosa y α-D-galactosa, así como ácidos urónicos tales como el ácido α-D-glucurónico, α-D-4-O-metilgalacturónico y α-D-galacturónico. También pueden encontrarse en menor proporción otros azúcares como la α-L-ramnosa y la α-L-fucosa (Gírio et al., 2010). Su composición y estructura dependen de la especie: En angiospermas (maderas duras) predominan xilanos altamente acetilados, en gimnospermas (las maderas blandas) los galactomananos y en plantas herbáceas, principalmente xilanos con menor grado de acetilación (Fengel y Wegener, 1983; Sjostrom, 1993; Teleman, 2009). Esta diversidad estructural tiene implicancias directas en la eficiencia de los procesos de pretratamiento y conversión bioquímica en el contexto de la producción de biocombustibles lignocelulósicos.

Lignina (15 - 30 %): Es un heteropolímero aromático tridimensional constituido por tres tipos principales de unidades fenilpropanoides: p-hidroxifenil (H), guayacilo (G) y siringilo (S) (Ekielski y Mishra, 2020). Estos compuestos, conocidos como alcoholes p-hidroxicinámicos o monolignoles, se ensamblan entre sí mediante enlaces éter y enlaces carbono-carbono (C–C), tras experimentar un proceso de deshidrogenación enzimática. Dicha deshidrogenación implica una transferencia de electrones catalizada por enzimas oxidativas de la planta, como peroxidasas o lacasas, en presencia de peróxido de hidrógeno u oxígeno molecular, respectivamente (Adler, 1977). Este proceso da lugar a la formación de radicales libres de tipo fenoxilo, estabilizados mediante resonancia, los cuales interactúan entre sí para formar la estructura polimérica. El enlace más frecuente, favorecido desde el punto de vista termodinámico, es el enlace β-O-4', que se establece entre la posición β del radical monolignol y el radical fenoxilo del polímero de lignina en crecimiento.

Durante su biosíntesis, la lignina se deposita inicialmente en la lámina media y en la pared celular primaria, para luego integrarse en las distintas capas de la pared secundaria, donde actúa como matriz que recubre y enlaza la celulosa y la hemicelulosa. Debido a su

naturaleza hidrofóbica y a su estructura química compleja y recalcitrante, la lignina aporta rigidez estructural a los tejidos vegetales, al tiempo que proporciona una barrera protectora frente a la acción de patógenos y la pérdida de agua por desecación (Buranov y Mazza, 2008).

Figura 19: Composición química de la biomasa lignocelulósica. Imagen adaptada de Rubin, (2008)



Unidades fenilpropanoides: p-hidroxifenil (H), guayacilo (G) y siringilo (S)

En resumen, la celulosa, compuesta por largas cadenas de glucosa, presenta una elevada cristalinidad que dificulta el acceso enzimático. Esta estructura se encuentra integrada en una matriz amorfa de hemicelulosa y protegida por una barrera externa de lignina, un polímero aromático que otorga rigidez y resistencia a la degradación biológica (Sun y Cheng, 2002).

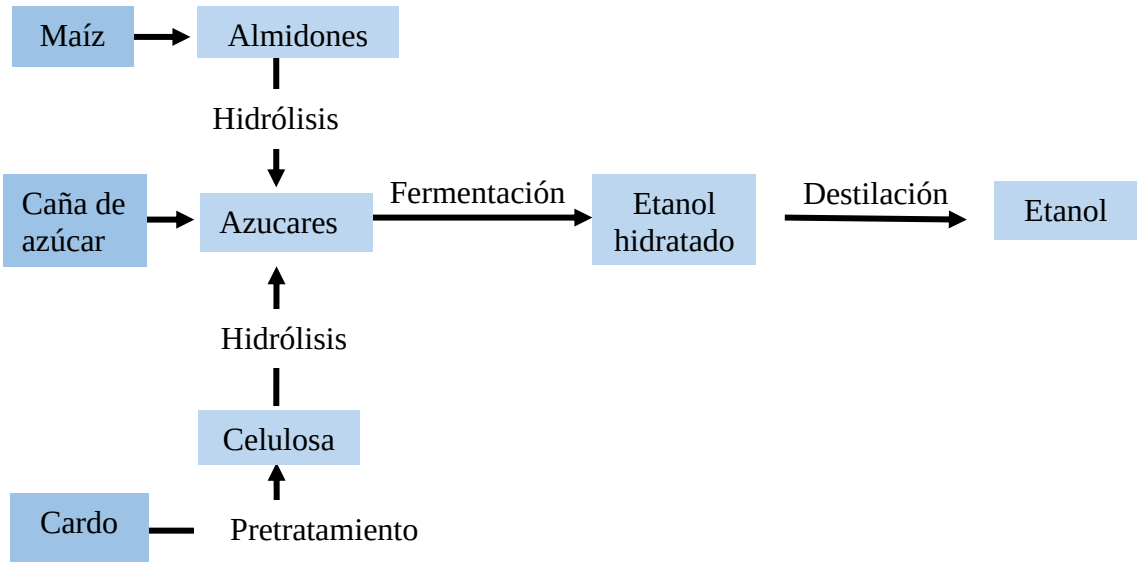
Dado este entramado estructural, la producción eficiente de bioetanol 2G requiere un pretratamiento (PT) previo a la hidrólisis enzimática, con el fin de remover parcial o totalmente la lignina y hemicelulosa, reducir la cristalinidad de la celulosa y aumentar la porosidad de la biomasa, facilitando así el acceso de las enzimas hidrolíticas (Sun y Cheng, 2002; Mosier et al., 2005; Alvira et al., 2010). Entre los pretratamientos más empleados se encuentran los que utilizan métodos físicos, químicos, biológicos y fisicoquímicos (Alvira et al., 2010).

1.2.Etapas para la producción de bioetanol lignocelulósico

A diferencia de las principales materias primas utilizadas en Argentina para la producción de bioetanol, como el maíz y la caña de azúcar, la obtención de bioetanol a partir de biomasa lignocelulósica involucra tres etapas principales: pretratamiento, hidrólisis enzimática y fermentación (Figura 20). El pretratamiento constituye la etapa crítica del proceso, ya que permite reducir la recalcitrancia estructural del material vegetal, mejorar la accesibilidad de las enzimas y maximizar la liberación de azúcares fermentables.

En este contexto, la biomasa lignocelulósica representa un recurso sostenible y económicamente viable para diversas aplicaciones industriales; sin embargo, el desempeño global del proceso depende en gran medida de la biomasa seleccionada y de la estrategia de pretratamiento aplicada. La elección de procesos de pretratamiento económicamente competitivos, versátiles y ambientalmente sostenibles resulta clave para garantizar la viabilidad económica y ambiental de la producción de biocombustibles lignocelulósicos (Kumar et al., 2025b).

Figura 20: Procesos de obtención de bioetanol según biomasa utilizada.



1.2.1. Pretratamientos

1.2.1.1.Físicos

Los métodos físicos tienen como principal objetivo reducir el tamaño de partícula y disminuir la cristalinidad de la celulosa, aumentando así la superficie específica

disponible para la acción enzimática. Entre las técnicas más utilizadas se encuentra la **molienda mecánica** (por cuchillas, bolas o molinos de impacto), que fragmenta la biomasa y rompe parcialmente la estructura de celulosa cristalina, especialmente en materiales leñosos. Otras tecnologías incluyen la **extrusión mecánica**, la **irradiación con microondas** y el **ultrasonido**, las cuales pueden inducir cambios termoquímicos y microestructurales que favorecen etapas posteriores del procesos (Mosier et al., 2005; Hendriks y Zeeman, 2009).

Si bien estos métodos no generan productos tóxicos y son ambientalmente seguros (Kumar et al., 2025b), su aplicación a gran escala se ve limitada por el alto consumo energético, especialmente cuando se requieren partículas muy finas o altas tasas de conversión. No obstante, se utilizan con frecuencia como tratamientos preliminares combinados con métodos químicos o biológicos.

1.2.1.2.Químicos

Los pretratamientos químicos se basan en agentes capaces de romper la matriz lignocelulósica, solubilizar hemicelulosa y alterar la estructura de la celulosa.

- **Ácidos diluidos:** El pretratamiento con ácidos diluidos, especialmente ácido sulfúrico diluido (< 4 % p/p), es uno de los métodos químicos más empleados. Actúa de forma no selectiva sobre celulosa, hemicelulosa y lignina, generando mezclas complejas de azúcares acompañadas de subproductos de degradación, como furfural, hidroximetilfurfural (HMF) y compuestos fenólicos, en algunos casos tóxicos para los microorganismos fermentativos (Mosier et al., 2005). Se realiza a temperaturas entre 140 y 200 °C, con tiempos de residencia que varían entre varios minutos y una hora.
- **Ácidos concentrados:** El empleo de ácido sulfúrico o ácido fosfórico concentrados permite una degradación más extensa de la hemicelulosa y altera significativamente la estructura cristalina de la celulosa, facilitando su conversión a glucosa. Sin embargo, su aplicación implica mayores riesgos ambientales y operativos debido a su elevada corrosividad, toxicidad y requerimientos energéticos, además de la necesidad de equipos resistentes a la corrosión (Sun y Cheng, 2002).

La eficiencia del pretratamiento ácido está fuertemente condicionada por variables operativas como la carga de sólidos, la concentración de ácido, la temperatura y el tiempo de residencia (Xia et al., 2024).

- **Organosolventes:** Este pretatamiento utiliza solventes orgánicos como etanol, metanol o acetona (Sidiras et al., 2022), generalmente en combinación con ácidos minerales. Se caracteriza por su eficiencia en la remoción y recuperación de lignina, que puede ser valorizada como subproducto químico o energético. La recuperación del solvente es un factor decisivo para la viabilidad ambiental y económica del proceso (Zhao et al., 2009).
- **Líquidos iónicos**: Han emergido como una alternativa innovadora debido a su capacidad para disolver simultáneamente celulosa, hemicelulosa y lignina sin generar cantidades significativas de compuestos inhibitorios. Poseen alta estabilidad térmica y química pero su elevado costo y los desafíos asociados a su eficiente recuperación y reciclaje limitan su aplicación a gran escala (Fort et al., 2007).
- **Alcalinos:** Los agentes alcalinos como hidróxidos de sodio, potasio, amonio o cal, actúan principalmente sobre la lignina y los enlaces lignina-carbohidrato (Jayakumar et al., 2023). Son particularmente eficaces en residuos agrícolas y cultivos herbáceos, caracterizados por menor contenido de lignina (Sun y Cheng, 2002; Mosier et al., 2005; Zhao et al., 2012). El uso de cal presenta ventajas económicas y permite su recuperación mediante hornos específicos, aunque puede generar incrustaciones por precipitación de oxalato de calcio en equipos industriales (Chang y Holtzapple, 2000). Otra desventaja reside en los prolongados tiempos de reacción (Asghar et al., 2022).

1.2.1.3.Fisicoquímicos

Los métodos fisicoquímicos combinan temperatura, presión y/o productos químicos para provocar la ruptura de enlaces en la matriz lignocelulósica.

- **Explosión a vapor:** Es uno de los métodos más utilizados comercialmente. Consiste en someter la biomasa a vapor de alta presión (160 - 240 °C) durante un corto período de tiempo y luego liberar la presión de manera súbita. Este procedimiento provoca la despolimerización parcial de la hemicelulosa y cierta redistribución de la lignina, aumentando la susceptibilidad de la biomasa a la hidrólisis enzimática (Alvira et al., 2010; Chaib et al., 2024; Chakraborty et al.,

2024). Una desventaja es la posible formación de productos de degradación como furfural e hidroximetilfurfural (HMF), los cuales inhiben la fermentación, cuando las condiciones no son adecuadamente controladas.

- **AFEX** (*Ammonia Fiber Expansion*): Este método utiliza amoníaco líquido a alta presión para romper enlaces lignina-carbohidrato sin degradar significativamente los azúcares estructurales. Ha mostrado buenos resultados en residuos agrícolas como el rastrojo de maíz y la paja de trigo, aunque su eficiencia disminuye en biomasa con alto contenido de lignina, como maderas duras (Kim et al., 2008).
- **CO_2 supercrítico:** Es una tecnología emergente que permite la penetración del CO_2 en la matriz vegetal sin necesidad de productos químicos peligrosos. Este proceso se destaca por sus atributos ecológicos, ya que emplea un disolvente no tóxico, y el tratamiento con CO_2 a alta presión ha demostrado aumentar la porosidad de la biomasa, mejorando la accesibilidad y la adsorción enzimática (Aggarwal et al., 2022). A pesar de su potencial, su aplicación industrial aún se encuentra en etapa experimental debido a su alto costo operativo.

1.2.1.4.Biológicos

El pretratamiento biológico emplea enzimas o microorganismos para modificar selectivamente la biomasa lignocelulósica. Los hongos de la podredumbre blanca, como *Phanerochaete chrysosporium* o *Trametes versicolor*, han sido objeto de numerosos estudios debido a su capacidad para degradar lignina, la principal barrera física y química para la hidrólisis enzimática posterior (Wan y Li, 2012).

Aunque la velocidad de los tratamientos biológicos es considerablemente menor en comparación con la mayoría de los métodos fisicoquímicos, durante los últimos años se ha renovado el interés en este enfoque debido a su carácter ambientalmente sostenible y a los avances en la identificación de nuevos microorganismos eficientes. Por lo que en la actualidad, es un proceso eficaz, de bajo costo y no genera compuestos inhibidores de la hidrólisis enzimática ni de la fermentación alcohólica (Kumar et al., 2024).

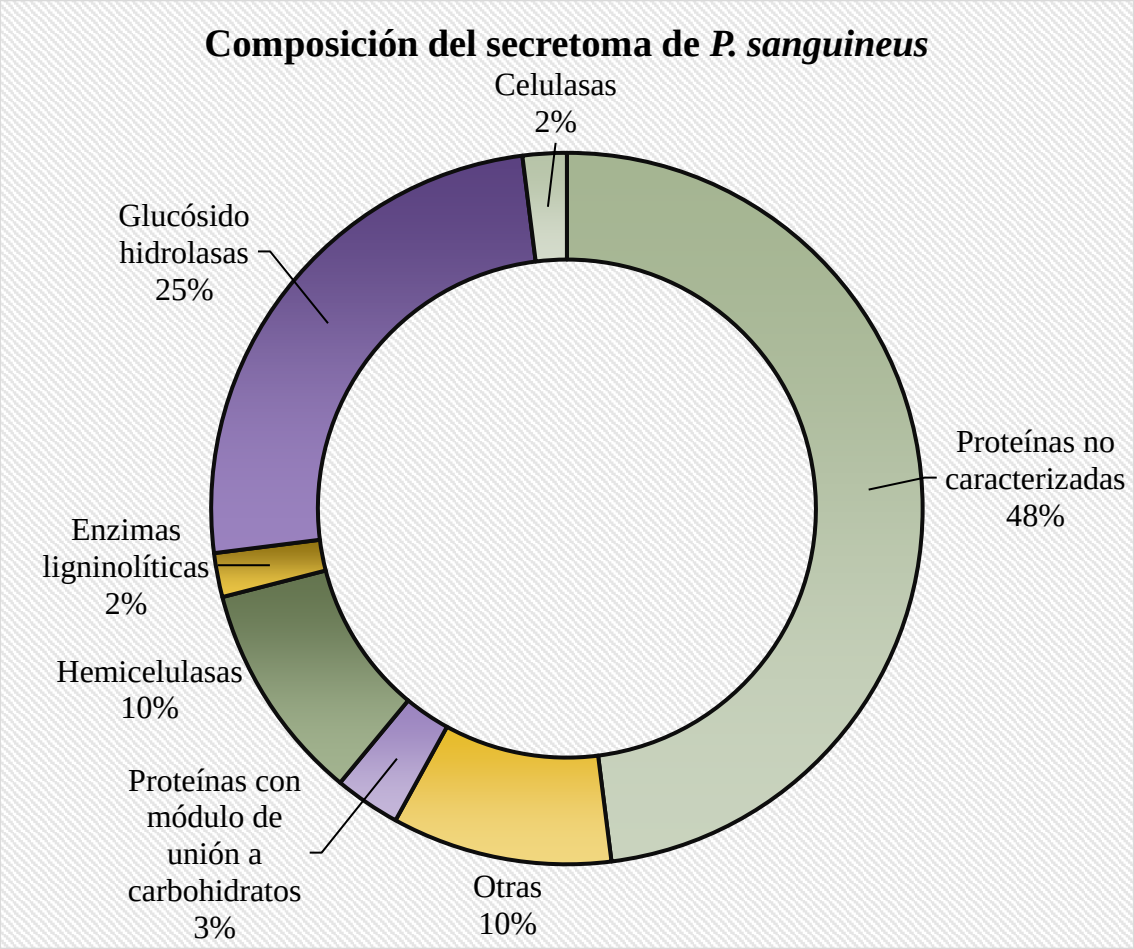
Los **hongos ligninolíticos**, principalmente pertenecientes al grupo de los basidiomicetos causantes de la podredumbre blanca, secretan un conjunto de enzimas extracelulares, como lacasas, lignina peroxidasas (LiP) y manganeso peroxidasas (MnP), que oxidan estructuras aromáticas complejas, fragmentando la matriz lignínica y facilitando el acceso a la celulosa y hemicelulosa (Kirk y Farrell, 1987; Hatakka, 1994; Martínez et al., 2005)

Entre los géneros más estudiados se encuentran *Phanerochaete, Trametes, Pleurotus y Pycnoporus*, todos ellos con alta capacidad de modificar la estructura de la lignina a través de mecanismos oxidativos no específicos (Martínez et al., 2005). Estos hongos degradan lignina de forma selectiva, con una baja mineralización de la fracción celulósica, lo cual los convierte en herramientas prometedoras para pretratamientos biológicos suaves y ambientalmente sostenibles (Wan y Li, 2012). Particularmente, *Pycnoporus sanguineus* ha cobrado relevancia debido a su elevada producción de lacasas termoestables y su capacidad para actuar eficazmente sobre distintos sustratos lignocelulósicos, como residuos agrícolas y forestales, sin requerir condiciones estrictas de cultivo (Larran et al., 2015; Gauna et al., 2021). El uso de lacasas fúngicas se considera, además, ambientalmente favorable ya que evita el uso de agentes corrosivos y no genera efluentes contaminantes (Rodríguez Couto y Toca Herrera, 2006). Por estas razones, el desarrollo de estrategias de inducción de lacasa en especies fúngicas como *P. sanguineus*, mediante el uso de residuos vegetales locales como sustratos inductores, constituye una vía prometedora para el diseño de pretratamientos sostenibles en el marco de una biorrefinería.

El análisis del secretoma, definido como el conjunto de proteínas secretadas al espacio extracelular por una célula, tejido, órgano u organismo, en condiciones específicas de desarrollo o ambientales es clave para comprender la fisiología de los hongos saprobios, cuya nutrición depende de la digestión extracelular de polímeros complejos (Girard et al., 2013; Long et al., 2023). Esta estrategia nutricional justifica la elevada diversidad y especificidad de enzimas que secretan al medio, particularmente aquellas involucradas en la descomposición de componentes lignocelulósicos.

En la Figura 21 se muestra la composición del secretoma de *Pycnoporus sanguineus*, destacando el repertorio enzimático implicado en la degradación de la lignina y la hidrólisis de polisacáridos estructurales (Gauna, 2017).

Figura 21: Composición del secretoma de Pycnoporus sanguineus. Gráfico adaptado de Gauna (2017).



Entre las principales enzimas ligninolíticas se destacan:

- *Lacasa:* Oxidasa multicobre capaz de oxidar compuestos fenólicos (y algunos no fenólicos en presencia de mediadores) reduciendo O_2 molecular a agua. Se destaca por su alta versatilidad ya que puede operar en un amplio rango de pH y temperatura, y no requiere cofactores como H_2O_2. Además, es más fácil de producir a escala industrial que otras enzimas ligninolíticas (Mayer y Staples, 2002; Baldrian, 2006).
- *Manganeso peroxidasa (MnP):* Cataliza la oxidación de Mn^{2+} a Mn^{3+} utilizando H_2O_2. El Mn^{3+} forma complejos con ácidos orgánicos que actúan como mediadores difusibles, capaces de oxidar compuestos fenólicos en la lignina. Es particularmente importante en ambientes ricos en manganeso (Wariishi et al., 1992; Hofrichter, 2002).

- *Lignina peroxidasa:* Presenta un alto potencial redox y es capaz de oxidar estructuras no fenólicas que constituyen hasta el 90 % de la lignina. Su acción también depende de H_2O_2 y puede romper enlaces C-C y C-O, desestructurando la matriz lignínica (Tien y Kirk, 1984; Martínez, 2002).

Estas enzimas actúan de forma sinérgica en la despolimerización parcial de la lignina, facilitando así la accesibilidad de celulasas y hemicelulasas a los polisacáridos estructurales.

1.2.2. Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática convierte los polisacáridos liberados en monosacáridos fermentables, principalmente glucosa y xilosa, mediante el uso de enzimas específicas, las celulasas, que incluyen:

- endoglucanasas: atacan de manera aleatoria los enlaces β-1,4 dentro de la cadena de celulosa, generando nuevos extremos accesibles;
- exoglucanasas o celobiohidrolasas: actúan desde los extremos de las cadenas liberando unidades de celobiosa;
- β-glucosidasas: hidrolizan la celobiosa y otros oligosacáridos solubles para liberar glucosa.

Todas ellas actúan de manera sinérgica, de modo que la acción combinada necesaria para la despolimerización eficiente de la celulosa en azúcares fermentables (Ilić et al., 2023).

Para la hemicelulosa, que es un polímero heterogéneo compuesto por xilanos, arabinoxilanos, mananos y otras unidades de pentosas y hexosas, se requieren hemicelulasas específicas, tales como:

- Xilanasas y β-xilosidasas: degradan las cadenas de xilano liberando xilosa y xilobiosa.
- Arabinosidasas, α-glucuronidasas y otras enzimas accesorias: rompen las ramas laterales y sustituyentes de la hemicelulosa para facilitar su completa degradación (Chukwuma et al., 2020).

Este repertorio enzimático (celulasas y hemicelulasas) actúa de manera cooperativa en la hidrólisis de la pared celular vegetal. La presencia de hemicelulosa puede influir en la eficiencia de la hidrólisis de celulosa al limitar el acceso de las enzimas al sustrato si no se degradan primero (Badhan et al., 2014).

Este proceso se realiza típicamente a 45 - 50 °C, pH de 4,8 - 5,5 y bajo condiciones estériles para evitar contaminaciones. La eficiencia depende de varios factores tales como la naturaleza del sustrato, la carga enzimática, el tiempo de reacción y la presencia de inhibidores derivados del pretratamiento (Yang y Wyman, 2008).

1.2.3. Fermentación

Los azúcares liberados se convierten en etanol mediante un proceso de fermentación microbiana. *Saccharomyces cerevisiae* es el microorganismo más empleado por su alta eficiencia en la conversión de glucosa a etanol, aunque no puede fermentar eficientemente azúcares de cinco carbonos, como xilosa o arabinosa, componentes importantes de la hemicelulosa.

El proceso de fermentación puede realizarse mediante:

- SHF (*Separate Hydrolysis and Fermentation*): Hidrólisis y fermentación en etapas separadas.
- SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*): Ambas etapas en el mismo reactor. Tiene la ventaja de reducir la inhibición enzimática causada por la acumulación de azúcares, aunque requiere condiciones que equilibren la actividad enzimática y el crecimiento microbiano (Olofsson et al., 2008).

En este contexto, en el presente estudio la evaluación se centró endos estrategias de pretratamiento aplicadas a biomasa lignocelulósica:

1) Pretratamiento químico con ácido fosfórico (H_3PO_4) como agente desestructurante, aprovechando su capacidad para solubilizar la hemicelulosa y degradar parcialmente la lignina.
2) Pretratamiento biológico mediante secretomas enzimáticos obtenidos a partir de cultivos de un hongo de la podredumbre blanca, conocido por su capacidad para producir enzimas ligninolíticas como lacasas y peroxidasas (Martínez et al., 2005).

La eficiencia de ambas estrategias se evaluó cuantificando la liberación de glucosa tras la hidrólisis enzimática. Se cuantificó exclusivamente la liberación de glucosa, dado que, como se mencionó con anterioridad, el microorganismo más comúnmente empleado en la fermentación etanólica, *Saccharomyces cerevisiae*, presenta alta eficiencia en la conversión de glucosa a etanol.

No se avanzó a la etapa de fermentación alcohólica, sin embargo, se estimó la producción teórica de etanol a partir de la concentración de glucosa obtenida, utilizando para ello una relación estequiométrica estándar.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Determinar la eficiencia de diferentes pretratamientos de la biomasa lignocelulósica en el proceso de obtención de azúcares fermentables para la producción de bioetanol.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.Material biológico

2.1.1. Especies vegetales

Se emplearon diferentes biomasas lignocelulósicas con fines comparativos y experimentales:

- Espartillar *(Panicum prionotis)* (Pps) fue utilizada como biomasa de referencia, debido a que su comportamiento frente a los pretratamientos evaluados en este ensayo ha sido previamente estudiado (Gauna et al., 2017).
- Germen de trigo (Gt) (*Triticum aestivum*): corresponde a la fracción embrionaria del grano y se caracteriza por su elevado contenido de proteínas, lípidos, vitaminas y compuestos fenólicos. En este estudio se incluyó, junto con el espartillar y el cardo, como uno de los materiales vegetales evaluados para la preparación del medio inductivo, con el objetivo de comparar su capacidad para estimular la producción de enzimas lignocelulolíticas por los hongos estudiados. Su potencial como inductor se relaciona con la presencia de nutrientes y compuestos que pueden favorecer el crecimiento fúngico y la producción de enzimas del sistema ligninolítico, como lacasas y manganeso peroxidasas (MnP) (Elisashvili et al., 2008; Kachlishvili et al., 2006).
- Cardo (*Cynara cardunculus* var. *altilis*): se utilizó como especie de estudio. Las muestras fueron obtenidas del ensayo a campo descripto en el Capítulo 1.

Se trabajó con dos tipos de muestras:

- Cardo en estado vegetativo (Cv): hojas provenientes de plantas en fase de roseta, sin diferenciación de tallo, las cuales fueron secadas a 27 °C hasta peso constante (Figura 22 a).
- Cardo en estado senescente (Cs): tallos y hojas cosechados en estado finales de desarrollo (Figura 22 b).

Ambos tipos de muestras fueron molidas utilizando un molino de rodillos, con el objetivo de homogeneizar el tamaño de partícula. El material obtenido fue posteriormente tamizado para seleccionar la fracción granulométrica requerida y almacenado en recipientes herméticos, a temperatura ambiente y en condiciones secas, hasta su uso en los ensayos experimentales.

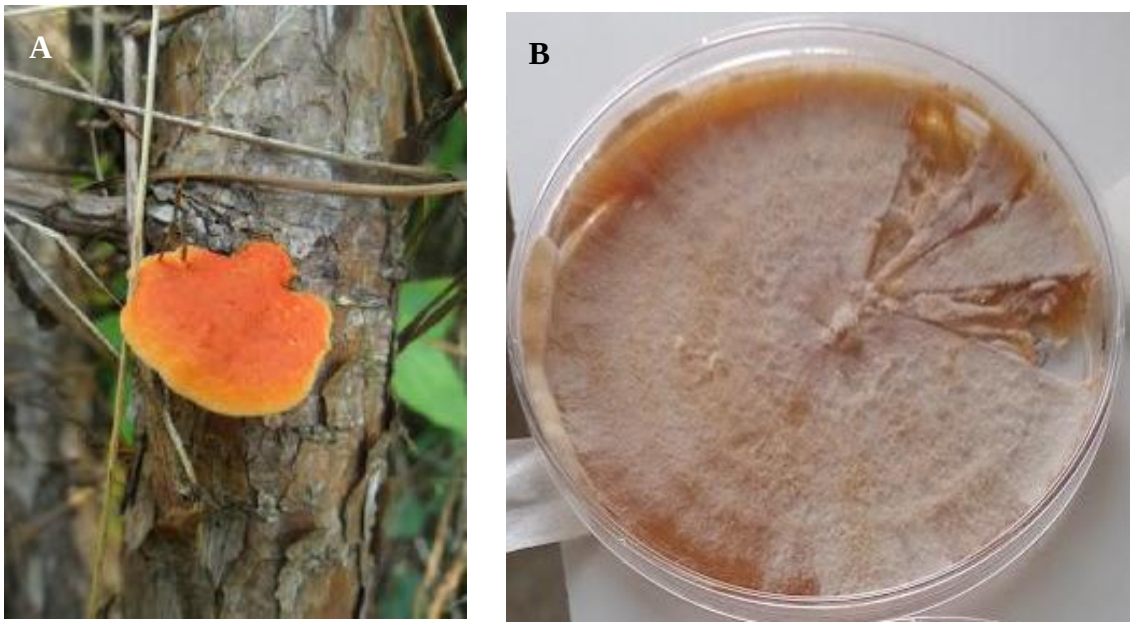
Figura 22: Biomasa seca y molida de Cardo en estado vegetativo (Cv) (A) y en estado senescente (Cs) (B)



2.1.2. Hongos de la podredumbre de la madera

Para los pretratamientos biológicos se utilizó el hongo de la podredumbre blanca *Pycnoporus sanguineus (Ps)* (Figura 23 a), previamente aislado a partir de basidiocarpos recolectados sobre árboles del Campo Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario, en Zavalla (Larran et al., 2015). El aislamiento fue previamente caracterizado por su capacidad de degradación de diferentes biomasas lignocelulósicas (Larran et al., 2015; Gauna et al., 2021). El hongo fue mantenido en placas de Petri con medio agar papa glucosado (APG) y conservado a 4 °C (Figura 23 b). Para los ensayos se realizaron repiques a partir de micelio activo.

Figura 23: Pycnopurus sanguineus, a) foto gentileza del Ing. Agr. Emiliano Jozami b) Cultivo in vitro del hongo en medio rico (APG).



2.1.3. Enzimas comerciales

Para el proceso de hidrólisis se emplearon enzimas comerciales: β-glucosidasa, hemicelulasa y celulasa. Estas mismas enzimas fueron utilizadas en el ensayo de actividad enzimática en placa de Petri, en el cual también se incluyeron las enzimas lignina peroxidasa (LiP), manganeso peroxidasa (MnP) y lacasa (Sigma-Aldrich) para validar los ensayos cualitativos de actividad ligninolítica (Tabla 11).

Tabla 11: Enzimas comerciales utilizadas en la tesis junto con el tipo y con el nombre que figura en el catálogo de Sigma-Aldrich

Nombre del producto	**Tipo**	**Catálogo**
Cellulase from Aspergillus niger	Celulasa	C1184
Hemicellulase from Aspergillus niger	Celulasa	H2125
beta - glucosidase from almonds	Celulasa	49290
Lignina peroxidasa (LiP)	Fenol oxidasa	42063
Manganeso peroxidasa (MnP)	Fenol oxidasa	93014
Lacasa	Fenol oxidasa	51639

2.1.4. Soluciones

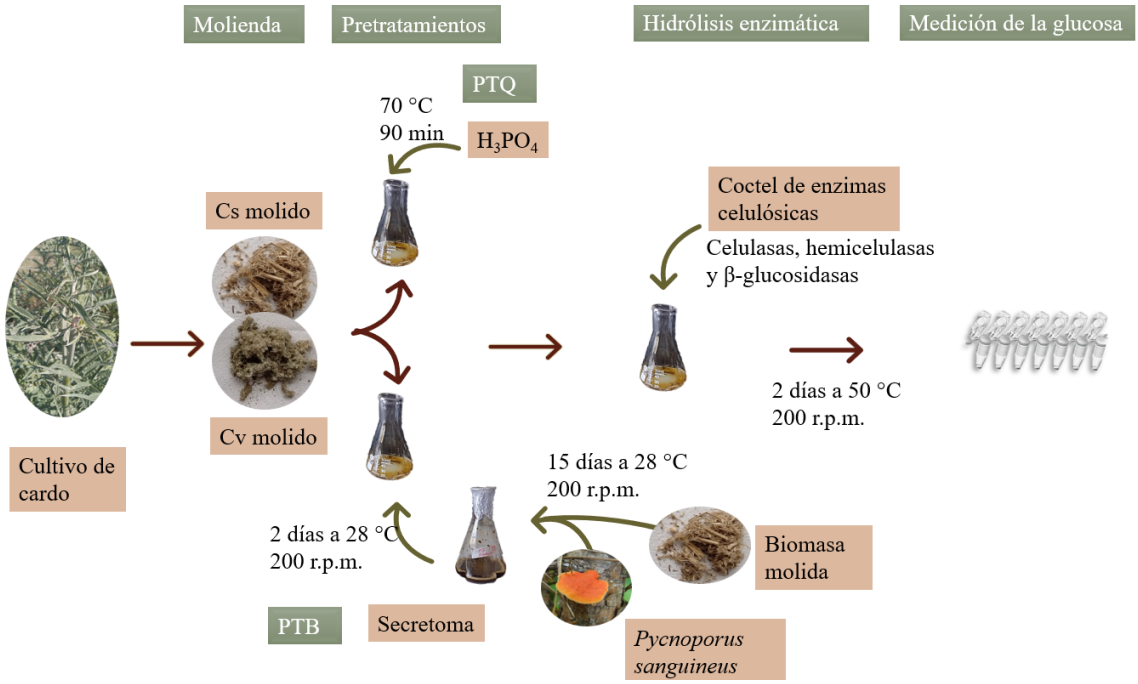
Se prepararon las siguientes soluciones:

- *Acetato de Sodio 100 mM pH 6:* Se disolvieron 6,8 g de acetato de sodio sólido en 480 ml de agua destilada, se ajustó el pH con ácido clorhídrico y se completó el volumen final a 500 ml. Se utilizó para la hidrólisis enzimática y preparación de medios de cultivo.
- *Acetato de Sodio 50 mM pH 4:* Se disolvieron 3,4 g de acetato de sodio sólido en 480 ml de agua destilada, se ajustó el pH con ácido clorhídrico y se completó el volumen final a 500 ml. Se utilizó en el pretratamiento biológico.

2.2.Métodos

En la Figura 24 se presenta el esquema general de los procesos ensayados para la obtención de azúcares fermentables a partir de cardo vegetativo (Cv) y cardo senescente (Cs), incluyendo las etapas de pretratamiento, hidrólisis enzimática y cuantificación de glucosa. A partir de la glucosa liberada se estimó posteriormente la producción teórica de etanol, sin realizar la etapa de fermentación alcohólica.

Figura 24: Procesos ensayados para la obtención de bioetanol a partir de Cardo vegetativo (Cs) y Cardo senescente (Cs). PTQ = Pretratamiento químico (ácido fosfórico al 80 %); PTB = Pretratamiento biológico (secretomas de Pycnoporus sanguineus)



(*) Biomasas molidas: Germen de trigo (Gt), Cardo vegtativo y senescente (Cv y Cs)

2.2.1. Pretratamientos (PT)

Se evaluaron dos estrategias de pretratamiento (químico y biológico) orientadas a la liberación de glucosa fermentable. La etapa de hidrólisis enzimática fue común para ambos PT (Figura 24). Para cada uno de los ensayos se incluyeron:

- Blancos: muestras no sometidas a pretratamiento ni a hidrólisis.
- Testigos: muestras sometidas únicamente a hidrólisis enzimática.

Los blancos permitieron determinar la concentración basal de glucosa, correspondiente a azúcares solubles preexistentes y/o a la señal basal del sistema analítico. Este valor se restó de las determinaciones de los tubos testigos y tratados para obtener la glucosa neta liberada. La glucosa neta determinada en los testigos se consideró representativa de la liberación producida por la hidrólisis enzimática en ausencia de pretratamiento. La contribución atribuible al pretratamiento se estimó como la diferencia entre la glucosa neta obtenida en los tubos tratados y la determinada en los testigos. A partir de estos valores se calculó la contribución relativa del pretratamiento y de la hidrólisis enzimática a la liberación total de glucosa para cada combinación de biomasa y tratamiento.

2.2.1.1.Pretratamiento químico con ácido fosfórico (H_3PO_4) (PTQ)

El pretratamiento se realizó mediante una adaptación del procedimiento descrito por Larran et al. (2015) y utilizado posteriormente por Gauna et al. (2021). Muestras de 15 mg de las distintas biomasas, previamente molidas, se colocaron en tubos Eppendorf de 2 ml. A las muestras sometidas al PT se les agregaron 1000 µl de H_3PO_4 al 80 %, mientras que a los testigos y blancos se les adicionó el mismo volumen de agua destilada. Todos los ensayos se prepararon por triplicado.

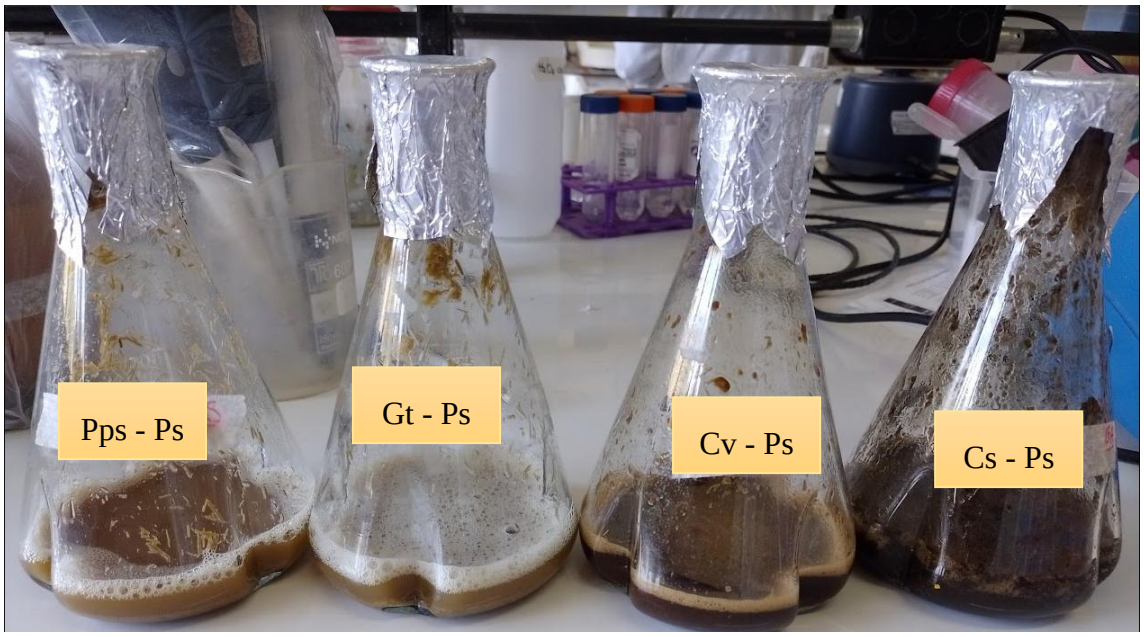
Los tubos fueron colocados en estufa a 70 °C durante 90 minutos. Posteriormente, se centrifugaron durante 2 minutos a 5000 rpm y se eliminó el sobrenadante. Se realizaron dos lavados con 1 ml de acetona, centrifugando a 10000 rpm durante 5 minutos y eliminando el sobrenadante entre cada lavado. Para eliminar la acetona, se realizaron dos lavados adicionales con 350 µl de agua destilada, centrifugando entre cada lavado.

2.2.1.2.Pretratamiento biológico con secretomas fúngicos

2.2.1.2.1. Obtención de secretomas

Se obtuvieron cuatro secretomas a partir del hongo *Pycnoporus sanguineus* cultivado en medios inductivos formulados con las diferentes fuentes de biomasa lignocelulósica germen de trigo (Gt), espartillar en estado senescente (Pps), cardo en estado vegetativo (Cv) y cardo en estado senescente (Cs). (Figura 25).

Figura 25: Medios inductivos obtenidos por el cultivo de Pycnoporus sanguineus (Ps) sobre diferentes biomasas. Biomasas utilizadas: espartillar senescente (Pps), Germen de trigo (Gt), Cardo en estado vegetativo (Cv) y senescente (Cs).



Cada medio inductivo fue preparado incorporando 3,5 mg de biomasa molida en un Erlenmeyer de 500 ml con 105 ml de solución buffer de acetato de sodio 100 mM (pH 6). Los medios fueron esterilizados en autoclave y, una vez enfriados, fueron inoculados con 1 cm^2 de micelio activo de *P. sanguineus*. Los cultivos se incubaron durante 14 días a 28 °C bajo agitación constante a 200 rpm. Al finalizar incubación, los cultivos fueron transferidos a tubos Falcon y centrifugados a 4 °C. El sobrenadante fue recolectado y diluido 1:10 en buffer de acetato de sodio 100 mM (pH 6), constituyendo la solución de trabajo.

2.2.1.2.2. Aplicación del pretratamiento

Para el pretratamiento biológico se colocaron 100 mg de cada biomasa molida (Pps, Cv y Cs), en Erlenmeyers de 50 ml, con 10 ml de solución de trabajo. Las muestras se incubaron a 28 °C durante 48 h, bajo agitación. Los testigos y blancos se prepararon de igual manera, utilizando secretomas previamente hervidos durante 20 minutos para su inactivación. Todos los ensayos se prepararon por triplicado. Se ensayaron tres pretratamientos biológicos:

- PTB1: secretoma de Ps obtenido a partir de germen de trigo.
- PTB2: secretoma de Ps obtenido a partir de cardo vegetativo.
- PTB3: secretoma de Ps obtenido a partir de cardo senescente.

2.2.1.2.3. Análisis de actividad enzimática

Las actividades enzimáticas de los secretomas fueron evaluadas mediante ensayos semicuantitativos en placa, siguiendo el protocolo de Manavalan et al. (2012) con modificaciones. Cada medio sólido se preparó con 1,8 % de agar (con H_2O_d) y el sustrato específico correspondiente según la actividad a estudiar. Cada medio se vertió en Placas de Petri y, una vez solidificado, se realizaron pocillos con una punta estéril, en los que se sembraron 100 µl de secretoma.

Se analizaron las siguientes enzimas clave involucradas en la descomposición de biomasa lignocelulósica:

- Actividad celulasa: se utilizó un medio sólido con 0,5 % de carboximetilcelulosa (CMC) como sustrato. Los secretomas fueron sembrados por siembra puntual en placas de Petri y se incubaron a 28 °C durante 16 - 18 h. Para visualizar la actividad, se tiñó la placa con una solución al 0,1 % de rojo congo en agitación a 50 rpm durante 20 minutos. Luego de descartar el excedente de rojo congo, se agregó cloruro de sodio 1 M y, después de 15 segundos, ácido acético al 0,5 %. Inmediatamente se limpió con agua fría. La presencia de halos claros contra un fondo rojo se consideró indicador positivo de actividad.
- Actividad xilanasa: se procedió de la misma manera que para la celulasa, a excepción del sustrato utilizado, el cual fue 0,5 % de xilano (X4252; Sigma-Aldrich). Transcurrido ese tiempo, las placas se tiñeron con una solución acuosa de azul de tripano al 0,4 % durante 30 minutos, y posteriormente se lavaron con

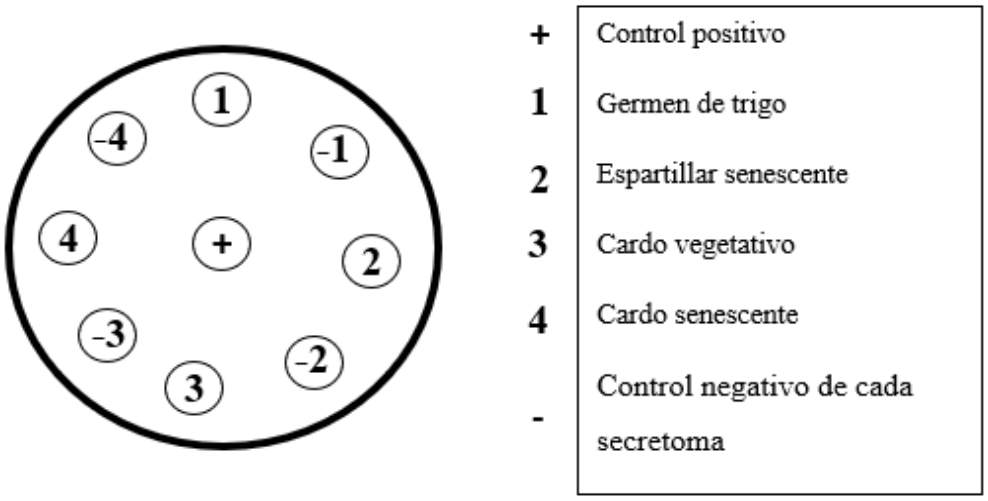
abundante agua destilada para eliminar el exceso de colorante. La degradación del xilano por acción de xilanasas se evidenció mediante la aparición de halos claros alrededor del crecimiento fúngico.

- Actividad manganeso peroxidasa (MnP): se utilizó un medio reactivo compuesto por 10 mM de dimetoxifenol (DMP), 5 mM de sulfato de manganeso ($MnSO_4$) y 10 mM de peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Los secretomas fúngicos fueron inoculados por siembra puntual sobre la superficie del medio y las placas se incubaron a 28 °C durante la noche. La formación de halos oscuros sobre un fondo claro se consideró evidencia de actividad MnP, como resultado de la oxidación del DMP catalizada por la enzima en presencia de Mn^{2+} y H_2O_2.
- Actividad lacasa: se procedió de la misma manera que para la MnP, a excepción del sustrato utilizado, el cual fue 1 mM de guayacol. La presencia de halos rojos se consideró indicador de actividad enzimática.
- Actividad lignina peroxidasa (LiP): se utilizó el mismo protocolo que para MnP, a diferencia del sustrato utilizado, el cual consistió en 10 mM dimetoxifenol (DMP) y 10 mM peróxido de hidrógeno. La actividad enzimática se evidenció a través de la formación de halos oscuros sobre un fondo claro.

Se incluyeron controles negativos (secretomas hervidos durante 20 minutos) y controles positivos con las enzimas comerciales.

En la Figura 26 se presenta el esquema del orden de colocación de los distintos secretomas en cada placa de Petri.

Figura 26: Esquema de colocación de los secretomas en la placa de Petri



2.2.2. Hidrólisis enzimática

Se preparó un coctel enzimático utilizando celulasa (1,4 U mg^{-1}), hemicelulasa (1,5 U mg^{-1}) y β-glucosidasa (6 U mg^{-1}), ajustando las cantidades para obtener igual número de unidades de cada una en 300 µl buffer de NaAc 100 mM (pH 6). El cóctel enzimático se adicionó a los Erlermeyers correspondientes a las muestras pretratadas y testigos, de manera que cada uno recibiera 3,2 U de cada enzima. A los "blancos" se les adicionó el mismo volumen de coctel previamente inactivado por ebullición durante 20 minutos. Todas las muestras se incubaron durante 48 hs a 50 °C y, posteriormente, se enfriaron para determinar la glucosa liberada.

2.2.3. Determinación de la glucosa liberada

Las muestras hidrolizadas fueron centrifugadas a 2000 rpm durante cinco minutos. Se tomaron alícuotas de 10 µl del sobrenadante, a las cuales se adicionaron 1,2 ml reactivo comercial Glicemia enzimática AA líquida (Wiener Lab, Rosario, Argentina). Las mezclas se incubaron durante 15 minutos a 37 °C, luego se midió la absorbancia a 505 nm en un lector de microplacas.

La concentración de glucosa se determinó a partir de una curva de calibración preparada con una solución patrón de glucosa 1 g L^{-1}. Los resultados, corregidos por los blancos, se expresaron en mg de glucosa mg^{-1} de biomasa. Para cada determinación se calculó la desviación estándar (σ) aplicando el método de corrección por grados de libertad ("n-1"), según la siguiente ecuación (Ec. 7):

Ecuación 7: Expresión para el cálculo de la desviación estándar (σ).

$$\sigma = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^{n}(xi - \mu)2}}{(n-1)}$$

Donde,

- σ es la desviación estándar.
- x es el valor de la muestra.
- µ es la media de la población.
- n es el número de réplicas.

2.2.4. Cálculo de la celulosa hidrolizada

El porcentaje de celulosa hidrolizada fue calculado mediante la siguiente ecuación (Ec.8):

Ecuación 8: Expresión para el cálculo del porcentaje de celulosa hidrolizada

$$\%\ celulosa = \left(\frac{mg\ de\ glucosa\ /\ g\ de\ biomasa * 0{,}9}{mg\ de\ celulosa\ /\ g\ de\ biomasa}\right) * 100$$

El factor 0,9 corrige la diferencia entre el peso molecular de la glucosa libre (180 Da) y la unidad glucosídica en la cadena de celulosa (162 Da). Se consideró despreciable el aporte de glucosa proveniente de la hidrólisis de hemicelulosa (Larran et al., 2015). El contenido de celulosa de ambas formas de biomasa de cardo fueron obtenidos a partir del análisis de la composición sumaria realizada por el INTA Rafaela, mientras que el valor de espartillar fue obtenido de Gauna (2017).

2.2.5. Cálculo del etanol potencial teórico

El etanol potencial teórico se estimó a partir de la cantidad de glucosa liberada en cada tratamiento, asumiendo una conversión estequiométrica completa según la reacción de fermentación alcohólica de glucosa (Ec. 9):

Ecuación 9: Reacción estequiométrica de la fermentación alcohólica de la glucosa utilizada para el cálculo del etanol potencial teórico.

$$C_6H_{12}O_6 = 2\ C_2H_5OH + 2\ CO_2$$

La cantidad de etanol potencial teórico, expresada como mg etanol g^{-1} biomasa seca, se calculó a partir de la glucosa liberada (mg g^{-1} biomasa) según la siguiente ecuación (Ec. 10):

Ecuación 10: Expresión para el cálculo del etanol potencial teórico (mg etanol g^{-1} biomasa).

$$mg\ etanol\ g^{-1}\ \text{biomasa} = \frac{mg\ glucosa}{180{,}153\ mg\ mmol^{-1}} * 2 * 46{,}07\ mg\ mmol^{-1}$$

Donde,

- mg glucosa es la cantidad de glucosa liberada por cada g de biomasa,
- 180,153 es el peso molecular de la glucosa,
- 2 corresponde al número de moles de etanol producidos por mol de glucosa y,
- 46,07 es el peso molecular del etanol.

Este cálculo corresponde a un rendimiento teórico máximo de conversión de glucosa a etanol bajo condiciones ideales, equivalente a 0,511 g de etanol por g de glucosa (Taherzadeh y Karimi, 2007).

2.2.6. Análisis estadísticos

Los datos fueron analizados estadísticamente utilizando el software RStudio (R Core Team, 2024). En primer lugar, se evaluaron los supuestos de normalidad (Shapiro y Wilk, 1965) y homogeneidad de varianzas (Barlett, 1937). Cuando se cumplieron dichos supuestos, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) seguido por la prueba de Tukey (Tukey, 1949) para la comparación múltiple de valores medios. En todos los casos, se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1.Análisis composicional de la biomasa

El contenido de fibras estructurales (expresado como porcentaje) en las paredes celulares de las diferentes biomasas analizadas se muestra en la Tabla 12. La biomasa de cardo en estado senescente (Cs) presentó mayores contenidos de celulosa (46,04 %) y lignina (11,08 %) en comparación con la biomasa en estado vegetativo (Cv), que registró valores de 35,10 % y 9,41 %, respectivamente. En contraste, el contenido de hemicelulosa fue relativamente similar en ambos estados fenológicos, aunque con una tendencia a valores más elevados en la biomasa vegetativa (19,31 %) respecto de la senescente (16,18 %). Por su parte, la biomasa de espartillar en estado senescente presentó un contenido de celulosa inferior al observado en el cardo senescente (33,06 %) pero comparable al del cardo en estado vegetativo. En cambio, mostró el mayor contenido de hemicelulosa (35,45 %) y el menor contenido de lignina (6,28 %) en comparación con ambas biomasas de cardo.

Tabla 12: Composición sumaria de las biomasas analizadas. Los datos correspondientes a la biomasa de espartillar fueron obtenidos de Gauna et al. (2017).

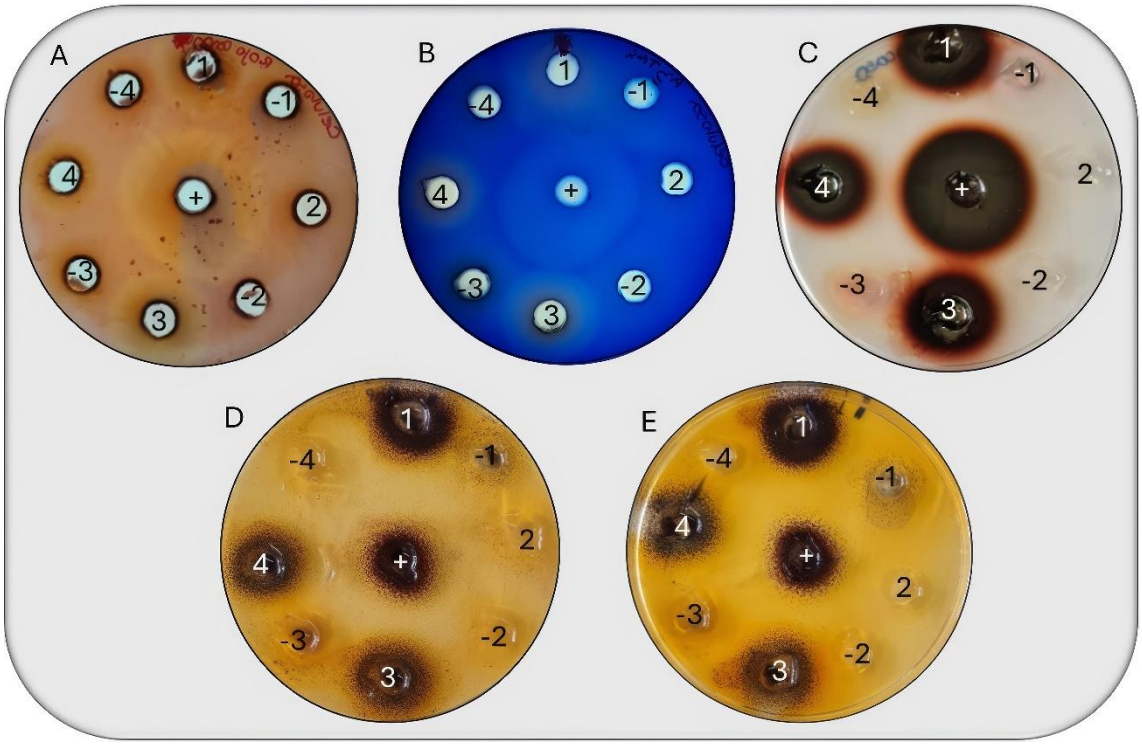
	Composición sumaria			
	% celulosa	*% hemicelulosa*	*% lignina*	*Total polisacáridos*
Cardo vegetativo	35,10	19,31	9,41	63,82
Cardo senescente	46,04	16,18	11,08	73,3

Espartillar senescente	33,06	35,45	6,28	74,79

3.2.Actividad enzimática

La actividad de las enzimas lignocelulolíticas extracelulares producidas por los secretomas fúngicos obtenidos a partir de *Pycnoporus sanguineus* cultivado en medios inductivos formulados con distintas biomasas (germen de trigo, espartillar, cardo en estado vegetativo y senescente) fue registrada tal como se observa en la Figura 27.

Figura 27: Actividad enzimática: A) Celulasa B) Xilanasa C) Lacasa D) Manganeso Peroxidasa y E) Lignina Peroxidasa. Secretomas de Pycnoporus sanguineus con: 1) Germen de trigo 2) Espartillar senescente 3) Cardo en estado vegetativo y 4) Cardo en estado senescente. (+) Control positivo (-) Controles negativos



En el ensayo de actividad celulasa (Figura 27 A), la hidrólisis de la carboximetilcelulosa (CMC) se evidenció por la formación de halos claros tras la tinción con rojo congo. Esta actividad se observó en el control positivo y en los tratamientos correspondientes a los extractos inducidos con germen de trigo (1), cardo en estado vegetativo (3) y cardo en estado senescente (4).

De manera similar, en el ensayo de actividad xilanasa (Figura 27 B), la formación de halos claros sobre el fondo teñido con azul de tripano indicó degradación de xilano, observándose actividad enzimática en los mismos extractos que en el ensayo de celulasa.

La actividad lacasa (Figura 27 c) fue confirmada mediante la aparición de halos de coloración oscura intensa, siendo más evidente en el control positivo y en los secretomas inducidos a partir de germen de trigo (1) y de cardo, tanto en estado vegetativo como senescente (3 y 4).

En el caso del manganeso peroxidasa (MnP) (Figura 27 D), se registraron halos color marrón oscuro indicativos de la oxidación de dimetoxifenol (DMP) en presencia de Mn^{2+} y H_2O_2. Esta actividad fue especialmente marcada en los extractos obtenidos a partir de germen de trigo y cardo, en ambos estados fenológicos, así como en el control positivo. Resultados similares se observaron en el ensayo de lignina peroxidasa (LiP) (Figura 27 E), donde la aparición de zonas intensamente coloreadas indicó actividad oxidativa de la enzima.

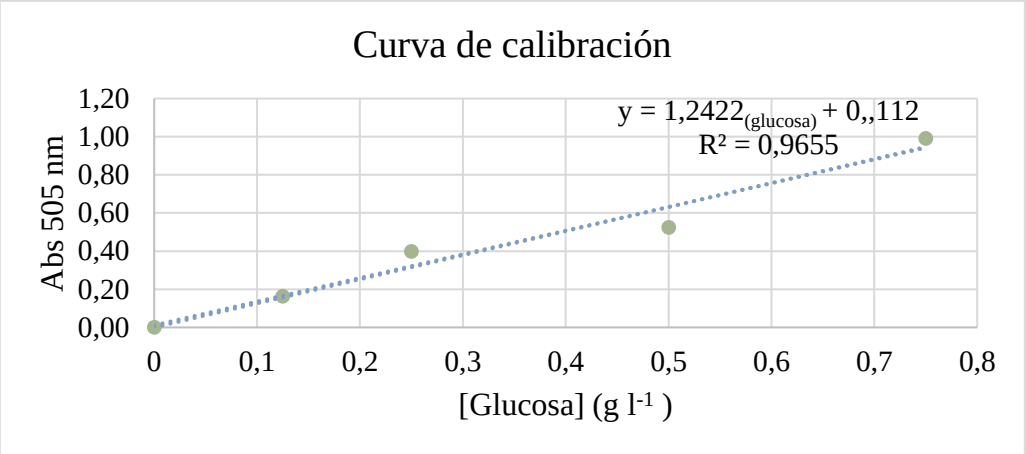
En ninguno de los ensayos se detectaron halos ni cambios de color en los controles negativos, validando la especificidad de las reacciones enzimáticas y descartando procesos no enzimáticos.

Espartillar no presentó actividad enzimática detectable; en consecuencia, el secretoma obtenido a partir de esta biomasa no fue considerado para su utilización como pretratamiento en el proceso de obtención de bioetanol.

3.3.Liberación de glucosa

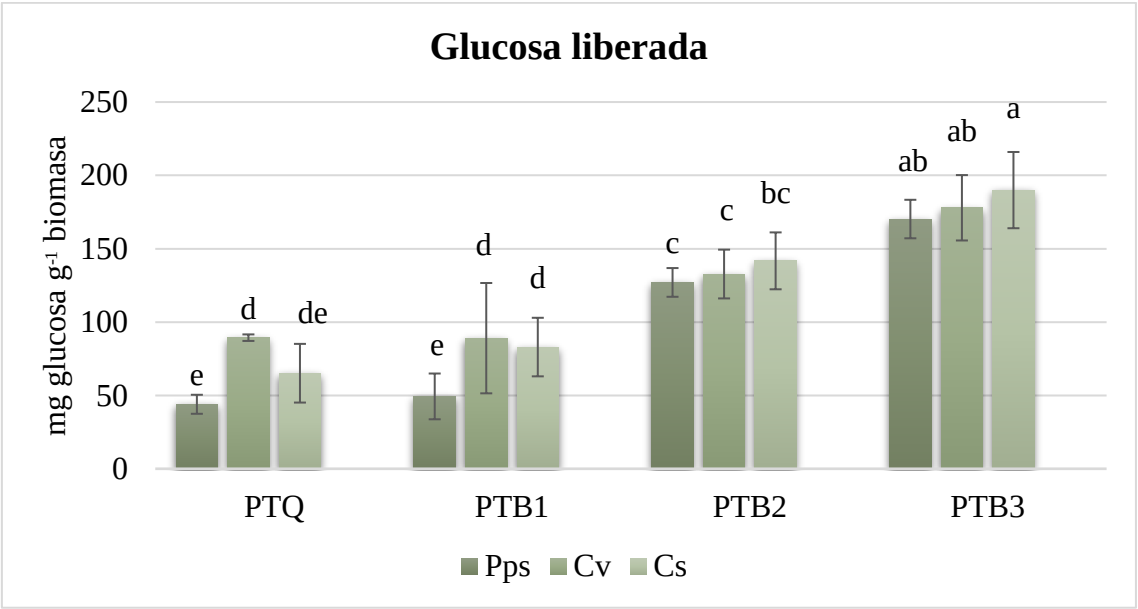
La cuantificación de la glucosa se realizó a partir de una curva de calibración (Figura 28), la cual mostró un ajuste lineal con un coeficiente de determinación elevado ($R^2 = 0,9655$).

Figura 28: Curva de calibración del pretratamiento químico (PTQ) y de los biológicos (PTB), variación de la absorbancia a 505 nm en función de la concentración de glucosa.



La Figura 29 muestra la cantidad de glucosa liberada, expresada en mg de glucosa por g de biomasa, para las tres biomasas analizadas: espartillar senescente (Pps), cardo vegetativo (Cv) y cardo senescente (Cs), sometidas a los diferentes pretratamientos: Químico (PTQ) y biológicos PTB1, PTB2 y PTB3.

Figura 29: Glucosa liberada luego de la hidrólisis enzimática, utilizando diferentes Pretratamientos (PT): químico (PTQ), biológico (PTB): 1: secretoma obtenido a partir de germen de trigo, 2: secretoma obtenido a partir de cardo vegetativo y 3: secretoma obtenido tenido a partir de cardo senescente. Biomasas: Pps: Espartillar senescente, Cv y Cs: Cardo en estado vegetativo y senescente, respectivamente



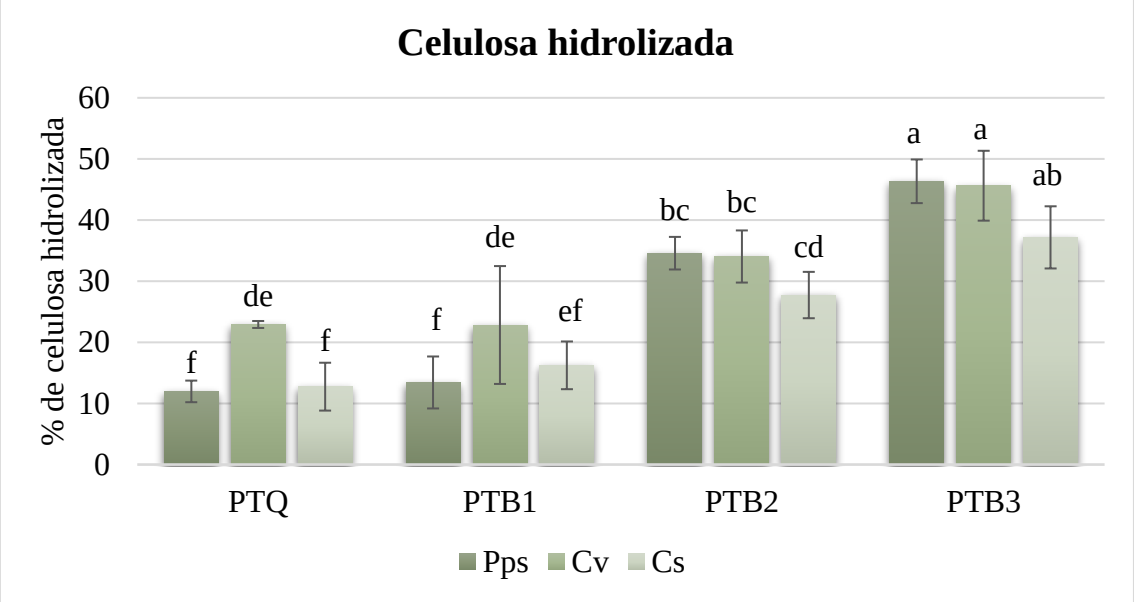
El pretratamiento PTB3 (tratamiento biológico con secretoma de Cs) presentó los valores más elevados de glucosa liberada en las tres biomasas evaluadas, con un valor promedio de 179 mg glucosa g^{-1} de biomasa. En segundo lugar, se ubicó PTB2, con un valor promedio de 134 mg de glucosa g^{-1} de biomasa, mostrando una liberación significativamente menor que PTB3 ($p < 0,05$) y significativamente mayor que PTQ y PTB1, los cuales no difirieron entre sí y conformaron el grupo de menor eficiencia, obteniendo valores promedios de 66 y 74 mg glucosa g^{-1} de biomasa respectivamente.

Asimismo, dentro de cada pretratamiento no se observaron diferencias significativas entre biomasas, a excepción de Pps en PTQ y PTB1, donde se observaron los menores valores (44 y 49 mg glucosa g^{-1} de biomasa, respectivamente).

3.4.Celulosa hidrolizada

A partir de los valores de glucosa liberada se calculó el porcentaje de celulosa hidrolizada durante el proceso global para cada tipo de biomasa y pretratamiento analizados. En los cálculos se consideró exclusivamente el aporte de glucosa derivada de la hidrólisis de la celulosa, asumiendo que la contribución proveniente de la hidrólisis de la hemicelulosa resulta despreciable. Los resultados se presentan en la Figura 30.

Figura 30: Celulosa hidrolizada, utilizando diferentes PT (Pretratamientos): químico (PTQ), biológico (PTB): 1: secretoma obtenido a partir de germen de trigo, 2: secretoma obtenido a partir de cardo vegetativo y 3: secretoma obtenido a partir de cardo senescente. Biomasas: Pps: Espartillar senescente, Cv y Cs: Cardo en estado vegetativo y senescente, respectivamente



El porcentaje de celulosa hidrolizada varió tanto en función del pretratamiento como del tipo de biomasa.

En el pretratamiento químico (PTQ), Cv presentó el mayor valor (23 %), mientras que Pps y Cs mostraron porcentajes considerablemente menores (12 % y 13 %, respectivamente).

En PTB1, el comportamiento fue similar al observado en PTQ para Cv (23 %), mientras que Pps y Cs registraron valores de 13 % y 16 %, respectivamente.

Un aumento diferencial se observó en PTB2, donde Pps y Cv alcanzaron valores comparables (35 % y 34 %, respectivamente), mientras que Cs presentó un valor levemente inferior (28 %), aunque estadísticamente esta diferencia no resultó significativa.

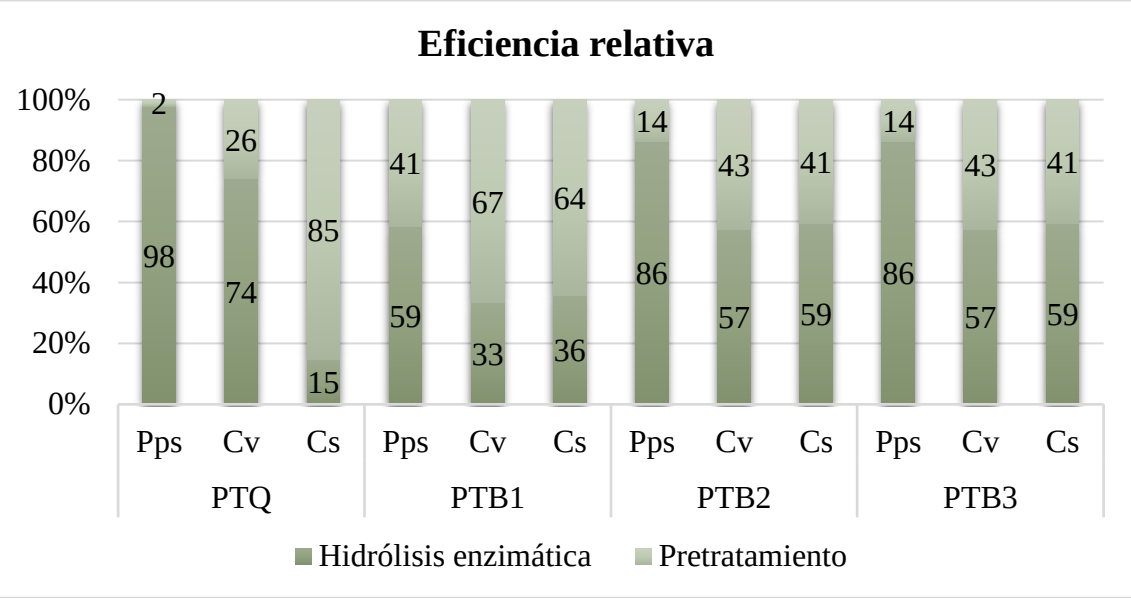
El mayor porcentaje de celulosa hidrolizada se obtuvo con PTB3, con valores promedio de 43 % de celulosa hidrolizada.

En conjunto, los resultados muestran una mejora en la hidrólisis de la celulosa al pasar del tratamiento químico a los tratamientos biológicos, siendo PTB3 el que alcanzó la mayor eficiencia en las tres biomasas evaluadas.

3.5.Eficiencia relativa de las etapas del proceso

En la Figura 31 se presenta la eficiencia relativa de las dos etapas del proceso de conversión (pretratamiento e hidrólisis enzimática) en la liberación de glucosa, expresada como porcentaje del total obtenido para cada combinación de biomasa y tratamiento.

Figura 31: Eficiencia relativa de las dos etapas del proceso de conversión: pretratamiento e hidrólisis enzimática, en la liberación de glucosa. PT (Pretratamientos): químico (PTQ), biológico (PTB): 1: secretoma obtenido a partir de germen de trigo, 2: secretoma obtenido a partir de cardo vegetativo y 3: secretoma obtenido a partir de cardo senescente. Biomasas: Pps: Espartillar senescente, Cv y Cs: Cardo en estado vegetativo y senescente, respectivamente



En el tratamiento químico (PTQ), la mayor contribución correspondió a la hidrólisis enzimática, representando el 98 % en espartillar (Pps), el 74 % en cardo vegetativo (Cv), a excepción del cardo senescente (Cs), donde el paso de pretratamiento mostró el mayor aporte (85%).

En los tratamientos biológicos se observaron diferencias según el tipo de secretoma. En PTB1, la hidrólisis enzimática representó el 59 % en Pps, el 33 % en Cv y el 36 % en Cs, evidenciando una mayor dependencia de la etapa hidrolítica en Pps, mientras que en Cv y Cs el pretratamiento tuvo una contribución relativa mayor.

Tanto en PTB2 como en PTB3 se observó la misma tendencia: la hidrólisis enzimática fue predominante en Pps (86 %), mientras que en ambos tejidos de cardo representó en

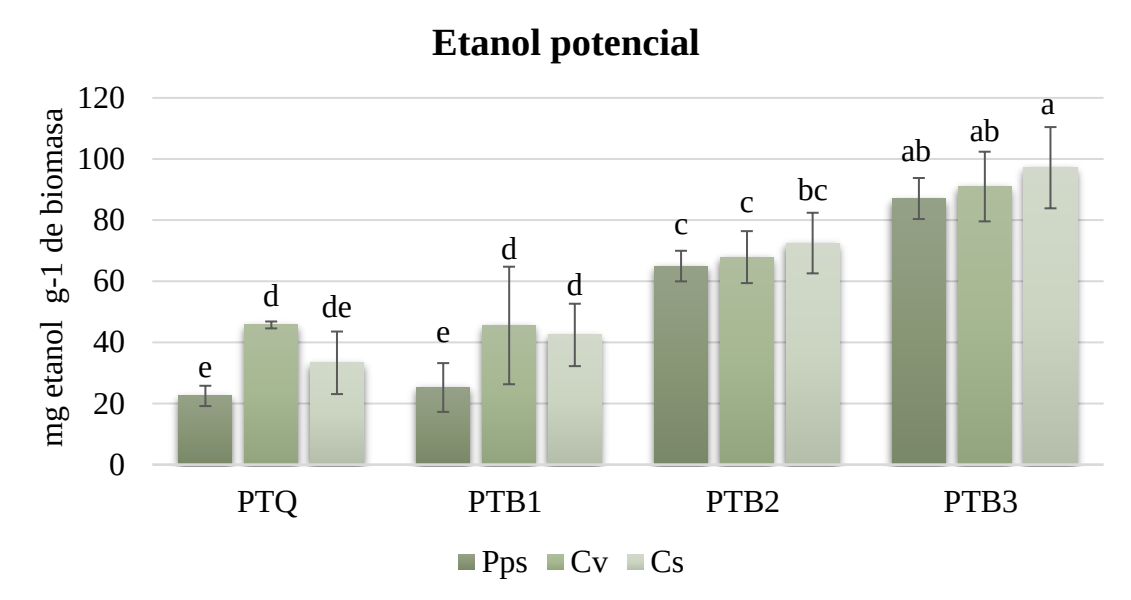
promedio el 58 % de la glucosa liberada, mostrando una contribución más equilibrada de ambas etapas.

En términos generales, la hidrólisis enzimática constituyó la etapa de mayor contribución relativa en la mayoría de las combinaciones evaluadas, aunque su aporte varió según la biomasa y el tipo de pretratamiento aplicado.

3.6.Etanol potencial teórico

En la Figura 32 se muestra el rendimiento teórico máximo en etanol calculado a partir de la glucosa liberada en cada tratamiento.

Figura 32: Etanol potencial calculado según glucosa liberada luego de la hidrólisis enzimática, utilizando diferentes PT (Pretratamientos): químico (PTQ), biológico (PTB): 1: secretoma obtenido a partir de germen de trigo, 2: secretoma obtenido a partir de cardo vegetativo y 3 secretoma obtenido a partir de cardo senescente. Biomasas Pps: Espartillar senescente, Cv y Cs: Cardo en estado vegetativo y senescente, respectivamente



Dado que se trata de un cálculo teórico basado en la cantidad de glucosa liberada por gramo de biomasa en cada pretratamiento (PT), el patrón observado para el etanol potencial fue consistente con el registrado para la liberación de glucosa, reflejando valores superiores en los pretratamientos biológicos donde se utilizó cardo como medio inductivo, particularmente en PTB3, donde el rendimiento promedio fue de 92 mg de etanol g^{-1} de biomasa, lo que equivale a 0,116 L kg^{-1} de biomasa.

4. DISCUSIÓN

La aptitud de la biomasa de cardo para la producción de bioetanol de segunda generación depende, en gran medida, de su composición estructural y de la eficiencia de las etapas de pretratamiento e hidrólisis. En particular, la proporción de celulosa, hemicelulosa y lignina condiciona la accesibilidad de los polisacáridos y, por lo tanto, la liberación posterior de azúcares fermentables. En este sentido, la caracterización de la biomasa constituye un punto de partida necesario para interpretar la respuesta a los distintos pretratamientos evaluados y su potencial de conversión. Los resultados de la composición sumaria obtenidos para el cardo en estado vegetativo y senescente mostraron contenidos de celulosa de 35,10 y 46,04 %, de hemicelulosa de 19,31 y 16,18 %, y de lignina de 9,41 y 11,08 %, respectivamente. Los valores de Cs obtenidos en el presente estudio son consistentes con los reportados por Mancini et al. (2023) quienes evaluaron la composición química de la biomasa de distintas accesiones de cardo implantadas en la misma área de estudio que la presente tesis, y registraron valores promedio de 20,09 %, 44 % y 10,5 % para hemicelulosa, celulosa y lignina, respectivamente, lo que indica que es una característica que se mantiene relativamente constante en *Cynara cardunculus* var. *altilis*. Este perfil composicional de la biomasa, caracterizado por un elevado contenido de polisacáridos estructurales y una proporción moderada de lignina, junto con la abundancia estacional del cultivo y su rusticidad agronómica, refuerza el potencial del cardo como materia prima lignocelulósica para la producción de etanol 2G en el sur de Santa Fe, Argentina.

El análisis de la actividad enzimática extracelular de los secretomas obtenidos a partir del cultivo de *Pycnoporus sanguineus* en medios inductivos preparados con diferentes materiales vegetales (espartillar senescente, cardo vegetativo, cardo senescente y germen de trigo) permitió evaluar la capacidad inductora de cada sustrato sobre la producción de enzimas ligninolíticas. El secretoma derivado del crecimiento en espartillar no presentó actividad enzimática detectable, lo que sugiere una baja capacidad inductora de este sustrato. En contraste, los medios formulados con cardo (Cv y Cs) y germen de trigo (Gt) promovieron la producción de enzimas clave como lacasas y peroxidasas, en concordancia con estudios previos que señalan que la naturaleza del sustrato lignocelulósico influye significativamente en el perfil enzimático secretado por hongos de pudrición blanca (Elisashvili et al., 2008, 2009).

Sobre esta base, los pretratamientos biológicos evaluados en este trabajo se realizaron utilizando exclusivamente secretomas producidos en presencia de Gt (PTB1), Cv (PTB2) y Cs (PTB3), dado que estos sustratos demostraron poseer un perfil enzimático potencialmente efectivo para la degradación de la lignina y la modificación de la matriz vegetal. La selección del sustrato inductor se reconoce como un factor clave en el diseño de estrategias biotecnológicas de pretratamiento, ya que influye en la síntesis y actividad de enzimas lignocelulolíticas necesarias para la conversión de biomasa lignocelulósica. Diferentes fuentes de inductor, incluidos residuos agroindustriales, pueden modular la producción de celulasas y hemicelulasas en hongos basidiomicetos, lo cual repercute directamente sobre la eficiencia de la bioconversión (Datsomor et al., 2022; Zhang et al., 2024). Estos resultados refuerzan la importancia de diseñar pretratamientos biológicos basados en la adaptación metabólica del microorganismo al sustrato objetivo, más que en el uso de inductores genéricos.

El pretratamiento de biomasa lignocelulósica es reconocido como una de las etapas más críticas y costosas en la cadena de conversión a bioetanol de segunda generación, debido a la compleja estructura de la lignocelulosa y a su impacto directo sobre la eficiencia de la hidrólisis y la fermentación. Diversos estudios señalan que este paso representa una fracción significativa del costo total del proceso y que su optimización, mediante tecnologías más eficientes y ambientalmente sustentables, es un aspecto clave para mejorar la competitividad económica del bioetanol lignocelulósico (Kumar et al., 2025b; Woźniak et al., 2025).

En este trabajo se evaluaron cuatro estrategias de pretratamiento: un pretratamiento químico basado en ácido fosfórico concentrado (80 %), y tres pretratamientos biológicos basados en secretomas de *P. sanguineus* obtenidos en distintos medios inductivos. En todos los casos, los tratamientos se realizaron a temperaturas moderadas, combinando efectos físicos (molienda) y químicos o biológicos que favorecieron la desestructuración parcial de la matriz lignocelulósica. El pretratamiento químico resultó ser, junto con PTB1, el menos eficiente en términos de liberación de glucosa, alcanzando valores promedio de 44, 89 y 65 mg g^{-1} de biomasa para espartillo senescente, cardo vegetativo y cardo senescente, respectivamente. En particular, en *P. prionitis* senescente, la contribución del PTQ representó solo el 2 % de la glucosa total liberada, equivalente a aproximadamente 0,9 mg g^{-1} de biomasa. Esta baja liberación de glucosa durante el pretratamiento coincide con lo observado por Gauna (2017) para biomasa senescente de

la misma especie. No obstante, la comparación debe interpretarse considerando las diferencias en las condiciones experimentales: en dicho antecedente, el tratamiento con ácido fosfórico se realizó a 50 °C durante 45 minutos, mientras que en el presente trabajo se aplicó a 70 °C durante 90 minutos. En ambos casos, la mayor parte de la glucosa se liberó durante la posterior hidrólisis enzimática. Esta contribución directa limitada del pretratamiento no implica necesariamente un escaso efecto sobre la accesibilidad de los polisacáridos a las enzimas hidrolíticas. Por otra parte, se han informado respuestas superiores utilizando ácido fosfórico concentrado bajo condiciones térmicas moderadas.

Siripong et al. (2016), empleando H_3PO_4 al 70 - 80 % a 60 °C durante 60 min, obtuvieron conversiones de celulosa a glucosa superiores al 80 %, mientras que Kim y Mazza (2008), utilizando H_3PO_4 al 86,2 % a 50 °C, informaron una elevada digestibilidad enzimática de la biomasa tratada. Estas diferencias ponen de manifiesto que la respuesta al pretratamiento con ácido fosfórico depende no solo de la concentración y de las condiciones de tratamiento, sino también de las características estructurales de la biomasa. En contraste, bajo condiciones de tratamiento considerablemente más severas, Ballesteros et al. (2008) reportaron valores cercanos a 300 mg glucosa g^{-1} biomasa de cardo utilizando ácido sulfúrico al 0,2 % a 200 °C. Asimismo, tratamientos térmicos, sin adición de ácido, realizados a 160 °C, permitieron superar los 100 mg glucosa g^{-1} biomasa. En conjunto, estos antecedentes indican que la eficiencia del pretratamiento químico depende fuertemente de la biomasa y de la severidad de las condiciones empleadas, por lo que los menores valores obtenidos en este estudio no pueden atribuirse exclusivamente al tipo de ácido utilizado. No obstante, su inclusión resultó relevante como referencia comparativa frente a las estrategias biológicas evaluadas, las cuales presentan un menor impacto ambiental y un mayor potencial de sostenibilidad.

En relación con los pretratamientos biológicos, se observaron diferencias en función del sustrato utilizado para inducir la producción del secretoma. PTB3, obtenido a partir de cultivos inducidos con cardo senescente, presentó la mayor liberación de glucosa (179 mg glucosa g^{-1} biomasa), seguido por PTB2 (obtenido a partir de cardo vegetativo) con un valor promedio de 134 mg glucosa g^{-1} biomasa, mientras que PTB1, inducido con germen de trigo, mostró los valores más bajos de rendimiento, comparables con el pretratamiento químico (66 y 74 mg glucosa g^{-1} de biomasa respectivamente). Estos resultados no se correlacionaron directamente con los niveles globales de actividad enzimática determinados previamente. Aunque la producción de lacasas fue similar entre

los secretomas derivados de cardo y de germen de trigo, y la actividad de MnP y LiP fue incluso ligeramente superior en este último, PTB1 resultó el PTB menos eficiente. Esto sugiere que la eficacia del pretratamiento no depende únicamente de la actividad total medida *in vitro*, sino de la composición específica del secretoma y de la sinergia funcional entre sus enzimas. Diversos estudios han señalado que la efectividad de los sistemas ligninolíticos de hongos de pudrición blanca en la mejora de la hidrólisis está asociada a la proporción relativa e interacción de lacasas y peroxidasas, así como a la regulación del secretoma en función del sustrato inductivo (Isroi et al., 2011; Fan et al., 2025). En este contexto, el secretoma inducido con cardo senescente podría presentar un perfil enzimático más adecuado para la desestructuración de la biomasa evaluada, favoreciendo una mayor liberación de glucosa. En conjunto, los resultados sugieren que la eficiencia del pretratamiento biológico está asociada a la compatibilidad funcional del sistema enzimático con el sustrato evaluado, y no únicamente al nivel absoluto de actividad ligninolítica.

Con el objetivo de profundizar en los mecanismos responsables de las diferencias observadas entre tratamientos, se analizó la contribución relativa del pretratamiento y de la hidrólisis enzimática a la liberación total de glucosa. Los resultados evidencian que la participación de cada etapa dependió tanto del tipo de biomasa como de la estrategia de pretratamiento aplicada. En los tratamientos PTQ, PTB2 y PTB3, la hidrólisis enzimática constituyó la principal fuente de liberación de glucosa, particularmente en espartillar, donde su contribución superó el 80 %. En contraste, el tratamiento PTB1 mostró una mayor contribución relativa del pretratamiento en todas las biomasas evaluadas, alcanzando valores superiores al 60 % en cardo vegetativo y senescente, lo que sugiere una desestructuración inicial más efectiva de la matriz lignocelulósica. En conjunto, estos resultados indican que la eficiencia global del proceso no depende exclusivamente de una única etapa, sino del balance entre el efecto del pretratamiento y la posterior hidrólisis enzimática (Fan et al., 2025). La contribución relativa de cada etapa varió en función del tipo de biomasa y del pretratamiento aplicado, lo que sugiere que la respuesta del material está fuertemente condicionada por la organización estructural de su pared celular. En este sentido, los distintos comportamientos observados entre los tratamientos químicos y biológicos reflejan mecanismos de acción diferentes, que influyen de manera específica sobre la accesibilidad enzimática y, en consecuencia, sobre la eficiencia de conversión (Baksi et al., 2023; Basera et al., 2024; Putro et al., 2025).

El porcentaje de celulosa hidrolizada constituye un indicador integrador de la accesibilidad de la fracción celulósica y de la eficiencia de las etapas de pretratamiento e hidrólisis enzimática. Las diferencias observadas en este parámetro no se explican exclusivamente por el contenido cuantitativo de lignina, como se describió en el párrafo anterior. Aunque el espartillar presentó la menor proporción de este componente, no alcanzó de manera consistente los mayores niveles de hidrólisis de celulosa. Su elevado contenido relativo de hemicelulosa (35,5 %) podría influir en la organización de la matriz lignocelulósica y en su respuesta diferencial frente a los distintos pretratamientos (Baksi et al., 2023; Basera et al., 2024; Putro et al., 2025). Por su parte, el cardo senescente, a pesar de presentar el mayor contenido de celulosa (46,04 %), no alcanzó los mayores niveles de conversión, incluso bajo el tratamiento PTB3. Si bien este contenido sugiere un elevado potencial teórico, su mayor proporción de lignina (11,08 %) podría constituir una barrera estructural adicional, limitando la accesibilidad de la fracción celulósica y afectando la eficiencia global del proceso.

Finalmente, el cálculo del etanol potencial teórico evidenció el potencial de la biomasa de cardo como materia prima para la producción de bioetanol. Bajo un rendimiento estimado de 18 t ha^{-1} de biomasa seca y una conversión teórica de 116 L de etanol por tonelada de biomasa, el cardo senescente permitiría alcanzar aproximadamente 2000 L ha^{-1}. Como referencia, sistemas consolidados de producción de bioetanol a partir de maíz y caña de azúcar presentan productividades del orden de 3500 - 4000 y 6000 - 8000 L ha^{-1}, respectivamente (Otto et al., 2022; Marques et al., 2024). Si bien estos valores corresponden a materias primas y procesos de conversión diferentes y, por lo tanto, no son directamente comparables con la estimación teórica realizada para cardo, permiten contextualizar su potencial productivo por unidad de superficie. En este sentido, aunque el rendimiento teórico estimado para cardo es inferior al de estos cultivos energéticos consolidados, su valor resulta relevante en esquemas de valorización integral del cultivo, donde la fracción lignocelulósica se destina a la producción de bioetanol y la semilla a biodiésel, favoreciendo sistemas agroenergéticos más diversificados y potencialmente más sustentables.

5. CONCLUSIONES

La eficiencia en la liberación de glucosa a partir de biomasa lignocelulósica está vinculada tanto a su composición química como al tipo de pretratamiento aplicado.

Los pretratamientos biológicos (PTB2 y PTB3) demostraron una mayor eficiencia global que el pretratamiento químico evaluado, posicionándose, además, como una alternativa más sustentable al requerir menores insumos energéticos y evitar la generación de subproductos tóxicos.

Entre los pretratamientos biológicos evaluados, el tratamiento PTB3, basado en secretomas de *Pycnoporus sanguineus* inducidos con cardo senescente, presentó la mayor eficiencia en la liberación de glucosa, seguido de PTB2, obtenido a partir de cardo vegetativo, evidenciando la capacidad de este hongo para secretar sistemas enzimáticos eficientes para la desestructuración de la matriz lignocelulósica. En particular, el cardo se comportó como un inductor eficaz de la actividad ligninolítica fúngica, resaltando el valor del uso de materiales vegetales locales en estrategias de pretratamientos biológicos.

El cardo senescente presentó los mayores valores absolutos de glucosa liberada por unidad de biomasa, aunque con una menor eficiencia relativa de conversión de celulosa a glucosa, posiblemente asociado a su mayor contenido de lignina y/o a una estructura más recalcitrante. No obstante, su elevada productividad de biomasa y su disponibilidad estacional lo convierten en una materia prima promisoria, con un margen significativo de mejora mediante la optimización de los pretratamientos.

CAPÍTULO 4: BIODIÉSEL

1. INTRODUCCIÓN

1.1.El biodiésel

El biodiésel es un biocombustible renovable y biodegradable obtenido principalmente a partir de aceites vegetales o grasas animales, que se presenta como una alternativa sostenible al gasoil de origen fósil (Knothe et al., 2005; Demirbas, 2009). El interés por la producción y utilización de biodiésel ha aumentado de manera sostenida en las últimas décadas, impulsado por factores ambientales, energéticos y socioeconómicos, así como por la necesidad de reducir la dependencia de combustibles fósiles y las emisiones de gases de efecto invernadero. Esta tendencia está asociada a la diversificación de materias primas, el desarrollo tecnológico en procesos de producción y la adopción de políticas públicas que promueven biocombustibles como parte de la matriz energética sostenible (Kumar et al., 2025a; OCDE-FAO, 2025).

Desde el punto de vista ambiental, el uso de biodiésel de origen vegetal contribuye a reducir las emisiones netas de dióxido de carbono, dado que su producción se basa en materias primas renovables cuyo ciclo de vida implica la captura de CO_2 durante el crecimiento de la biomasa (Saranya y Ramachandra, 2020; Aljaafari et al., 2022; Xu et al., 2022). Asimismo, diversos estudios han demostrado que su combustión reduce las emisiones de material particulado, monóxido de carbono e hidrocarburos no quemados en comparación con el gasoil de origen fósil, aunque puede producir un incremento de las emisiones de óxidos de nitrógeno en ciertos tipos de motores (Knothe et al., 2005).

En el plano energético, el biodiésel favorece la diversificación de la matriz energética y reduce la dependencia de los combustibles fósiles, lo que adquiere relevancia estratégica en un contexto de volatilidad de precios del petróleo y de creciente preocupación por la seguridad energética (Demirbas, 2009). Además, su producción local fomenta el desarrollo rural y la valorización de cultivos oleaginosos, generando un impacto positivo en las economías regionales (Meher et al., 2006).

El desarrollo del sector ha estado fuertemente condicionado por los marcos regulatorios y las políticas de incentivo. En regiones como la Unión Europea, Estados Unidos, Brasil y Argentina, la implementación de mandatos de corte obligatorio de biodiésel en el gasoil ha sido determinante para su inserción en el mercado (IEA, 2020). Estas regulaciones se

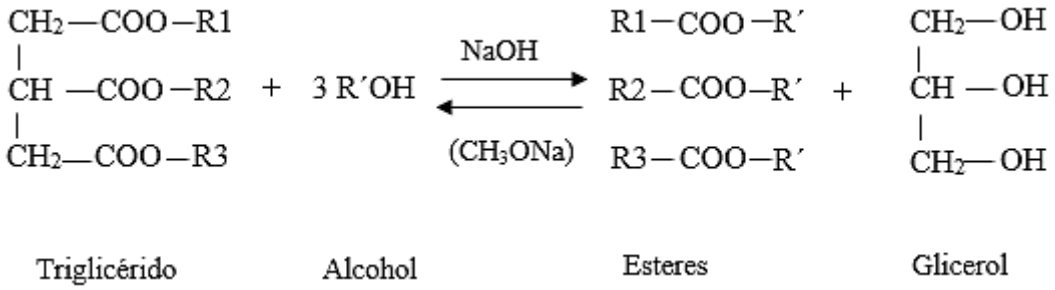
sustentan en especificaciones técnicas normalizadas, tales como las normas EN 14214 (2012) y ASTM D6751 (2020), que establecen criterios de calidad y aseguran la compatibilidad del biocombustible con los motores diésel convencionales (Knothe et al., 2005).

En los últimos años, la producción de biodiésel en Argentina se ha consolidado como un sector importante dentro de la bioenergía, con una importante infraestructura industrial basada en aceite de soja como insumo principal, y coloca al país entre los productores más relevantes de este biocombustible a nivel mundial (de Souza et al., 2022; USDA, 2025).

1.2.Proceso de obtención de biodiésel

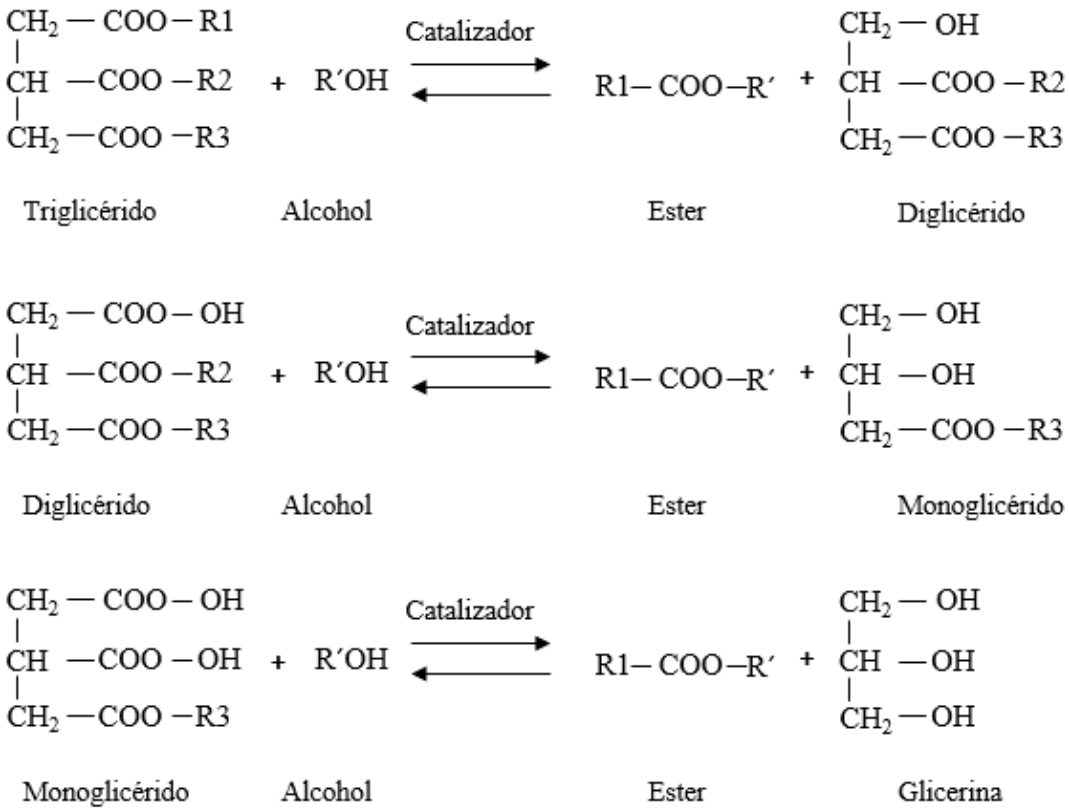
La vía más utilizada para la obtención de biodiésel es la transesterificación (Ecuación 11). Se trata de una reacción química reversible en la cual un triglicérido (principal componente de los aceites y grasas) reacciona con un alcohol de cadena corta en presencia de un catalizador, dando lugar a la formación de ésteres monoalquílicos de ácidos grasos (biodiésel) y glicerol como subproducto (Ma y Hanna, 1999; Fukuda et al., 2001).

Ecuación 11: Reacción de transesterificación de los triglicéridos.



Durante la reacción, los tres grupos éster del triglicérido son convertidos progresivamente mediante un mecanismo de intercambio alcohólico, en el cual los radicales alquilo del alcohol reemplazan a la glicerina del triglicérido (Ecuación 12).

Ecuación 12: Reacciones de transesterificación de los glicéridos con alcoholes de cadena corta.



El equilibrio de la reacción depende de variables como la relación molar alcohol: aceite, la temperatura, la concentración del catalizador y el grado de pureza de los reactivos. En condiciones adecuadas, el proceso permite alcanzar conversiones superiores al 98 %, obteniéndose un combustible cuyas propiedades cumplen con las normas de calidad internacionales (EN 14214, 2012; ASTM D6751, 2020).

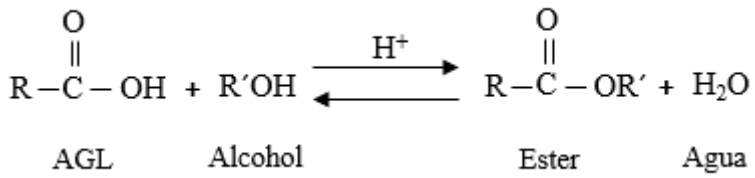
1.2.1. Materias primas:

Prácticamente cualquier aceite vegetal o grasa animal puede ser utilizado como materia prima para la producción de biodiésel. Sin embargo, los aceites de soja, palma y colza son los más más empleados a escala industrial, debido a su amplia disponibilidad (según la región), elevado rendimiento y propiedades fisicoquímicas favorables.

La composición química del aceite vegetal utilizado tiene una influencia decisiva sobre las características del biodiésel obtenido, ya que el perfil de ácidos grasos determina propiedades clave como el índice de cetano, la estabilidad oxidativa, la viscosidad cinemática y el comportamiento en bajas temperaturas del combustible (Knothe et al., 2005; Meher et al., 2006). Por ejemplo, aceites con un alto contenido de ácidos grasos

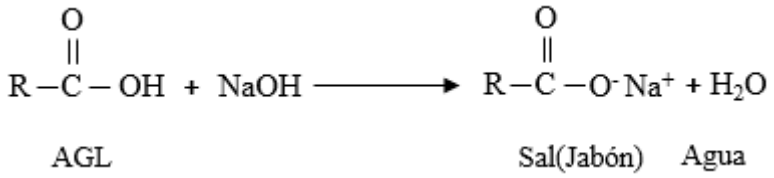
insaturados, como el de soja, generan biodiésel con buena fluidez a bajas temperaturas, pero menor estabilidad oxidativa. En cambio, aceites con predominio de ácidos grasos saturados, como el de palma, confieren una mayor estabilidad oxidativa, aunque con un peor comportamiento a bajas temperaturas (Knothe et al., 2005). En general, las materias primas más adecuadas para la producción de biodiésel presentan un perfil lipídico con predominio de ácidos grasos monoinsaturados (como el ácido oleico) y proporciones moderadas de poliinsaturados (como el ácido linoleico), lo que permite equilibrar estabilidad oxidativa y buen comportamiento bajas temperaturas (Knothe et al., 2005; Atabani et al., 2012). Asimismo, es importante que el aceite presente bajos niveles de ácidos grasos libres (AGL), humedad e impurezas, ya que estos factores interfieren en la reacción de transesterificación, incrementan el consumo de catalizador y afectan la calidad final del combustible (Ma y Hanna, 1999; Meher et al., 2006). El contenido de AGL, condiciona la viabilidad técnica y económica del proceso. Materias primas de bajo costo, como aceites usados o grasas animales, suelen presentar niveles elevados de acidez (> 5 %), lo que hace necesario un tratamiento previo para reducir la misma antes de la transesterificación. Una acidez elevada puede inducir a la formación de jabones, lo que resulta indeseable ya que consume parcialmente el catalizador, dificulta las etapas de separación y purificación del biodiésel, y disminuye el rendimiento del proceso (Canakci y Van Gerpen, 2001; Leung et al., 2010; Mandari y Devarai, 2022). Para materias primas con elevada acidez se recomienda recurrir a una etapa previa de esterificación ácida (Ecuación 11) que convierte los AGL en ésteres y permite reducir la acidez a valores inferiores al 2 %, o idealmente al 1 % (Canakci y Van Gerpen, 2001; Min Oo et al., 2021).

Ecuación 11: Reacción de esterificación de los ácidos grasos libres (AGL)



Cuando la acidez es intermedia (2 - 5 % AGL), puede aplicarse una neutralización química (Ecuación 14), que implica una pérdida parcial de materia prima, pero evita etapas adicionales cuando el contenido de AGL no justifica un pretratamiento por esterificación (Pisarello, 2010).

Ecuación 12: Reacción de neutralización química de los ácidos grasos libres (AGL)



Por el contrario, aceites con baja acidez (< 2 % AGL), como los aceites crudos de soja o colza, pueden someterse directamente a la transesterificación básica, alcanzando conversiones elevadas y altos rendimientos. En suma, la selección y el acondicionamiento de la materia prima constituyen una etapa crítica que define la viabilidad técnica y económica del proceso.

En este marco, *Cynara cardunculus* var. *altilis* (cardo) se presenta como una materia prima prometedora para la producción de biodiésel a partir del aceite extraído de sus frutos oleaginosos (aquenios). Estudios previos reportan contenidos lipídicos entre el 25 y el 33 % del peso seco del fruto dependiendo del genotipo (Curt et al., 2002; Fernández et al., 2006; Angelini et al., 2009), con un perfil de ácidos grasos similar al del aceite de girasol. Este aceite se caracteriza por una alta proporción de ácido linoleico (C18:2) y ácido oleico (C18:1), seguidos en menor medida por ácidos grasos saturados como el palmítico (C16:0) y el esteárico (C18:0), composición que confiere al aceite un equilibrio favorable entre estabilidad oxidativa y comportamiento en bajas temperaturas, lo que lo hace técnicamente viable para la conversión a biodiésel de calidad conforme a las especificaciones internacionales (Maccarone et al., 1999; Curt et al., 2002; Fernández et al., 2006; Morero et al., 2015).

Desde el punto de vista agronómico, el cardo es un cultivo perenne y rústico, adaptado a condiciones ambientales limitantes y capaz de desarrollarse en suelos marginales, con bajos requerimientos hídricos y de insumos como fertilizantes y agroquímicos. Estas características permiten su implantación en sistemas productivos de bajo impacto, reduciendo los costos de cultivo y la huella ambiental asociada a la obtención de la materia prima (Fernández et al., 2006; Angelini et al., 2009).

Dada la relevancia creciente del biodiésel como alternativa sostenible frente a los combustibles fósiles, el aceite de cardo surge como una opción estratégica para diversificar las fuentes de materia prima y avanzar hacia modelos productivos de mayor sustentabilidad. No obstante, su aprovechamiento eficiente requiere profundizar en el

conocimiento de los factores que determinan la calidad del aceite y su comportamiento durante el proceso de transesterificación. En particular resulta esencial comprender cómo el contenido total de lípidos y el perfil de ácidos grasos inciden en la conversión de ésteres alquílicos y en las propiedades finales del biodiésel obtenido.

1.2.2. Insumos

1.2.2.1.Alcoholes

El metanol es el alcohol más utilizado en la producción industrial de biodiésel, debido principalmente a su bajo costo, elevada reactividad y buena miscibilidad con los aceites, lo que favorece la formación de ésteres metílicos (Ma y Hanna, 1999; Demirbas, 2009). Sin embargo, el etanol constituye una alternativa atractiva, especialmente en contextos donde existe disponibilidad local de bioetanol derivado de biomasa.

El uso de etanol permite incrementar la sustentabilidad del proceso, reducir la dependencia de insumos fósiles (Fukuda et al., 2001) y mejorar la seguridad ambiental y ocupacional, dado que presenta menor toxicidad que el uso de metanol. Los ésteres etílicos obtenidos son más biodegradables y generan menores emisiones de material particulado y gases de efecto invernadero (como CO_2 y NO_2) (Makareviciene y Janulis, 2003; Boehman, 2005). También presentan propiedades superiores de combustión, con mayor número de cetano, mayor poder calorífico (Clark et al., 1984) y mejor comportamiento en frío (puntos de obstrucción de filtro, de niebla y de escurrimiento más bajos) (Encinar et al., 2007). Sin embargo, el proceso de transesterificación con etanol plantea ciertos desafíos técnicos: la reacción tiende a generar una mayor cantidad de jabones y emulsiones (Eze et al., 2015; Khan et al., 2023) por lo que generalmente requiere procesos en dos etapas para alcanzar conversiones elevadas y cumplir con los estándares de calidad exigidos (Mendow et al., 2011, 2012; Guzatto et al., 2012; Thoai et al., 2019). Por tanto, la elección entre metanol y etanol depende de factores como la disponibilidad local, el costo, el tipo de materia prima, las condiciones operativas y los objetivos de sostenibilidad del sistema productivo.

1.2.2.2.Catalizadores

El uso de catalizadores es esencial para acelerar la reacción y alcanzar conversiones adecuadas en tiempos de operación razonables. Estos pueden clasificarse según su naturaleza química en homogéneos (solubles en la fase líquida de reacción) y

heterogéneos (insolubles, sólidos o soportados). Los catalizadores homogéneos básicos, como hidróxidos o alcóxidos de sodio y potasio, son los más empleados en la industria debido a su elevada eficiencia, bajo costo y simplicidad operativa (Ma & Hanna, 1999; Meher et al., 2006).

1.3.Purificación, lavado y secado del biodiésel

Finalizada la reacción de transesterificación, el sistema se somete a un proceso de separación de fases por decantación, en la que se obtienen dos fracciones principales: la fase éster metílico o etílico (biodiésel) y la fase glicerina. La fase glicerina, debido a su mayor polaridad, concentra la mayor parte del alcohol residual, jabones formados durante la reacción, catalizador (habitualmente, NaOH o KOH) y otras impurezas, además de contener la glicerina como componente mayoritario (Van Gerpen, 2004; Knothe et al., 2005). La fase biodiésel, aunque está constituida principalmente por ésteres de ácidos grasos, puede contener en menor proporción metanol, glicerina disuelta, trazas de catalizador, jabones, así como mono-, di- y triglicéridos no reaccionados (Ma y Hanna, 1999; Atadashi et al., 2011). Además, puede presentar residuos de metales alcalinos (Na, K) provenientes de los catalizadores utilizados (Linglin et al., 2023) y metales pesados (Fe, Cu, Ni) que pueden incorporarse por el desgaste de equipos o impurezas en las materias primas (Martin et al., 2017). La presencia de estas impurezas no solo reduce la calidad del biodiésel, sino que también puede generar problemas operativos en los motores, tales como obstrucción de filtros, formación de depósitos y disminución del rendimiento del sistema de inyección (Zhang et al., 2020). Asimismo, estas impurezas pueden acelerar la degradación del combustible durante el almacenamiento, comprometiendo su estabilidad y vida útil. Desde una perspectiva de seguridad, la presencia de metales alcalinos (Na, K) y metales pesados (Fe, Cu, Ni) representa un riesgo adicional para las operaciones de manipulación y almacenamiento (Almeida et al., 2011; Matbouei et al., 2021). Los metales alcalinos pueden reaccionar con ácidos grasos libres formando jabones y depósitos**,** mientras que los metales pesados actúan como catalizadores de reacciones oxidativas**,** promoviendo la formación de ácidos, peróxidos y compuestos poliméricos. La acumulación de estos productos incrementa la corrosividad del biodiésel, afectando la integridad de tanques, tuberías, bombas e inyectores, y aumentando la probabilidad de fugas, fallas mecánicas o paradas no programadas. En conjunto, los metales de transición y los metales alcalinos aceleran la pérdida de estabilidad del biodiésel y deterioran la infraestructura asociada a su manejo, lo que

justifica los límites estrictos establecidos por las normas internacionales para garantizar la seguridad operativa y la durabilidad de los sistemas de almacenamiento y combustión**.** Por su parte, un contenido elevado de glicerol libre o total, así como de mono, di y triglicéridos residuales, puede provocar la formación de depósitos en inyectores, la obstrucción de filtros y la acumulación de sedimentos en tanques de almacenamiento (Maruf y Haryono, 2019). Por ello, para cumplir con las especificaciones de calidad establecidas por normas nacionales (IRAM 6515-1, 2006) e internacionales (EN 14214, 2012; ASTM D6751, 2020), es necesario implementar etapas de purificación posteriores a la reacción.

Dichas etapas suelen incluir operaciones de evaporación para eliminar el alcohol residual y extracción líquido - líquido mediante lavado con agua o soluciones acuosas para remover jabones y catalizador. Finalmente, el biodiésel debe secarse para reducir el contenido de humedad del biodiésel a niveles aceptables (< 0,05 % m/m), ya que la presencia de humedad afecta negativamente la calidad y estabilidad del combustible. El secado puede realizarse por evaporación al vacío, burbujeo de aire caliente, uso de sales desecantes o resinas de intercambio iónico (Van Gerpen, 2004; Atadashi et al., 2011; Bateni et al., 2017).

La secuencia y la tecnología empleada en el proceso de purificación dependen en gran medida de la escala de producción y de las condiciones operativas de la planta. En procesos industriales de gran escala se emplean frecuentemente métodos de purificación seca (*dry washing*) que utilizan adsorbentes sólidos como resinas o magnesol, lo cual evita la generación de efluentes líquidos. En cambio, en plantas de menor escala, el lavado acuoso continúa siendo la opción más utilizada debido a su simplicidad y bajo costo (Atadashi et al., 2011).

1.4.Control de calidad del biodiésel

Para que el biodiésel pueda ser comercializado y utilizado de manera segura como combustible en motores de combustión interna, es imprescindible que cumpla con los requisitos técnicos establecidos por organismos internacionales de normalización y certificación. Dichos requisitos buscan garantizar que el producto final posea las propiedades fisicoquímicas adecuadas para asegurar un rendimiento óptimo, una operación segura del motor y el cumplimiento de las normativas ambientales vigentes. Entre los organismos de referencia a nivel internacional se destacan la Comisión Europea

de Normalización (CEN) y la Sociedad Americana para Ensayos de Materiales (ASTM, por sus siglas en inglés). La CEN es responsable de la elaboración de la norma EN 14214 (2012), que establece las especificaciones de calidad del biodiésel comercializado en los países de la Unión Europea, mientras que la ASTM ha desarrollado la ASTM D6751 (2020), adoptada en Estados Unidos y en otros países con adaptaciones locales. Ambas normas establecen un conjunto de parámetros físico-químicos críticos que el biodiésel debe cumplir, como la viscosidad, el contenido de ésteres, el punto de inflamación y la estabilidad a la oxidación, así como los métodos normalizados de análisis que permiten verificar conformidad del producto.

En Argentina, el organismo responsable de la elaboración y control de las normas de calidad es el Instituto Argentino de Normalización y Certificación (IRAM). Este organismo ha establecido la norma IRAM 6515-1 (2006), que fija los requisitos técnicos y métodos de ensayo aplicables al biodiésel compuesto por ésteres alquílicos de ácidos grasos de origen vegetal, destinado a ser utilizado tanto en estado puro (B100) como en mezclas con gasoil en motores diésel.

La norma IRAM contempla un conjunto de parámetros que incluyen:

- Propiedades físicas: densidad, viscosidad cinemática, punto de inflamación
- Propiedades químicas: índice de acidez, contenido de ésteres, índice de yodo, contenido de fósforo y metales
- Propiedades desempeño: punto de enturbiamiento, punto de obstrucción de filtro en frío, estabilidad a la oxidación y poder calorífico.

Asimismo, la norma especifica los métodos normalizados para la determinación de cada uno de estos parámetros, muchos de los cuales remiten a normas internacionales (ASTM, EN o ISO) adaptadas a las particularidades de la producción nacional.

El cumplimiento de la norma IRAM 6515-1 (2006) no solo asegura que el biodiésel producido en Argentina cumpla con los estándares mínimos de calidad requeridos para su comercialización interna, sino que también facilita la compatibilidad del producto con las exigencias de otros mercados, favoreciendo la exportación y la integración en cadenas internacionales de suministro.

Considerando lo expuesto acerca del potencial del cardo como materia prima para la producción de biodiésel, en el presente capítulo se plantean los siguientes objetivos:

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Optimizar un protocolo de obtención de biodiésel a partir del aceite de cardo en función de sus características fisicoquímicas.

Evaluar la calidad del biodiésel producido en el marco de las normas nacionales e internacionales vigentes.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Obtención del aceite y determinación de sus características fisicoquímicas

Las semillas de cardo cosechadas en el ensayo descripto en el Capítulo 1 fueron almacenadas en bolsas de polietileno en cámara refrigerada a 5 °C hasta su utilización. Luego de seis meses de almacenamiento, se obtuvieron al azar tres muestras de 500 g cada una, las cuales se emplearon para la obtención de aceite.

La extracción de aceite se realizó a través del método Soxhlet (Figura 33) utilizando hexano como solvente. Previamente, las semillas fueron limpiadas manualmente para remover impurezas (restos vegetales, tierra y semillas dañadas) y posteriormente tamizadas para eliminar material fino. Luego fueron molidas hasta obtener un tamaño de partícula homogéneo. Las semillas se colocaron sobre una capa de algodón, dentro del cuerpo extractor, conectado a un matraz de fondo redondo conteniendo el solvente (10 ml g^{-1} semilla) y a un condensador refrigerado por circulación de agua. El sistema se mantuvo en reflujo continuo durante 6 h.

El proceso de extracción se basó en la recirculación del solvente: los vapores de hexano ascendieron al condensador, se licuaron y percolaron a través de la muestra, solubilizando los compuestos lipídicos. Una vez alcanzado el nivel del sifón, la fase extractiva retornó al matraz, repitiéndose el ciclo de forma automática. Finalizada la extracción, el solvente fue eliminado por evaporación a presión reducida mediante rotavapor, obteniéndose el aceite crudo de semillas de cardo. El rendimiento de extracción se expresó como porcentaje de aceite respecto a la masa seca inicial de cada muestra (% p/p).

Figura 33: Extracción del aceite (método Soxhlet) y recuperación del solvente (hexano)



El perfil de ácidos grasos del aceite se determinó mediante cromatografía gaseosa (Anexo I), conforme a la norma IRAM 5651 (2009). Posteriormente, se determinaron, por triplicado, las siguientes propiedades fisicoquímicas del aceite:

2.1.1. Densidad

La densidad se determinó por el método densimétrico (ASTM D1298, 2014; IRAM 5504, 2014), utilizando un densímetro de vidrio calibrado (rango 0,800 a 1,000 g cm^{-3}). Las muestras se colocaron en probetas de vidrio y se estabilizaron térmicamente en un baño termostatizado a 15 °C. Posteriormente se introdujo el densímetro en la muestra líquida (Figura 34) evitando la formación de burbujas y asegurando que flotara libremente sin

tocar las paredes del recipiente. La lectura se realizó sobre la escala del densímetro, observando el valor correspondiente al menisco.

Figura 34: determinación de la densidad de la muestra.

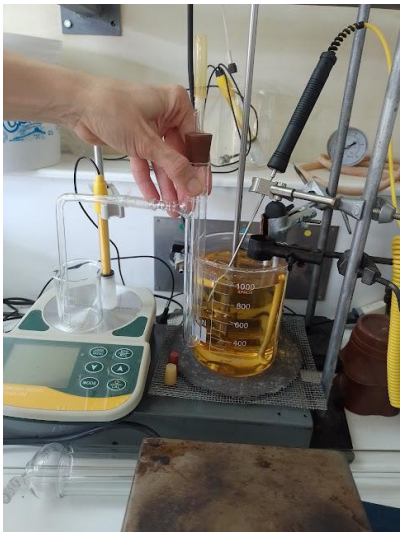


2.1.2. Viscosidad cinemática

La viscosidad cinemática (mm^2 s^{-1}) se determinó de acuerdo con la norma ASTM D445/D446 (2016) utilizando un viscosímetro capilar.

Las muestras se introdujeron en el viscosímetro (Figura 35) y se estabilizaron térmicamente a 40 °C durante 10 min en baño termostático. Se midió el tiempo de flujo del aceite entre dos marcas del viscosímetro utilizando un cronómetro digital.

Figura 35: determinación de la viscosidad.



La viscosidad cinemática se calculó como el producto del tiempo de flujo por la constante del viscosímetro.

2.1.3. Índice de yodo

El índice de yodo se determinó según la norma IRAM 5515 (2018), mediante el método de Wijs. Se trabajó con muestras de aceite de 0,20 g, disueltas en 10 ml de cloroformo, a las cuales se adicionaron 25 ml de reactivo de Wijs (solución de monocloruro de yodo, ICl, en ácido acético glacial). La mezcla se dejó reaccionar durante 30 minutos en oscuridad. Luego, se adicionaron solución de yoduro de potasio y agua, y se tituló el yodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N hasta la decoloración, utilizando almidón como indicador. Los resultados se expresaron como gramos de yodo absorbido por 100 gramos de muestra (g I_2 100 g^{-1}).

2.1.4. Acidez

La acidez libre se determinó según la norma IRAM 5512 (1988), mediante titulación ácido-base, expresándose los resultados como porcentaje de ácido oleico (g de ácido oleico 100 g^{-1} de aceite). Se pesaron 5 g de aceite, a los cuales se agregaron 50 ml de etanol y unas gotas de fenolftaleína como indicador. La titulación se realizó con una solución de KOH 0,1 N, agitando constantemente hasta la aparición de una coloración rosada persistente durante, al menos, 30 segundos. El porcentaje de acidez se calculó mediante la siguiente ecuación (Ec. 15):

Ecuación 15: Expresión para el cálculo de acidez expresado en porcentaje (%).

$$Acidez\ (\%): \frac{V.N.28{,}2}{m}$$

Donde;

- V es el volumen de KOH 0,1 N consumido en la titulación (ml)
- N es la normalidad de la solución de KOH (generalmente 0,1 N)
- 28,2 es un factor constante que resulta de la relación entre el peso equivalente del KOH y el peso molecular del ácido oleico.
- m es el peso de la muestra de aceite (g)

2.1.5. Material insaponificable

El contenido de material insaponificable se determinó según la norma IRAM 5517 (1988). Se saponificaron 5 g de aceite con solución alcohólica de hidróxido de potasio (KOH) bajo reflujo. Posteriormente, los compuestos no saponificables se extrajeron con éter etílico. Los extractos etéreos se lavaron, secaron y evaporaron hasta peso constante. El contenido de materia insaponificable se expresó como porcentaje en masa (% m/m).

2.1.6. Contenido de fósforo

El contenido de fósforo se cuantificó de acuerdo con la norma AOCS CA 12-55 (2009). Las muestras fueron incineradas en presencia de óxido de zinc a 550 °C y el residuo obtenido fue solubilizado en medio ácido. Posteriormente, se desarrolló el complejo coloreado mediante la adición de sulfato de hidracina y molibdato de sodio, y la absorbancia se determinó por espectrofotometría a 825 nm. La cuantificación se realizó mediante una curva de calibración preparada a partir de soluciones patrón de KH_2PO_4. Los resultados se expresaron en mg kg^{-1}. El procedimiento analítico completo se presenta en el Anexo I.

2.1.7. Estabilidad a la oxidación

La estabilidad a la oxidación se determinó mediante el método Rancimat (EN 14112, 2012). Se colocaron aproximadamente 3,0 g de biodiésel en el tubo de reacción y se sometieron a un flujo constante de aire de 10 L h^{-1} a 110 °C. Los productos de oxidación volátiles generados fueron llevados hacia un recipiente con 60 ml de agua destilada, donde se midió continuamente la conductividad. El tiempo de inducción se determinó automáticamente a partir del punto de inflexión de la curva de conductividad en función del tiempo y se expresó en horas.

2.1.8. Contenido de agua

El contenido de agua se determinó mediante valoración coulométrica Karl Fischer, conforme a la norma UNE-EN ISO 12937 (2000), Para ello, se inyectaron aproximadamente 10 - 20 mg de muestra en el titulador Karl Fischer, previamente estabilizado. El agua presente reacciona cuantitativamente con el reactivo Karl Fischer, determinándose el contenido a partir de la carga eléctrica consumida durante la reacción.

Cada determinación se realizó por triplicado y los resultados se expresaron en mg H_2O kg^{-1} de muestra.

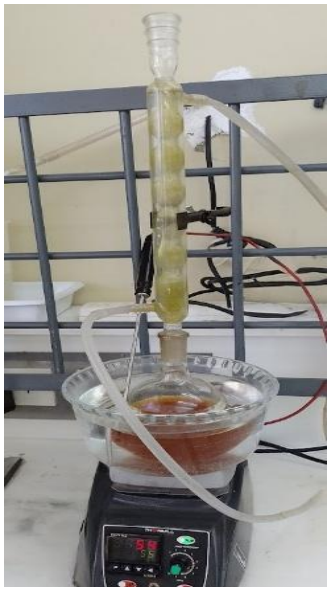
2.2.Reducción de acidez (neutralización)

Previo a la transesterificación, las muestras de aceite fueron sometidas a un tratamiento de reducción de acidez, siguiendo la metodología descripta por Pisarello (2010). Se adicionó una fase de glicerina alcalina en una proporción del 10 % v/v respecto al volumen de aceite. La mezcla se agitó durante 30 minutos a 60 °C para favorecer la neutralización de los ácidos grasos libres. Posteriormente, se dejó en reposo durante 30 minutos para permitir la separación de fases por decantación. La acidez residual se determinó según la norma IRAM 5512 (1988) a fin de evaluar la eficiencia del tratamiento.

2.3.Proceso de producción de biodiésel

El biodiésel se obtuvo mediante la reacción de transesterificación de los glicéridos presentes en el aceite con alcohol en presencia de un catalizador básico, metóxido de sodio (CH_3ONa). La reacción (Figura 36) se llevó a cabo en un reactor de vidrio tipo batch provisto de reflujo, sumergido en un baño de agua termostatizado a 60 °C y a presión atmosférica, utilizando agitación magnética a 1200 rpm.

Figura 36: sistema utilizado para la obtención de biodiésel.

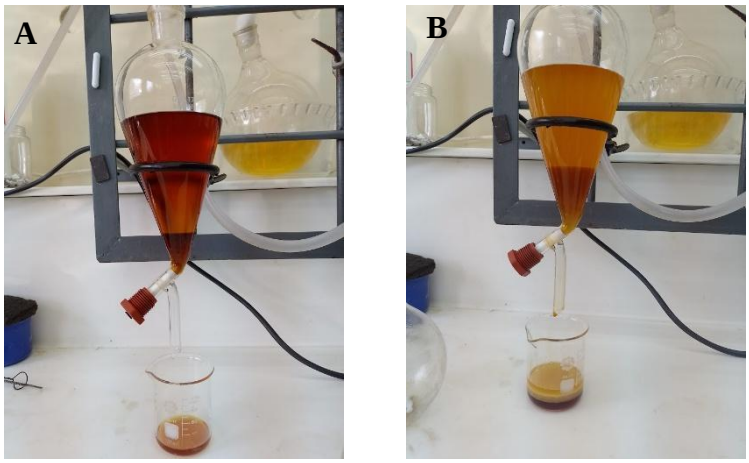


2.3.1. Obtención de ésteres etílicos

La obtención de los ésteres etílicos se realizó mediante una transesterificación alcalina en dos etapas, tomando como referencia el procedimiento descripto por Mendow et al. (2011), con modificaciones en las proporciones de reactivos y en las condiciones de reacción (Fig 37 a y b):

- Primera etapa: se adicionó etanol en una relación de 15 mL por cada 100 mL de aceite, junto con 0,55 g de una solución comercial de metóxido de sodio al 30 % (p/p) en metanol por cada 100 g de aceite. La mezcla se mantuvo a 55 °C con agitación constante durante 1 hora. Finalizada la reacción, se dejó decantar el sistema durante 30 minutos, separándose dos fases: una superior correspondiente al aceite parcialmente convertido y una inferior de glicerina.
- Segunda etapa: por cada 100 ml de aceite parcialmente convertido obtenido en la primera etapa, se añadieron 10 ml de etanol y 0,55 gr de solución de metóxido de sodio al 30 %. La reacción y decantación se realizaron bajo las mismas condiciones de la primera etapa. Tras la separación de fases se obtuvo biodiésel (superior) y glicerina (inferior).

Figura 37: Primera (A) y segunda (B) etapa de obtención de biodiésel utilizando etanol.



2.3.2. Obtención de ésteres metílicos

Para obtener ésteres metílicos, se adicionó metanol en una proporción del 25% v/v respecto al volumen de aceite, junto con 0,5 g de una solución comercial de metóxido de sodio al 30 % (p/p) en metanol por cada 100 g de aceite. La reacción se llevó a cabo

durante 2 h, a 60 °C, bajo agitación constante. Finalizado el proceso, el sistema se dejó decantar y se separaron las fases de biodiésel (superior) y glicerina (inferior).

2.4.Lavado y purificación del biodiésel

Independientemente del alcohol utilizado, el biodiésel obtenido se sometió a procesos de lavado y purificación con el objetivo de eliminar restos de catalizador, alcohol, glicerina y otras impurezas

- ***Lavado neutro:*** se realizó con agua neutra a 55 °C, utilizando un volumen equivalente al 10 % del volumen de aceite inicial. Tras la agitación y posterior decantación se separó la fase acuosa del biodiésel.
- ***Lavado ácido y secado:*** posteriormente, se realizaron dos lavados sucesivos: el primero con agua acidificada, utilizando un volumen equivalente al 30 % del volumen de aceite inicial, y el segundo con agua neutra. El biodiésel purificado se secó mediante flujo de N_2 inerte durante 10 min a 80 °C.
- ***Adsorción:*** finalmente, el biodiésel se hizo pasar a través de un lecho de adsorbente sólido (cascarilla de arroz), con el fin de eliminar trazas de impurezas residuales y mejorando su estabilidad. El producto final se almacenó en envases de vidrio color ámbar a temperatura ambiente hasta su caracterización fisicoquímica.

2.5.Análisis de la calidad del biodiésel

La calidad del biodiésel se evaluó de acuerdo con la norma IRAM 6515-1 (2006), la Resolución 689/2022 de la Secretaría de Energía y las normas internacionales ASTM D6751 (2020) y EN 14214 (2012). Los parámetros fisicoquímicos fueron determinados utilizando los métodos de ensayo correspondientes a cada propiedad (Tabla 13), de acuerdo con las normas específicas indicadas en cada caso.

Tabla 13: Parámetros, métodos de ensayo y límites de aceptación utilizados para evaluar la calidad del biodiésel obtenido, de acuerdo con la norma IRAM 6515-1 y la Resolución 089/2022 de la Secretaría de Energía.

Análisis	**Metodología**	**Límite**
Densidad, a 15ºC (gr ml^{-1})	ASTM D-1298	0,86 - 0,90
Viscosidad, a 40ºC (mm^2 s^{-1})	ASTM D-445	3,5 – 5
Índice Acidez (mg KOH g^{-1})	ASTM D 974	0,50
Glicerina Total (g 100 g^{-1})	ASTM D 6584	0,24
Glicerina Libre (g 100 g^{-1})	ASTM D 6584	0,02
Mono-glicéridos (g 100 g^{-1})	ASTM D 6584	0,80
Di-glicéridos (g 100 g^{-1})	ASTM D 6584	0,20
Tri-Glicéridos (g 100 g^{-1})	ASTM D 6584	0,20
Estabilidad oxidación 110 °C (hs)	EN 14112	> 6 h
Esteres totales (g 100 g^{-1})	EN 14103	> 96,5
Ester Linolénico (g 100 g^{-1})	EN 14103	< 12
Contaminación Total (mg kg^{-1})	EN12662	24
Punto de niebla (ºC)	ASTM D-2500	Informar
Agua (mg kg^{-1})	KARL FISCHER	500
Filtrabilidad de maceración en frio (seg)	ASTM D7501	360
Fósforo (ppm)	EN 14107	10
Punto inflamación (ºC)	ASTM D-93	> 120
Índice de Yodo (gI^2 100 g^{-1})	EN 14111	140

2.5.1. Densidad, viscosidad, estabilidad a la oxidación y contenido de agua

Estas propiedades se determinaron siguiendo la misma metodología aplicada a las muestras del aceite crudo, conforme a las normas IRAM y ASTM mencionadas anteriormente.

2.5.2. Índice de acidez

El índice de acidez se determinó siguiendo la norma ASTM D974 (2019), mediante titulación ácido-base. Se pesaron 20 g de biodiésel purificado, los cuales se disolvieron en una mezcla neutra de tolueno y etanol (2:1, v/v), agregándose unas gotas de

fenolftaleína como indicador. La titulación se realizó con KOH 0,1 N hasta la aparición de una coloración rosada persistente. El índice de acidez se calculó mediante la siguiente ecuación (Ec. 16):

Ecuación 16: Expresión para el cálculo del índice de acidez expresado en mg KOH g^{-1}

$$Índice\ de\ acidez\ (mg\ KOH/g) = \frac{V.N.56{,}1}{m}$$

Donde;

- V = volumen de KOH gastado (ml),
- N = normalidad de la solución de KOH,
- M = masa de la muestra (g),
- 56,1 = peso equivalente del KOH.

Los resultados se expresaron en mg de KOH por gramo de muestra.

2.5.3. Glicerina total y libre, mono-, di- y triglicéridos

El contenido de glicerina libre, así como de mono-, di- y triglicéridos, se determinó según la norma ASTM D658 (2019), mediante cromatografía gaseosa. El contenido de glicerina total se calculó mediante la siguiente ecuación (Ec. 17):

Ecuación 17: Expresión para el cálculo del contenido de glicerina total expresado en porcentaje (%).

$$GT = GL + (MG * 0{,}255) + (DG * 0{,}146) + (TG * 0{,}103)$$

Donde,

- GT: Contenido de glicerina total, expresada en % m/m
- GL: Contenido de glicerina libre, expresada en % m/m
- MG: Contenido de monoglicéridos, expresada en % m/m
- DG: Contenido de diglicéridos, expresada en % m/m
- TG: Contenido de triglicéridos, expresada en % m/m
- 0,255; 0,146 y 0,103: factores de conversión que representan la fracción del glicerol presente en cada tipo de glicérido. Se obtienen a partir de la relación entre el peso molecular del glicerol (92 g mol^{-1}) y el peso molecular promedio de los mono-. di- y triglicéridos típicos del biodiésel.

Las muestras fueron derivatizadas por sililación con piridina y N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida (MSTFA). Se utilizaron patrones internos: 1,2,4-butanotriol

para glicerina libre y 1,2,3-tricaprilglicerol para mono-, di- y triglicéridos. La cuantificación se realizó mediante curvas de calibración con estándares certificados, expresándose los resultados en % m/m.

2.5.4. Esteres totales y ácido linoleico

El contenido de ésteres totales y la composición de ácidos grasos, incluyendo el ácido linoleico (C18:2), se determinaron de acuerdo con la norma EN 14103 (2011) mediante cromatografía gaseosa con detector de ionización de llama (GC-FID), utilizando las condiciones cromatográficas establecidas en la norma EN ISO 5508 (2014). Las muestras se prepararon disolviendo aproximadamente 100 mg de biodiésel en 10 ml de n-heptano, adicionando 1,0 ml de una solución de heptadecanoato metílico (C17:0-Me) a 10 mg m^{-1} como estándar interno para la cuantificación de los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME, por sus siglas en inglés).

Para la determinación de ésteres etílicos de ácidos grasos (FAEE), se aplicaron las adaptaciones descriptas por Pisarello (2010), empleando heptadecanoato etílico (C17:0-Et) como estándar, junto con factores de corrección para compensar la diferente respuesta del detector entre ésteres metílicos y etílicos. La identificación de los compuestos se realizó por comparación con patrones certificados, bajo las mismas condiciones cromatográficas utilizadas para las muestras. La cuantificación se efectuó mediante la integración de las áreas de los picos cromatográficos, expresando los resultados como porcentaje en masa (% m/m).

2.5.5. Contaminación total

La contaminación total se determinó mediante filtración gravimétrica (ASTM D12662, 2014). Se utilizaron filtros de Nitrato de celulosa de 0,8 μm de diámetro (Marca: Microclar). Los filtros se secaron en estufa a 110 °C durante 30 minutos, se dejaron enfriar en desecador y se pesaron (peso inicial). Luego, se filtraron muestras de 100 ml de biodiésel mediante vacío. Posteriormente, los filtros fueron nuevamente secados en estufa y a pesados. El contenido de contaminación se calculó como la diferencia de masa del filtro antes y después de la filtración, y se expresó en mg kg^{-1}.

2.5.6. Punto de niebla:

El punto de niebla se determinó conforme a la norma ASTM D2500 (2023). Las muestras se calentaron a 40 °C hasta su completa homogenización y luego se enfriaron en un baño

de temperatura controlada, realizando controles por cada 1 °C de descenso de temperatura. La temperatura a la cual se observó visualmente el primer enturbiamiento se registró como “punto de niebla”.

2.5.7. Punto de inflamación

El punto de inflamación se determinó según la norma ASTM D93 (2020) utilizando el método Pensky-Martens en vaso cerrado. Se introdujeron 70 - 75 ml de muestra previamente homogenizada en el vaso de ensayo, el cual se cerró herméticamente e incorporó el termómetro interno del equipo. La muestra se calentó a una tasa controlada de aproximadamente 5 °C por minuto, con agitación continua, conforme a las condiciones especificadas para biodiésel. A intervalos regulares se aplicó la llama de prueba durante 1 segundo a través de la compuerta superior, hasta observar la ignición breve y momentánea de los vapores presentes en la cámara. La temperatura registrada en ese instante se tomó como punto de inflamación del biodiésel.

2.5.8. Filtrabilidad de maceración en frío

La filtrabilidad en frío se evaluó según la norma ASTM D7501 (2021). Las muestras de biodiésel (300 ml) se enfriaron durante 16 h a 4,5 ± 0,5 °C en un baño frío controlado, luego se dejaron volver a temperatura ambiente (~25 ± 1 °C) y se filtraron mediante vacío a través de un filtro de 0,7 µm. El tiempo de filtración se registró como indicador del comportamiento del biodiésel en condiciones de frío.

2.5.9. Contenido de fósforo

El contenido de fósforo del biodiésel se determinó mediante un método espectrofotométrico adaptado a partir del procedimiento empleado para la determinación de fósforo en aceites (AOCS Ca 12-55). La adaptación fue previamente evaluada para muestras de biodiésel, considerando el bajo contenido de fósforo esperado. Se pesaron aproximadamente 3,2 - 3,3 g de muestra y se adicionaron 0,5 g de ZnO, seguido de carbonización y calcinación en mufla a 550 °C durante 2 h. Las cenizas fueron solubilizadas con HCl y el extracto se llevó a un volumen final de 50 mL. Una alícuota de 10 mL se hizo reaccionar con sulfato de hidracina y molibdato de sodio para desarrollar el complejo coloreado, cuya absorbancia se determinó espectrofotométricamente a 825 nm. La concentración de fósforo se calculó mediante una curva de calibración preparada a partir de KH_2PO_4.

3. RESULTADOS

El contenido promedio de aceite obtenido a partir de las semillas de cardo fue del 20 ± 0,85 % del peso total de las semillas. Este valor permitió disponer de suficiente materia prima para la caracterización fisicoquímica del aceite y su posterior conversión a biodiésel.

El perfil de ácidos grasos del aceite de cardo se presenta en la Tabla 14, junto con los valores reportados para aceite de soja (Kinney y Clemente, 2005), con fines comparativos.

Tabla 14: Perfil de ácidos grasos del aceite de cardo y soja

Perfil de ácidos grasos		**% Cardo**	**% soja**
Ácido mirístico	C14:0	0,08	-
Ácido palmítico	C16:0	8,34	11,00
Ácido palmitoleico	C16:1	0,16	
Ácido esteárico	C18:0	3,27	4,00
Ácido oleico	C18:1	21,76	24,00
Ácido linoleico	C18:2	62,09	54,00
Ácido linolenico	C18:3	0,94	7,00
Ácido araquídico	C20:0	0,49	-
Ácido ecosenoico	C20:1	0,16	-
Otros		2,71	-

El aceite de cardo mostró un predominio de ácidos grasos insaturados, que representaron más del 85 % del total, mientras que los ácidos grasos saturados alcanzaron aproximadamente el 12 %, Dentro de la fracción insaturada, los ácidos grasos poliinsaturados (linoleico y linolenico) constituyeron una mayor proporción respecto a los monoinsaturados (ácido palmitoleico, oleico y el ecosenoico).

El ácido linoleico fue el componente mayoritario del aceite de cardo, seguido por el ácido oleico. En menor proporción se detectaron ácido linolénico y ácidos grasos monoinsaturados de cadena más larga, como el ácido ecosenoico. Entre los ácidos grasos saturados, el ácido palmítico fue el más abundante, seguido por el ácido esteárico, mientras que otros ácidos saturados tanto de cadena corta como larga se encontraron en proporciones minoritarias.

Las propiedades físico-químicas del aceite crudo de cardo se resumen en la Tabla 15. La densidad y la viscosidad cinemática determinadas a las temperaturas de referencia se ubicaron dentro de los rangos esperados para aceites vegetales. El índice de yodo reflejó un alto grado de insaturación, en concordancia con el perfil de ácidos grasos determinado por cromatografía gaseosa.

El contenido de ácidos grasos libres del aceite (acidez) resultó elevado para su utilización directa en procesos convencionales de transesterificación, por lo que fue necesario aplicar un tratamiento previo de neutralización, a fin de obtener valores inferiores al 2 %. Mediante este procedimiento se alcanzó un valor final de 0,37 g de ácido oleico por 100 g de aceite (0,37 % m/m). Asimismo, se determinaron los contenidos de material insaponificable, fósforo y agua del aceite crudo de cardo, junto con su estabilidad a la oxidación evaluada a 110 °C, cuyos valores se presentan en la Tabla 15. La determinación de estos parámetros resulta importante para evaluar la aptitud del aceite como materia prima para la producción de biodiésel, dado que pueden afectar la eficiencia de la transesterificación, la formación de jabones, el envenenamiento de catalizadores y la estabilidad del biocombustible obtenido, tal como se reporta en la bibliografía (Knothe et al., 2005).

Tabla 15: Propiedades físico-químicas analizadas sobre el aceite de cardo

Parámetros de calidad	**Valores**
Densidad, 15°C, (g ml^{-1})	0,91 ± 0,002
Viscosidad 40°C, ($mm^2\ s^{-1}$*)*	26,00 ± 1,000
Índice Yodo (g I_2 100 g^{-1})	123,33 ± 0,577
Acidez (gr ácido oleico 100 g^{-1})	4,03 ± 0,153
Material Insaponificable (g 100 g^{-1})	1,50 ± 0,200
Fósforo (mg kg^{-1})	192,00 ± 1,000
Estabilidad a la oxidación 110 °C (h)	7,07 ± 0,153
Agua, (mg kg^{-1})	446,33 ± 3,215

Valores expresados como media ± error estándar (n = 3)

En la Tabla 16 se muestran los resultados obtenidos para los diferentes parámetros de calidad evaluados en los biodiésel obtenidos a partir del aceite de cardo, tanto en forma

de ésteres etílicos como metílicos, junto con los límites establecidos por la norma IRAM 6515-1 (2006).

Tabla 16: Parámetros de calidad evaluados en ambos biodiéseles de cardo (etil y metil ester), los límites establecidos por IRAM 6515-1 (Resolución 689/2022. Secretaría de energía). Valores medios y desvíos estándar de ambos biodiesel para cada parámetro analizado

Análisis	**Límites**	**Etil ésteres**	**Metil ésteres**
Densidad, a 15ºC (g ml^{-1})	0,86-0,90	0,888±0,003	0,884±0,005
Viscosidad, a 40ºC (mm^2 s^{-1})	3,5-5	4,033±0,058	4,200±0,100
Índice Acidez (mg KOH g^{-1})	< 0,5	0,167±0,058	0,133±0,058
Glicerina Total (g 100 g^{-1})	< 0,24	0,187±0,006	0,191±0,007
Glicerina Libre (g 100 g^{-1})	< 0,02	0,005±0,001	0,008±0,001
Mono-glicéridos (g 100 g^{-1})	< 0,80	0,643±0,021	0,583±0,012
Di-glicéridos (g 100 g^{-1})	< 0,20	0,117±0,006	0,140±0,010
Tri-Glicéridos (g 100 g^{-1})	< 0,20	0,057±0,006	0,090±0,010
Estabilidad oxidación 110°C (hs)	> 6	6,767±0,404	7,033±0,058
Esteres totales (g 100 g^{-1})	> 96,5	98,367±0,115	98,50±0,058
Ester linolénico (g 100 g^{-1})	< 12	1,252±0,009	0,051±0,006
Contaminación Total (mg kg^{-1})	< 24	20,33±2,082	17,667±0,577
Punto de niebla (ºC)	Informar	1,333±0,577	3,000±1,000
Agua (mg kg^{-1})	< 500	248,000±2,000	304,000±3,606
Filtrabilidad de maceración en frio (seg)	< 360	234,000±2,000	249,000±2,000
Fósforo (ppm)	< 10	< 1	< 1
Punto inflamación (ºC)	> 120	182,333±2,517	182,33±3,215
Índice de Yodo (gI^2 100 g^{-1})	< 140	127,000±1,000	128,667±0,577

Valores expresados como media ± error estándar (n = 3))

Para ambos tipos de biodiésel, los valores de densidad y viscosidad cinemática se ubicaron dentro de los rangos normativos establecidos, evidenciando un comportamiento de flujo adecuado.

El índice de acidez resultó bajo en ambos casos, al igual que los contenidos de glicerina total y glicerina libre, indicando una conversión eficiente de los triglicéridos durante el

proceso de transesterificación. Los contenidos de mono-, di- y triglicéridos residuales se mantuvieron por debajo de los límites máximos permitidos por la normativa vigente.

La estabilidad a la oxidación superó el valor mínimo exigido por la norma para ambos biodiéseles, mientras que el contenido de ésteres totales fue superior al 96,5 % en todos los casos. El contenido de éster linolénico se encontró muy por debajo del límite máximo establecido, reflejando la composición del aceite de partida.

Los valores de contaminación total, contenido de agua y fósforo se mantuvieron dentro de los límites normativos, y el punto de inflamación superó ampliamente el valor mínimo exigido. El punto de niebla y la filtrabilidad en frío se informaron conforme a la normativa, mostrando diferencias entre los biodiésel etílicos y metílicos, aunque ambos cumplieron con los criterios de calidad establecidos.

En conjunto, los resultados obtenidos indican que tanto los biodiéseles metílicos como etílicos producidos a partir de aceite de cardo cumplieron con los parámetros de calidad requeridos por la normativa nacional vigente para su uso como biocombustible.

4. DISCUSIÓN

Las principales materias primas utilizadas a nivel mundial para la producción de biodiésel incluyen el aceite de palma (principalmente en Indonesia), el aceite de colza (predominantemente en Europa) y el aceite de soja (Estados Unidos, Argentina y Brasil). Estas materias primas son seleccionadas por su disponibilidad, rendimiento y composición lipídica, factores determinantes tanto para la eficiencia del proceso de transesterificación como para la calidad final del biocombustible. Sin embargo, distintos autores postularon que el aceite de cardo (*Cynara cardunculus* var. a*ltilis*) constituye una alternativa viable para la producción de biodiésel, debido a sus características agronómicas y químicas favorables (Fernandez y Márquez, 1995; Maccarone et al., 1999; Curt et al., 2002; Sengo et al., 2010a; Alexandre et al., 2012; Mancini et al., 2019).

En la presente tesis, el contenido promedio de aceite en las semillas de cardo fue del 20 % del peso seco de la semilla, valor que se encuentra dentro del rango informado por Sengo et al. (2010) (24,2 %) y Morero et al. (2015) (18 - 23 % dependiendo de la variedad). Este contenido resulta comparable al de oleaginosas convencionales como la soja (15 y 25 %) (Kinney y Clemente, 2005), y la palma (≈ 22 %); lo que, junto con los rendimientos obtenidos, refuerza su potencial como materia prima para la producción de

biodiésel. El cardo presentó un rendimiento promedio de 2,81 t ha^{-1} durante el segundo y tercer año de cosecha (datos de esta tesis), comparable al rendimiento promedio de soja en la región pampeana (3,1 t ha^{-1}) (Cafaro La Menza y Carciochi, 2023). A diferencia de la soja, se trata de un cultivo perenne, con ventajas asociadas a la reducción de labores de implantación, menor requerimiento de insumos, mayor estabilidad productiva y mejor protección del suelo, lo que lo posiciona como una alternativa atractiva en sistemas productivos sustentables.

Además del rendimiento en aceite, la composición cualitativa de los ácidos grasos constituye un aspecto clave para la calidad del biodiésel. Aceites con alto contenido de ácidos grasos insaturados presentan ventajas y desventajas: por un lado, favorecen un mayor número de cetano y menor viscosidad, pero por otro, son más susceptibles a la oxidación durante almacenamiento (Knothe, 2007). En este estudio, el perfil de ácidos grasos del aceite de cardo mostró un predominio de ácidos grasos insaturados (≈ 85 %) de los cuales 22,03 % correspondieron a monoinsaturados y 63,03 % a poliinsaturados; mientras que los ácidos grasos saturados representaron aproximadamente el 12 %. Estos resultados son consistentes con los reportados por diferentes autores (Maccarone et al., 1999; Curt et al., 2002; Fernández et al., 2006; Sengo et al., 2010b; Morero et al., 2015), confirmando la estabilidad y reproducibilidad del perfil lipídico del aceite de cardo.

El predominio de ácidos grasos poliinsaturados tiene implicancias directas sobre la estabilidad oxidativa del biodiésel, ya que los dobles enlaces presentes en estos compuestos son los principales sitios de reacción durante procesos de oxidación (Arisoy, 2008). Así, el bajo contenido de ácido linolénico (0,94 %) observado en el aceite de cardo resulta favorable, ya que este ácido, con tres dobles enlaces, incrementa la susceptibilidad a la oxidación y la formación de polímeros durante el almacenamiento prolongado.

El conocimiento detallado del perfil de ácidos grasos resulta, por tanto, esencial para seleccionar el procedimiento de transesterificación más adecuado y para prever las propiedades finales del biodiésel. Además, permite realizar comparaciones con otras materias primas, evaluando ventajas relativas en términos de estabilidad, eficiencia de reacción y desempeño en motores diésel. En este contexto, mientras que el aceite de palma presenta un 10,9 % de ácidos grasos poliinsaturados (Dermibas, 2008), el de colza alcanza 28,3 % (Ramos et al., 2009) y el de soja 59 % (Kinney y Clemente, 2005). Con un contenido de 60,4 % de poliinsaturados, el aceite de cardo se asemeja al de soja,

aunque su menor contenido de ácido linolénico sugiere un comportamiento oxidativo relativamente más favorable.

El análisis de las propiedades físico-químicas del aceite constituye un paso fundamental para determinar su idoneidad como materia prima en la producción de biodiésel y para definir el protocolo de transesterificacion más adecuado.

La densidad y la viscosidad cinemática del aceite crudo de cardo se ubicaron dentro de los rangos típicos reportados para aceites vegetales (Las Valdesas, 2025), lo que refleja una composición lipídica comparable a la de otras materias primas oleaginosas empleadas en la producción de biodiésel. Estos parámetros están estrechamente vinculados al perfil de ácidos grasos y a la proporción relativa de ácidos saturados e insaturados, y condicionan tanto el comportamiento de flujo del aceite como su posterior conversión a ésteres.

La acidez inicial del aceite de cardo fue de 4,03 g de ácido oleico cada100 g^{-1} de aceite, equivalente a aproximadamente 4 % de ácidos grasos libres (AGL). Este valor es elevado para ser utilizado directamente en la producción de biodiésel, ya que aceites con acidez superior a 2 % requieren tratamientos previos para evitar reacciones secundarias durante la transesterificación, principalmente la formación de jabones, que afectan el rendimiento del proceso y la calidad del combustible final. En general, aceites con acidez superior a 5% requieren una esterificación ácida, mientras que aquellos con valores intermedios de acidez (entre 2 y 5 %) pueden ser acondicionados mediante un proceso de neutralización (Pisarello, 2010). En este trabajo, la neutralización permitió reducir la acidez del aceite a 0,37 %, valor compatible con los requerimientos normativos y adecuado para minimizar reacciones secundarias durante la transesterificación. En contraste, Pasqualino (2007) obtuvo un aceite de cardo con una acidez significativamente mayor (11,63 %) por lo que debió recurrir a reacciones catalizadas por ácido para reducir la acidez a valores inferiores al 2 %.

El elevado índice de yodo obtenido confirma el alto grado de insaturación del aceite de cardo, en concordancia con el perfil de ácidos grasos determinado por cromatografía gaseosa, caracterizado por una elevada proporción de ácidos grasos poliinsaturados. Si bien esta característica resulta favorable desde el punto de vista de la fluidez del biodiésel, también se asocia a una mayor susceptibilidad a procesos de oxidación, lo que explica la relevancia de evaluar la estabilidad oxidativa del aceite.

El contenido de material insaponificable determinado en el aceite crudo se encuentra asociado a la presencia de compuestos minoritarios tales como esteroles, tocoferoles y otros componentes no glicéridos, los cuales pueden influir tanto en la estabilidad oxidativa como en el comportamiento del aceite durante los procesos de refinación y conversión. El valor obtenido, del orden de 2 g 100 g^{-1} de aceite, pone de manifiesto la presencia de una fracción no saponificable relevante, característica de aceites no refinados. Asimismo, la presencia de fósforo y agua en el aceite crudo constituye un aspecto relevante en la caracterización de la materia prima, ya que ambos parámetros se asocian a componentes propios de aceites no refinados y pueden influir en el comportamiento del sistema durante su procesamiento. Los contenidos determinados, del orden de 200 mg kg^{-1} para fósforo y 446 mg kg^{-1} para agua, permiten cuantificar la fracción fosfolipídica y la humedad presente en el aceite, respectivamente, y aportan información útil para la definición de las condiciones de acondicionamiento previas a la transesterificación.

La selección del alcohol empleado en la reacción de transesterificación constituye otro factor determinante en la eficiencia del proceso y en las propiedades finales del biodiésel obtenido. Si bien el metanol es el alcohol más utilizado a nivel industrial debido a su bajo costo, alta reactividad y amplia disponibilidad (Musa, 2016), el etanol presenta ventajas ambientales y tecnológicas que justifican su evaluación como alternativa en la producción de biodiésel. Entre estas ventajas se destacan: su posible origen renovable, ya que se obtiene generalmente a partir de biomasa agrícola, y la mayor biodegradabilidad de los ésteres etílicos en comparación con los metílicos (Makareviciene y Janulis, 2003; Boehman, 2005). Desde el punto de vista ambiental, diversos estudios reportan que los biodiéseles etílicos generan menores cantidades de material particulado y gases de efecto invernadero, incluyendo dióxido de carbono y óxidos de nitrógeno (NO_x) durante la combustión, contribuyendo así a un menor impacto ambiental. En relación a las propiedades del combustible, los ésteres etílicos suelen presentar un número de cetano ligeramente superior, lo que mejora la ignición en motores diésel y la eficiencia de la combustión (Clark et al., 1984). Asimismo, se ha informado que poseen un mayor poder calorífico y un comportamiento más favorable a bajas temperaturas, manifestado como menor punto de niebla y mejor filtrabilidad en frío (Encinar et al., 2007). Estas características resultan particularmente interesantes para su uso en regiones de climas

fríos, donde la formación de cristales sólidos puede limitar el flujo de combustible y afectar la operación de los sistemas de inyección.

En este trabajo, se evaluó el rendimiento y la calidad del biodiésel de cardo producido tanto con metanol como con etanol. Ambos combustibles cumplieron con los límites establecidos por normas internacionales y nacionales (IRAM 6515-1, 2006; EN 14214, 2012; ASTM D6751, 2020), lo que evidencia la eficiencia del proceso de transesterificación y confirma la aptitud del aceite de cardo como materia prima. En cualquier biodiésel, una densidad elevada puede dificultar la atomización y la adecuada desintegración del combustible durante la inyección, especialmente en sistemas con escasa ventilación, lo que puede requerir mayores volúmenes de combustible para mantener el rendimiento del motor (Ulu et al., 2022). En este sentido, la optimización de la densidad y las condiciones de inyección resulta clave para mejorar la eficiencia de combustión en motores que utilizan biodiésel. En general, los biodiésel, independientemente de si se producen a partir de aceites vegetales o grasas animales, presentan valores de densidad superiores y menor compresibilidad que el diésel convencional (≈ 0,84 g ml^{-1}) (NguyenThi et al., 2018; Okonkwo y Omenihu, 2021). La norma ASTM D-1298 establece para el biodiésel un intervalo aceptable de densidad comprendido entre 0,86 y 0,90 g ml^{-1}. En el presente estudio, tanto los ésteres etílicos como los metílicos obtenidos a partir del aceite de cardo se situaron dentro de estos límites normativos, en concordancia con valores previamente reportados por Fernández et al., (2006), quienes obtuvieron densidades de 0,88 y 0,89 g ml^{-1} para biodiésel metílico y etílico, respectivamente. La alta viscosidad de los aceites vegetales, que puede ser entre10 y 20 veces superior a la del diésel convencional, constituye otro factor limitante para su uso directo como combustible, ya que provoca una atomización deficiente, combustión incompleta, formación de depósitos de carbono en inyectores, cámaras de combustión y pistones, así como obstrucción de filtros y fallos en bombas de inyección (Hoang y Le, 2019; Salaheldeen et al., 2021). En este contexto, la elevada viscosidad de los aceites vegetales constituye una de las principales limitaciones para su utilización directa como combustible, por lo que su conversión a ésteres mediante transesterificación permite reducirla hasta valores próximos a los del diésel convencional (4 mm^2 s^{-1}), lo que permite su uso eficiente y seguro en motores diésel sin modificaciones sustanciales (Demirbas, 2006; Salaheldeen et al., 2021). En este trabajo, el aceite de cardo presentó una viscosidad de 26 mm^2 s^{-1}; sin embargo, tras la transesterificación, los ésteres metílico y etílico

mostraron valores de 4,2 y 4,0; respectivamente. Estos valores están dentro de los límites establecidos por las normas de calidad y son comparables a los del diésel convencional, lo que demuestra la eficiencia del proceso de producción de biodiésel utilizado. Resultados similares fueron reportados por Pasqualino (2006), quien informó una viscosidad de 32 $mm^2\ s^{-1}$ para el aceite de cardo y de 4,17 $mm^2\ s^{-1}$ para el biodiésel metílicos obtenido a partir de este. La determinación del índice de acidez en el biodiésel es un parámetro fundamental para evaluar su calidad y estabilidad, ya que cuantifica la cantidad de ácidos grasos libres (AGL) presentes en el combustible. Estos compuestos pueden formarse a partir de la hidrólisis parcial de los ésteres o estar presentes desde la materia prima inicial, especialmente cuando se emplean aceites de baja calidad o con alto contenido de humedad (Knothe et al., 2005; Meher et al., 2006). Un valor elevado de acidez no solo disminuye la calidad del biodiésel, sino que también puede provocar efectos adversos durante su uso, tales como la corrosión de componentes metálicos en el sistema de inyección, la degradación de sellos y mangueras, y la formación de depósitos que afectan la eficiencia operativa del motor (Demirbas, 2009; Atadashi et al., 2011). Además, un contenido elevado de AGL acelera los procesos de oxidación y polimerización, lo que compromete la estabilidad y calidad del combustible durante el almacenamiento (Knothe, 2007; Chen y Luo, 2011; Kumar, 2017). La norma ASTM D974 (2019) establece un valor máximo de acidez de 0,50 mg KOH g^{-1} de biodiésel. En el presente estudio, ambos biodiéseles obtenidos presentaron valores de acidez inferiores a dicho límite, lo que indica un adecuado control del proceso de transesterificación y una baja presencia de ácidos grasos libres, condición necesaria para asegurar la estabilidad del combustible y minimizar problemas de corrosión. Estos resultados sugieren que no se produjeron niveles significativos de hidrólisis de triglicéridos ni procesos relevantes de degradación oxidativa durante las etapas de síntesis y almacenamiento inicial. Asimismo, los bajos niveles de AGL constituyen un aspecto favorable para la estabilidad oxidativa del biodiésel al reducir la probabilidad de reacciones de autooxidación durante el almacenamiento. La estabilidad a la oxidación es un parámetro que mide la resistencia relativa de un biocombustible a sufrir cambios físicos y químicos indeseables durante su almacenamiento, provocados por la acción de factores como el oxígeno, la luz, la humedad, la presencia de metales y la temperatura (Knothe, 2007). Esta propiedad resulta especialmente relevante, dado que los procesos oxidativos conducen a la formación de productos de degradación, tales como ácidos orgánicos y compuestos poliméricos, que incrementan la viscosidad y reducen la calidad del combustible (Bannister et al., 2011;

Longanesi et al., 2022). El perfil de ácidos grasos del aceite de origen es uno de los principales determinante para la estabilidad oxidativa del biodiésel y, en general, se mantiene prácticamente inalterado tras el proceso de transesterificación (Knothe et al., 2005). En este sentido, los aceites con menor proporción de ácidos grasos poliinsaturados (AGP), como los ácidos linoleico y linolénico, tienden a producir biodiésel con mayor estabilidad oxidativa (Falk y Meyer Pittroff, 2004). Así, la estabilidad oxidativa reportada para el biodiésel de palma (10,9 % de AGP) es de 11 h, para colza (28,3 % de AGP) de 6,94 h y para soja (58,88 % de AGP) de 3,87 h (Ramos et al., 2009). La norma europea EN 14112 establece un valor mínimo de 6 h para este parámetro. En este estudio, el biodiésel producido a partir de aceite de cardo, con un contenido aproximado de 60,4 % de AGP, presentó valores de estabilidad a la oxidación de 6,8 h para los ésteres etílicos y de 7,0 h para los ésteres metílicos, superando el umbral normativo. A pesar de exhibir un porcentaje de AGP similar al del aceite de soja, el aceite de cardo obtenido presentó un contenido considerablemente menor de ácido linolénico (0,94 % frente a 7 %). Dado que la susceptibilidad a la oxidación aumenta con el grado de insaturación, esta diferencia en la composición de la fracción poliinsaturada podría contribuir a explicar la mayor estabilidad oxidativa observada en el biodiésel de cardo. Este comportamiento resulta coherente con la relación conocida entre el grado de insaturación y la susceptibilidad a la oxidación, la cual aumenta con el número de dobles enlaces en la molécula de ácido graso. En comparación con el ácido esteárico (C18:0), el ácido oleico (C18:1) se oxida aproximadamente 100 veces más rápido; el ácido linoleico (C18:2), unas 1.200 veces; y el ácido linolénico (C18:3), aproximadamente 2.500 veces (Chuck et al., 2012). Por lo tanto, el bajo contenido de ácido linolénico en el aceite de cardo constituye un atributo favorable desde el punto de vista de la estabilidad oxidativa del biodiésel producido.

La insaturación de los ácidos grasos está directamente relacionada con el índice de yodo, parámetro que cuantifica el contenido de dobles enlaces capaces de reaccionar con halógenos. El índice de yodo constituye una herramienta clave para la caracterización de aceites y para la estimación de su estabilidad oxidativa: valores bajos reflejan aceites más estables y menos propensos a la oxidación, mientras que valores altos indican un mayor grado de insaturación y, en consecuencia, una menor estabilidad oxidativa (Soares y Rocha, 2018). A largo plazo, un alto índice de yodo puede favorecer la formación de compuestos poliméricos, lo que se traduce en un incremento de la viscosidad del combustible. Este aumento de viscosidad afecta negativamente la atomización durante la

inyección, pudiendo provocar combustión incompleta, pérdida de potencia y formación de depósitos en el motor (Demirbas, 2009). En consecuencia, la acidez, el perfil de ácidos grasos y el índice de yodo constituyen parámetros críticos para evaluar la calidad del biodiésel y anticipar su comportamiento durante el almacenamiento y el uso en motores diésel.

La determinación del contenido de ésteres totales y de glicerina total (que incluye glicerol libre, monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos) constituye un indicador clave de la eficiencia del proceso de transesterificación.

La presencia de glicerina, ya sea libre o ligada, en niveles elevados, puede generar problemas técnicos durante el almacenamiento y uso del biodiésel, tales como la formación de sedimentos en los tanques, la obstrucción de filtros, la afectación de inyectores y la reducción de la vida útil de componentes del motor (Knothe et al., 2005; Atadashi et al., 2011). Además, un alto contenido de mono- y diglicéridos puede indicar una conversión incompleta de la materia prima, lo que disminuye la calidad del combustible y su compatibilidad con las especificaciones internacionales (Gerpen, 2005). Por este motivo, las normativas vigentes establecen límites estrictos para el contenido de glicerina libre (≤ 0,02 % m/m) y glicerina total (≤ 0,24 % m/m) en el biodiésel, con el objetivo de garantizar un funcionamiento seguro y eficiente en motores diésel. En el presente estudio, ambos biodiéseles producidos a partir de *Cynara cardunculus* presentaron valores de glicerina total y ésteres totales dentro de los límites establecidos por las normas. Estos resultados indican que el proceso de transesterificación empleado fue altamente eficiente, permitiendo una conversión casi completa de la materia prima y minimizando la presencia de subproductos indeseados. La contaminación total representa el contenido de sustancias no disueltas de tamaño superior a 0,8 µm, expresado en mg kg^{-1}. Niveles elevados de materiales insolubles tienden a obstruir los depósitos de almacenamiento, los filtros de los motores y las bombas de inyección; por este motivo la norma ASTM D12662 (2014) establece un límite máximo de 24 mg kg^{-1}. La acumulación de impurezas y sedimentos está asociada a altas concentraciones de contaminantes totales, afectando negativamente la calidad y estabilidad del biodiésel. La contaminación del biodiésel es resultado de la interacción entre el tiempo y las condiciones de almacenamiento, el proceso de producción y la susceptibilidad a la contaminación microbiana (de Siqueira Cavalcanti et al., 2019; Kivevele, 2020; Komariah et al., 2022). Barrios (2015) observó, además, que el tiempo de lavado juega un papel clave, ya que

lavados insuficientes impiden la neutralización completa de los jabones, los cuales contribuyen significativamente al aumento de la contaminación total. En el presente ensayo, los valores de contaminación total obtenidos para los biodiéseles de cardo, tanto etílicos como metílicos se ubicaron por debajo del límite normativo, lo que refuerza la eficiencia de los procedimientos de producción y purificación empleados.

A bajas temperaturas, la mayoría de los combustibles cambian su consistencia, lo que puede restringir su uso. El punto de niebla (PN) se define como la temperatura a la cual comienzan a hacerse visibles los primeros cristales cuando una muestra de combustible se enfría gradualmente (Knothe et al., 2005). Estos cristales pueden obstruir el flujo de combustible a través de los sistemas de filtración, causando graves daños al sistema de inyección, especialmente en las partes móviles (Barba et al., 2020; Hazrat et al., 2020). El PN del biodiésel depende en gran medida del perfil de ácidos grasos (Atabani et al., 2012) y, en general, es superior al de los combustibles fósiles. Los valores típicos se sitúan entre -3 y 12 °C para el biodiésel y entre -15 y 5 °C para el diésel fósil (Knothe et al., 2005). En el presente estudio, el biodiésel de cardo obtenido con etanol presentó un punto de niebla de 1 °C, mientras que el obtenido con metanol alcanzó un valor de 3 °C. Esta diferencia indica que, bajo las condiciones del ensayo, los primeros cristales aparecieron a una temperatura aproximadamente 2 °C menor en el biodiésel etílico, lo que representa un comportamiento más favorable frente al enfriamiento para este parámetro.

Los monoglicéridos saturados y los glucósidos de esteroles son considerados los principales responsables de la obstrucción de los filtros, ya que tienden a cristalizar a bajas temperaturas y formar aglomerados sólidos que limitan el paso del combustible a través del sistema (McCormick et al., 2007; Tang et al., 2008). La filtrabilidad del biodiésel tras maceración en frío se evalúa mediante el método estándar ASTM D7501, conocido como *Cold Soak Filtration Test* (CSFT), el cual es particularmente sensible a la presencia de contaminantes como monoglicéridos saturados, glucósidos de esteroles y jabones, que tienden a precipitar a bajas temperaturas y dificultan la filtración (Paryanto et al., 2022). La norma ASTM D6751 (2020) establece un límite máximo de 360 segundos para el biodiésel puro y de 200 segundos para su uso en mezclas de hasta B20 a -12 °C o menos. Valores superiores a estos umbrales indican un mayor riesgo de problemas de suministro de combustible y fallas operativas, especialmente en condiciones invernales. En el presente ensayo, ambos biodiéseles de cardo mostraron valores muy por debajo del límite establecido, lo que indica una baja concentración de compuestos críticos y una

buena aptitud para su uso en motores diésel. Estos resultados confirman la eficacia del proceso de producción y su potencial para cumplir con los estándares internacionales de calidad del biodiésel.

El punto de inflamación se define como la temperatura mínima a la cual un combustible libera vapores suficientes para formar, con el aire, una mezcla inflamable capaz de encenderse en presencia de una fuente de ignición (Demirbas, 2009; Atadashi et al., 2011). Este parámetro constituye un indicador clave de seguridad durante el transporte, almacenamiento y manipulación de combustibles líquidos, ya que valores más elevados implican un menor riesgo de incendios accidentales. El biodiésel presenta una ventaja significativa frente al gasoil fósil en términos de seguridad, dado que su punto de inflamación es considerablemente más elevado. Mientras que el gasoil suele inflamarse a temperaturas comprendidas entre 60 y 80 °C, el biodiésel puede alcanzar temperaturas de ignición entre 100 y 170 °C, dependiendo de la fuente de aceite y del proceso de producción (Knothe et al., 2005). En el presente ensayo, ambos biodiéseles de cardo mostraron un punto de inflamación de 180 °C. Estos resultados confirman que el biodiésel de cardo posee un perfil de seguridad superior al del diésel convencional, lo que facilita su manipulación y almacenamiento, y disminuye los riesgos de incendio en las operaciones de transporte y almacenamiento.

La presencia de agua en el biodiésel es otro parámetro crítico para garantizar su estabilidad, seguridad y desempeño en motores diésel. Un contenido excesivo de agua puede inducir la separación de fases cuando el biodiésel se mezcla con gasoil, comprometiendo la homogeneidad del combustible y afectando negativamente la combustión (Atadashi et al., 2011). Además, el agua favorece la corrosión de los componentes metálicos del motor y crea un ambiente propicio para el desarrollo de microorganismos, los cuales pueden degradar el biodiésel y originar la formación de ácidos y lodos que deterioran su calidad (Ma y Hanna, 1999; Knothe et al., 2005). El biodiésel es un combustible altamente higroscópico y puede absorber humedad del ambiente, alcanzando concentraciones de agua del orden de 1500 - 2000 ppm, en contraste con valores cercanos a 50 ppm en el diésel fósil (Atabani et al., 2012). El contenido de agua en el biodiésel depende tanto del proceso de producción como de las condiciones de almacenamiento. En el presente ensayo, los biodiésel de cardo obtenidos presentaron contenidos de agua de 252 y 306 mg kg^{-1}, valores que se encuentran por debajo del límite máximo establecido por la norma ASTM D6751 (2020) (500 mg kg^{-1}).

Esto también corrobora que las etapas de producción, purificación y almacenamiento implementadas fueron adecuadas para mantener la calidad del combustible y minimizar los riesgos asociados a la presencia de agua.

El fósforo presente en los aceites vegetales se encuentra principalmente en forma de fosfolípidos y otras moléculas complejas que, durante la transesterificación, tienden a concentrarse en la fase de glicerina debido a su polaridad y afinidad (Knothe et al., 2005; Atadashi et al., 2011). Como consecuencia, el biodiésel resultante suele presentar concentraciones muy bajas de fósforo, un aspecto fundamental para garantizar la compatibilidad con los sistemas de inyección y prevenir la formación de depósitos que puedan afectar el funcionamiento del motor (Ma y Hanna, 1999). Las normativas internacionales establecen un límite máximo de fósforo de 10 ppm en el biodiésel, ya que concentraciones superiores pueden promover la obstrucción de filtros y la oxidación de componentes del sistema de combustible (Demirbas, 2009). En este estudio, los biodiéseles de cardo obtenidos presentaron contenidos de fósforo inferiores a 1 ppm, a pesar de que el aceite de partida contenía aproximadamente 192 mg kg^{-1} de fósforo. Estos resultados evidencian la elevada eficiencia del proceso de producción en la remoción de fósforo y posiciona a los biodiéseles obtenidos como combustibles de muy buena calidad y seguros para su utilización en motores diésel modernos.

5. CONCLUSIONES

El aceite de cardo (*Cynara cardunculus* var. *altilis* L.), una vez reducida la acidez mediante un proceso de neutralización, presentó propiedades físico-químicas adecuadas para su utilización como materia prima en la producción de biodiésel, permitiendo una transesterificación eficiente y la obtención de un biocombustible de alta calidad.

Tanto el biodiésel metílico como etílico producidos a partir de aceite de cardo cumplieron con los estándares de calidad establecidos por las normativas nacionales e internacionales vigentes en todos los parámetros de calidad evaluados, incluyendo parámetros clave como acidez, contenido de glicerina, fósforo, estabilidad a la oxidación y punto de inflamación.

El biodiésel etílico presentó menores valores de punto de niebla y de tiempo de filtrabilidad en frío respecto del biodiésel metílico, mostrando un comportamiento favorable a bajas temperaturas en las condiciones evaluadas. Asimismo, el menor contenido de agua observado en los ésteres etílicos contribuye a una mayor estabilidad

del combustible, reduce el riesgo de obstrucción de filtros y minimiza la corrosión de componentes metálicos en los sistemas de inyección diésel.

Los resultados obtenidos amplían los antecedentes disponibles para *Cynara cardunculus* al demostrar, bajo las condiciones productivas evaluadas en el sur de Santa Fe, la posibilidad de obtener a partir de una misma materia prima biodiésel metílico y etílico que cumple con los requisitos de calidad analizados. La comparación entre ambas rutas permitió, además, identificar diferencias en propiedades asociadas al tipo de alcohol utilizado, aportando información para la selección del proceso de transesterificación dentro de una estrategia de aprovechamiento integral del cultivo.

CAPÍTULO 5: ANÁLISIS DE CICLO DE VIDA

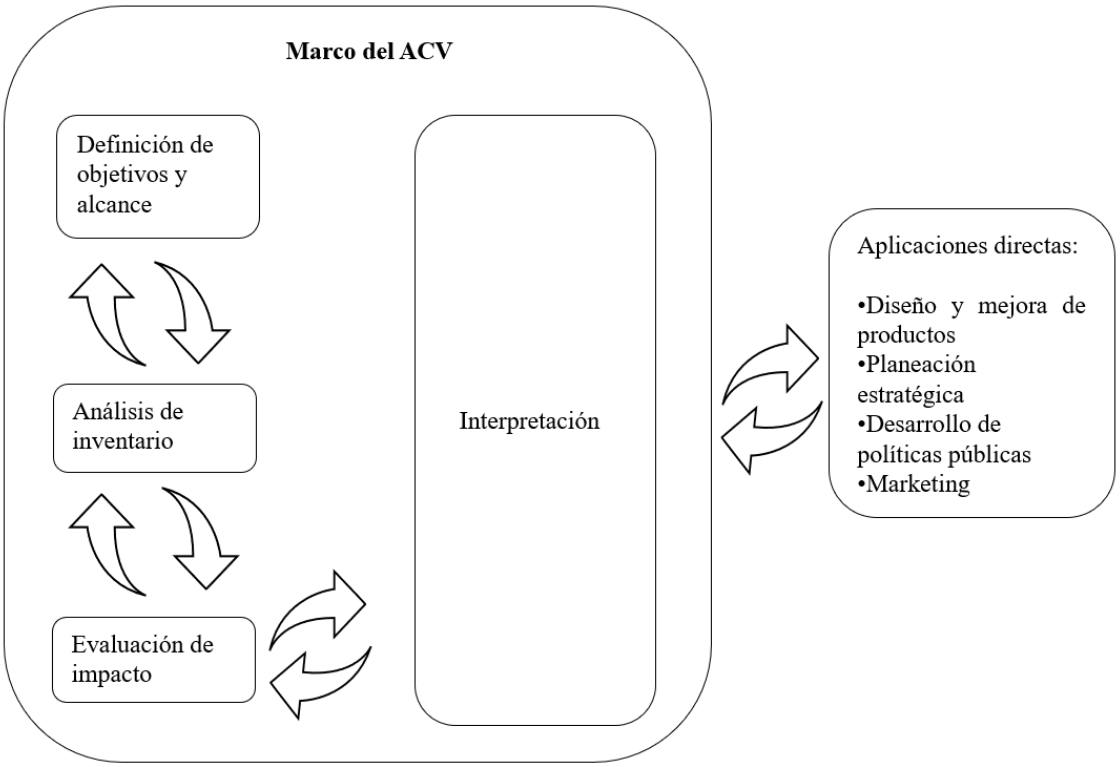
1. INTRODUCCIÓN

El Análisis de Ciclo de Vida (ACV) es una herramienta de gestión ambiental cuyo objetivo es evaluar, de manera objetiva, sistemática y científica, los impactos ambientales asociados a un producto o proceso a lo largo de todo su ciclo de vida. Este análisis abarca desde la adquisición de las materias primas, pasando por las etapas de producción y uso, hasta la gestión final de los residuos generados.

Las normas de referencia para la realización de un ACV son: la ISO 14040 (2006), que establece los principios y el marco metodológico general, y la ISO 14044 (2006**)**, que define los requisitos y directrices para su aplicación. De acuerdo con la norma ISO 14040, el ACV es una técnica destinada a identificar los aspectos ambientales y los impactos potenciales asociados a un producto, mediante la recopilación de un inventario de las entradas y salidas relevantes del sistema, la evaluación de los impactos ambientales asociados a dichos flujos y la interpretación de los resultados obtenidos en función de los objetivos del estudio.

Según estas normas, el ACV se estructura en cuatro fases interrelacionadas: definición del objetivo y alcance, análisis de inventario, evaluación de impacto e interpretación (Figura 38).

Figura 38: Fases del ACV (extraído de ISO14040:2006)



La definición del objetivo y alcance establece el propósito del estudio, el sistema bajo análisis, la unidad funcional, los límites del sistema y los criterios metodológicos adoptados. El análisis de inventario comprende la recopilación y cuantificación de los flujos de entrada y salida del sistema, incluyendo el consumo de recursos, el uso de energía y las emisiones al ambiente. La evaluación de impacto del ciclo de vida permite vincular los resultados del inventario con distintas categorías de impacto ambiental, estimando la contribución potencial del sistema a diferentes problemáticas ambientales. Finalmente, la fase de interpretación integra los resultados obtenidos, evalúa su coherencia y robustez, identifica los aspectos ambientales más relevantes y permite formular conclusiones y recomendaciones acordes con los objetivos planteados.

En el contexto actual, la crisis energética global, agravada por el aumento sostenido de la demanda de recursos y por los impactos ambientales, económicos y sociales asociados al uso de combustibles fósiles, ha impulsado la búsqueda y el desarrollo de fuentes energéticas alternativas. Este escenario pone de manifiesto la necesidad de avanzar hacia sistemas energéticos más sostenibles, resilientes y ambientalmente responsables. En este sentido, la promoción y el uso de fuentes de energía renovable, como la biomasa, la

energía solar, eólica, geotérmica e hidráulica, se presentan como estrategias clave para reducir la dependencia de los combustibles fósiles y mitigar las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) asociadas a su utilización.

La adopción de energías renovables no solo contribuye a la descarbonización del sistema energético, reduciendo la dependencia de combustibles fósiles y las emisiones de gases de efecto invernadero, sino que también favorece la diversificación de la matriz energética y la generación de empleo en sectores emergentes. Asimismo, el aprovechamiento sostenible de recursos locales, tales como residuos agrícolas o forestales destinados a la producción de biocombustibles, permite fortalecer la seguridad energética y avanzar hacia modelos de economía circular (Sims et al., 2010; Panwar et al., 2011). En este marco, el desarrollo y la implementación de tecnologías limpias y renovables se presentan no solo como alternativas técnicas viables, sino como una condición indispensable para garantizar el desarrollo sostenible de la sociedad actual y futura, en concordancia con los Objetivos de Desarrollo Sostenible.

Los biocombustibles, entre ellos el biodiésel, constituyen una alternativa energética renovable y ambientalmente favorable frente a los combustibles fósiles convencionales. Su utilización contribuye a la reducción de las emisiones netas de GEI y a la diversificación de la matriz energética, favoreciendo el desarrollo sostenible de los sectores energético y agroindustrial (Knothe et al., 2005; Demirbas, 2009). No obstante, los beneficios ambientales asociados a los biocombustibles dependen en gran medida de las características específicas de cada cadena productiva, del origen de las materias primas y de las tecnologías empleadas, por lo que resulta indispensable su evaluación integral mediante herramientas como el ACV.

Tal como se describió en el Capítulo 3, el aceite obtenido a partir de las semillas de cardo presenta características adecuadas para la producción de biodiésel mediante transesterificación. Sin embargo, el aprovechamiento energético del cultivo no se limita a la fracción oleaginosa, ya que la biomasa lignocelulósica residual puede ser valorizada mediante otras rutas de conversión energética. En este contexto, el presente capítulo propone integrar las alternativas de producción de biodiésel, bioetanol y pelets evaluadas previamente, con el fin de analizar mediante ACV el comportamiento ambiental de diferentes esquemas de aprovechamiento integral del cultivo.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Cuantificar el balance energético y de emisiones asociado al uso de biocombustibles y a la sustitución de combustibles e insumos convencionales por productos obtenidos a partir del cardo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.Análisis de ciclo de vida

Se llevaron a cabo las cuatro fases del ACV conforme a las normas ISO 14040 (2006) e ISO 14044 (2006)

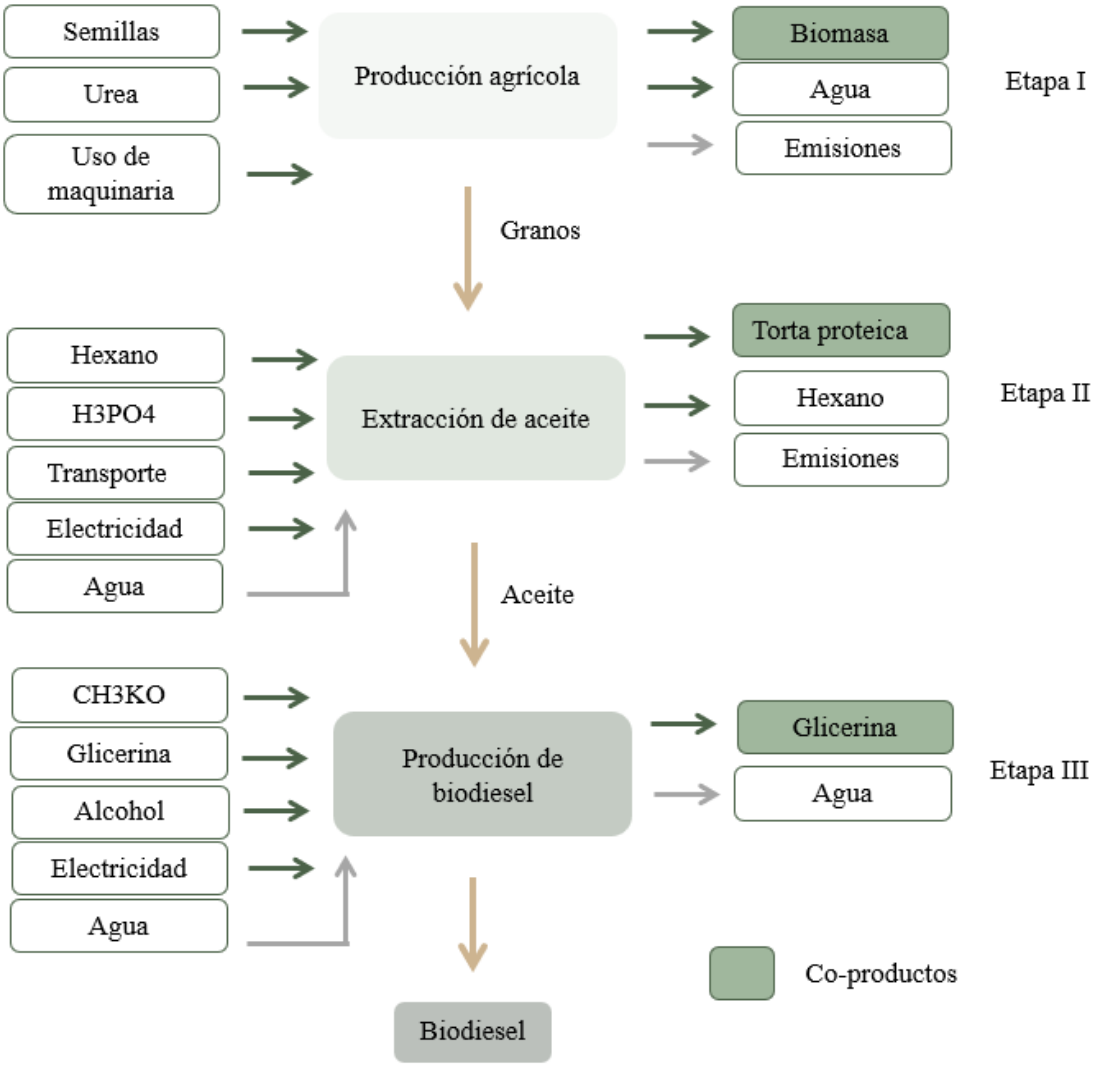
2.1.1. Definición del objetivo y alcance del estudio

En este caso, el objetivo planteado es producir 1 MJ de biodiésel puro (B100) a partir del cultivo cardo (*Cynara cardunculus* var. *altilis*) en Argentina. Por lo que la unidad funcional será 1 MJ de biodiésel de cardo.

En la Figura 39 se presentan en forma esquemática los límites del sistema. El alcance incluye la producción del grano de cardo (incorporando también la producción de los insumos necesarios aguas arriba) hasta la obtención de biodiésel. El sistema se divide en tres etapas:

- Etapa I: Producción agrícola.
- Etapa II: Extracción y refinación de aceite.
- Etapa III: Producción de biodiésel.

Figura 39: Límites del sistema. Flechas verdes: Entrada y salidas de materiales y energía desde y hacia una intervención humana (Tecnósfera). Flechas grises: Entradas y salidas de elementos desde y hacia la naturaleza (Ecosfera). H_3PO_4= Acído fosfórico, CH_3KO= Metóxido de potasio



La extensión geográfica del análisis abarca el sur de la provincia de Santa Fe. En cuanto al período temporal, se contempla el año 2024.

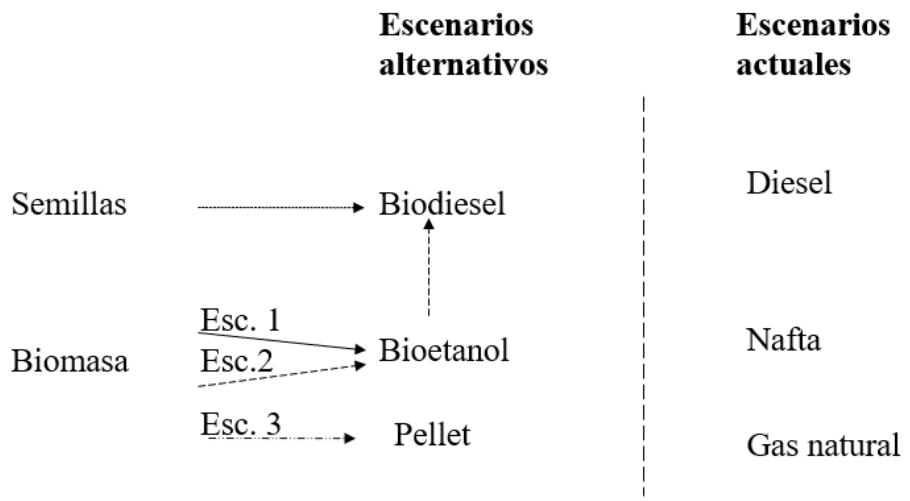
La información sobre los insumos utilizados y sus cantidades correspondientes en las tres fases fue recopilada mediante ensayos realizados tanto en condiciones de campo como en laboratorio, en el marco de esta investigación. En relación con el consumo de electricidad en las etapas II y III, se adoptaron valores estimados a partir de datos industriales obtenidos de metodologías convencionales aplicadas a dichos procesos. Los datos referentes a los insumos y las cantidades del proceso de obtención de bioetanol fueron

obtenidos de Luo et al. (2009) mientras que la información relacionada con el peletizado fue tomada de Jozami (2023). Con respecto a la distancia desde el campo hasta la aceitera se estimó un radio de 40 km, teniendo en cuenta la distribución geográfica de las grandes industrias aceiteras del Gran Rosario.

2.1.1.1.Caso estudio

Objetivo: Comparar el consumo energético y las emisiones de CO_2 de tres escenarios posibles para la producción de 1 MJ de biodiésel en el sur de la provincia Santa Fe, Argentina, según la metodología de ACV.La Figura 40 muestra los tres escenarios de aprovechamiento integral del cultivo analizados, que difieren en la estrategia de valorización de la biomasa residual asociada a la producción de biodiésel. Para evaluar estos escenarios se aplicó la metodología expansión de sistema mediante la cual se descuentan de las emisiones del sistema, aquellas emisiones asociadas a los productos evitados por los coproductos que sustituyen a otros productos del mercado.

Figura 40: Escenarios actuales de los sistemas energético y térmico y escenarios alternativos planteados a partir del cultivo energético de cardo



El primer escenario (Esc. 1) corresponde a un proceso de transesterificación convencional en el que se emplea metanol como solvente. En este escenario también se produce bioetanol a partir de biomasa residual, destinándose el 100 % del bioetanol generado exclusivamente como sustituto de la nafta. El segundo escenario (Esc. 2) contempla el uso de bioetanol como solvente para la transesterificación, el cual es obtenido a partir de biomasa residual de origen agrícola. En este caso, una fracción del bioetanol producido

se utiliza como insumo para la obtención de biodiésel, mientras que el remanente se emplea como sustituto de la nafta. Por último, en el tercer escenario (Esc. 3) se produce biodiésel mediante transesterificación con metanol; sin embargo, la biomasa residual se destina a la fabricación de pelets utilizados como insumo para la calefacción de un hogar, en sustitución del consumo de gas natural.

Por otro lado, durante la etapa de extracción de aceite se obtiene una torta proteica que, en este estudio, se consideró como sustituto del pelet de soja utilizado en la alimentación animal. Asimismo, en la etapa de producción de biodiésel se genera glicerina cruda. Para su valorización se incorporó al modelo una etapa de purificación basada en el procedimiento descripto por Tomatis et al. (2024), incluyendo los consumos de materiales y energía asociados. La glicerina purificada obtenida se consideró como sustituto de glicerina de origen industrial, aplicando un factor de corrección por la diferencia de calidad entre ambos productos. El inventario de purificación fue escalado proporcionalmente a la cantidad de glicerina cruda generada en cada escenario. Para determinar la cantidad equivalente de glicerina industrial evitada se consideró el rendimiento de recuperación y la pureza de la corriente obtenida, junto con el factor de sustitución por calidad propuesto por Tomatis et al. (2024).

La masa de glicerina purificada se estimó mediante la siguiente relación:

Ecuación 18: Cálculo de la cantidad de glicerina purificada obtenida.

$$mGP = mGC \times 0{,}365$$

Donde,

- mGP: corresponde a la masa de glicerina purificada
- mGC: corresponde a la masa de glicerina cruda generada

Posteriormente, la cantidad equivalente de glicerina industrial evitada se calculó como:

Ecuación 19: Cálculo de la cantidad de glicerina industrial evitada.

$$mGI, eq = mGP * \frac{Qp}{Qs}$$

considerando un valor de Qs/Qp=0,19, de acuerdo con Tomatis et al. (2024). Por lo tanto, la cantidad equivalente de glicerina industrial sustituida se obtuvo mediante:

Ecuación 20: Cálculo de la cantidad de glicerina industrial evitada.

$$mGI, eq = mGC \times 0{,}365 \times 0{,}19$$

El factor Qs/Qp representa la corrección por diferencia de calidad entre la glicerina purificada obtenida y la glicerina industrial de referencia.

2.1.2. Análisis de inventario

Se identificaron y cuantificaron los flujos de entrada y salida de materiales y energía asociados a cada etapa del sistema, calculándose las demandas de materias primas necesarias para producir 1 MJ de biodiésel.

2.1.2.1.Flujos de referencias

En las Figuras 41, 42 y 43 se presentan los flujos de referencia y los productos evitados asociados a la producción de 1 MJ de biodiésel en los tres escenarios planteados. Para el cálculo de estos valores, los inventarios construidos a partir de datos experimentales de esta tesis y de información bibliográfica complementaria fueron escalados utilizando el poder calorífico inferior (PCI) correspondiente a ambos biodiéseles obtenidos (Tabla 17). Esta conversión permitió expresar de manera consistente todos los flujos de entrada y salida del sistema en términos de la unidad funcional definida (1 MJ de biodiésel).

Figura 41: Sistema analizado en el escenario 1

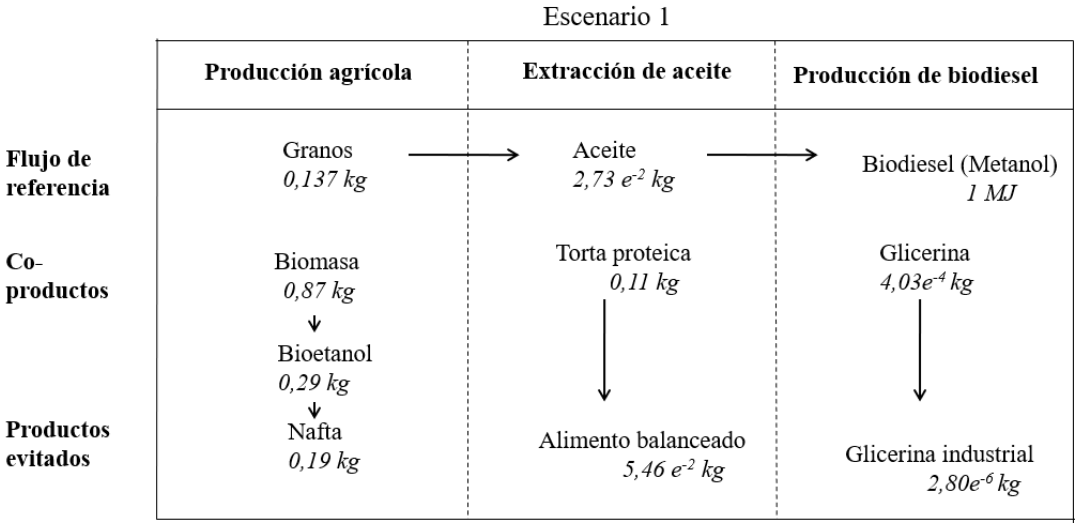


Figura 42:Sistema analizado en el escenario 2

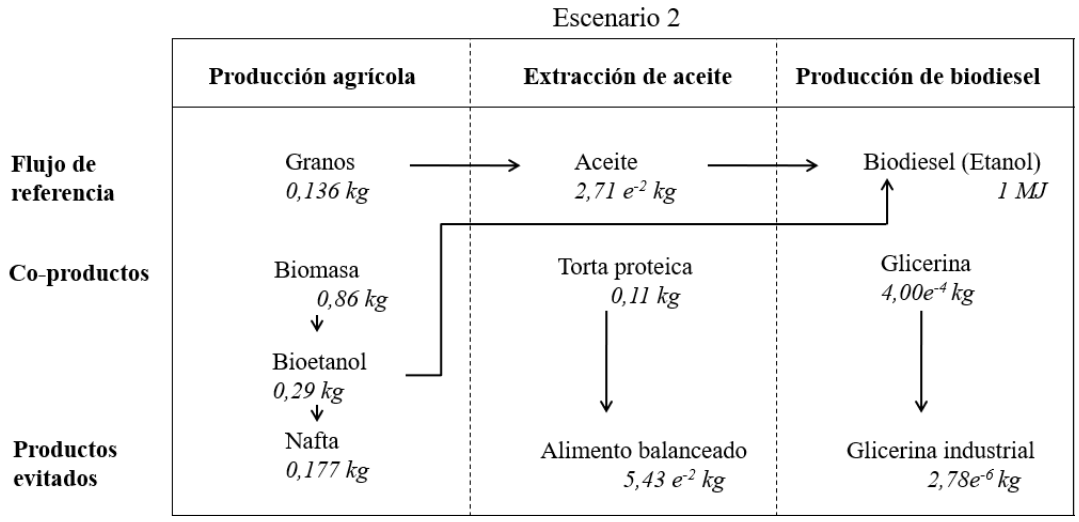
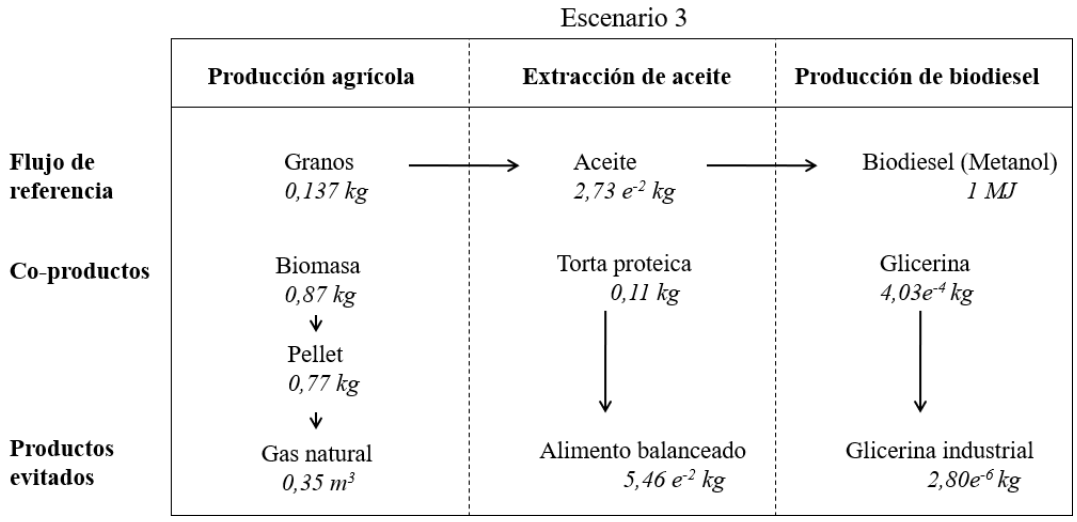


Figura 43: Sistema analizado en el escenario 3



Para el cálculo del flujo de referencia asociado a la unidad funcional y de la cantidad de productos evitados, se consideraron los siguientes valores (Tabla 17):

Tabla 17: Valores utilizados para el análisis de ciclo de vida. PCI (Poder calorífico inferior).

Combustibles	**PCI**	**Densidad**
Biodiesel con metanol	37,2 MJ kg^{-1}	0,88 kg L^{-1}
Biodiesel con etanol	37,4 MJ kg^{-1}	0,89 kg L^{-1}
Bioetanol	27 MJ kg^{-1}	0,79 kg L^{-1}
Nafta	44 MJ kg^{-1}	0,73 kg L^{-1}
Pelet	16 MJ kg^{-1}	0,63 kg L^{-1}
Gas natural	47,1 MJ kg^{-1}	0,74 kg m^{-3}

El poder calorífico inferior (PCI) de los ésteres metílicos y etílicos se estimó a partir de los valores de poder calorífico superior (PCS) reportados por Encinar et al. (2002) para biodiésel obtenido a partir de cardo, correspondientes a 39,8 MJ kg^{-1} para los ésteres metílicos y 40,0 MJ kg^{-1} para los ésteres etílicos. Para la conversión de PCS a PCI se consideró el contenido de hidrógeno de los ésteres, estimado a partir del perfil de ácidos grasos determinado experimentalmente para el aceite de cardo. A partir de dicha composición se obtuvieron contenidos de hidrógeno de aproximadamente 11,90 % para los ésteres metílicos y 12,02 % para los ésteres etílicos. El PCI se calculó mediante la siguiente expresión:

Ecuación 21: Cálculo del poder calorífico inferior a partir del valor del poder caloriífico superior.

$$PCI = PCS - 2{,}454(9H + W)$$

Donde:

- H corresponde a la fracción másica de hidrógeno del combustible y
- W corresponde a la fracción másica de agua. Debido al bajo contenido de humedad del biodiésel, su contribución al cálculo fue mínima.

Los valores de densidad de ambos biodieseles como del pelet fueron obtenidos experimentalmente en esta tesis y se presentan en el capítulo dedicado a biodiésel y combustibles sólidos respectivamente. Los valores de PCI de la nafta y del gas natural

fueron extraídos de la página oficial de YPF (2025); y sus respectivas densidades fueron obtenidas de YPF (2022) y de Gonzáles (2024). La densidad del gas natural (0,74 kg m^{-3}) corresponde a condiciones estándar (15 °C y 1 atm).

En relación con la torta proteica, se consideraron contenido de proteínas del 20 % para el cardo y del 40 % para la soja, de acuerdo a Graikou et al. (2021) y Guo et al. (2022) respectivamente. La sustitución se estableció sobre la base de un aporte equivalente de proteína, considerando que 1 kg de torta de cardo reemplaza a 0,5 kg de torta de soja. Mediante la expansión del sistema, se descontó la demanda de energía fósil asociada a la producción de la cantidad de torta de soja sustituida. Los consumos correspondientes a la obtención de la torta de cardo se contabilizaron dentro de las etapas de cultivo y extracción del aceite.

2.1.2.2.Análisis de inventario

Etapa I: Producción agrícola

Tal como se muestra en las Figuras 41, 42 y 43, la producción de 1 MJ de biodiésel requiere aproximadamente 0,137 kg de granos de cardo en los escenarios que emplean metanol (Esc.1 y Esc. 3) y 0,136 kg en el escenario que utiliza etanol (Esc. 2). Esta ligera diferencia se relaciona con los distintos valores de poder calorífico inferior (PCI) de los ésteres metílicos y etílicos, considerados para expresar los sistemas en función de la misma unidad funcional de energía. Las labores agrícolas incluyeron la siembra, fertilización y cosecha de granos, realizándose una única aplicación de fertilizante nitrogenado (urea), al momento de la siembra. El impacto de la maquinaria se cuantificó a partir del consumo de gasoil consumido en cada operación. Los inventarios de producción de granos correspondientes a los tres escenarios se presentan en la Tabla 18.

Tabla 18: Inventario de la producción de granos de cardo para los escenarios de obtención de biodiésel mediante metanol y etanol.

Tipo de flujo	Flujo	Ruta metanolica	Ruta etanolica	Unidad
Producto	Granos	0,137	0,136	Kg
Coproducto	Biomasa	0,870	0,865	Kg
Insumos	Semillas	$5{,}38 \times 10^{-5}$	$5{,}34 \times 10^{-5}$	Kg
	Fertilizante	$1{,}05 \times 10^{-3}$	$1{,}04 \times 10^{-3}$	Kg
	Gasoil	$5{,}99 \times 10^{-4}$	$5{,}95 \times 10^{-4}$	Kg

En esta etapa del estudio se generó, en promedio para los tres escenarios, 0,865 kg de biomasa residual por MJ de biodiesel producido. Esta biomasa, compuesta principalmente por hojas y tallos, se consideró como insumo potencial para la generación de dos co-productos (bioetanol y pelets) en función de su posible aprovechamiento en diferentes procesos productivos (nafta y gas natural evitados). Para evaluar la viabilidad de los tres escenarios planteados, fue necesario determinar las entradas y salidas de cada proceso, así como cuantificar las cantidades involucradas, con el fin de optimizar su rendimiento y sostenibilidad.

Como proceso común a ambos co-productos, se consideró la producción de rollos, asumiendo una pérdida del 5 % del material. El consumo de gasoil asociado a la fabricación de 1,18 $x10^{-3}$ y 1,17 $x10^{-3}$ rollos (equivalente al 95 % de 0,87 y 0,86 kg de biomasa obtenido en la ruta metanólica y etanólica respectivamente) se detallan en la Tabla 19. Los datos de consumo de gasoil fueron obtenidos de la revista Márgenes agropecuarios del mes de julio del año 2025, considerando rendimientos promedio de biomasa residual obtenidos en esta tesis (19 t ha^{-1}).

Tabla 19:Inventario de la etapa de campo del sistema de producción de biodiésel (1 MJ) para la ruta con metanol y etanol

Tipo de flujo	Flujo	Ruta metanolica	Ruta etanolica	Unidad
Producto	Rollos	1,18 x 10^{-3}	1,17 x 10^{-3}	Rollos
Insumos	Diésel - cortadora	6,25 x 10^{-3}	5,88 x 10^{-3}	L
	Diésel - hileradora	2,32 v 10^{-3}	2,19 x 10^{-3}	L
	Diésel - rotoenfardadora	1,10 x 10^{-3}	1,04 x 10^{-3}	L
	Biomasa	0,87	0,86	Kg

Por cada MJ de ésteres metílicos producidos, se obtiene un subproducto equivalente a 1,18$x10^{-3}$ rollos, capaz de generar 0,248 kg de bioetanol, mientras que para los ésteres etílicos se obtienen 1,17$x10^{-3}$ rollos, equivalentes a 0,245 kg de bioetanol. Estos valores se calcularon a partir del cálculo teórico de etanol, utilizando las siguientes ecuaciones (Ec.22; Ec.23 y Ec.24), (Gnansounou y Dauriat, 2010):

Ecuación 22: Etanol teórico obtenido a partir de celulosa expresado en kg tn de biomasa

$$EtOHC6 = \left(\frac{\%\ Celulosa}{100}\right) * 1{,}111 * 1000 *\ 0{,}511$$

Ecuación 23: Etanol teórico obtenido a partir de hemicelulosa expresado en kg tn de biomasa

$$EtOHC5 = \left(\frac{\%\ Hemicelulosa}{100}\right) * 1{,}136 * 1000 *\ 0{,}511$$

Ecuación 24: Etanol teórico total expresado en kg tn de biomasa

$$EtOHtotal = (EtOHC6 +\ EtOHC5) * 0{,}85$$

Donde:

- EtOHC6, EtOHC5 y EtO total: Etanol teórico obtenido a partir de celulosa, hemicelulosa y el etanol teórico total.
- % Celulosa y % Hemicelulosa: fracción de celulosa (46 %) y hemicelulosa (16%) en la biomasa en base seca. (valores obtenidos en esta tesis, sobre biomasa senescente (Capítulo 3)).
- 1,111 y 1,136: factores de conversión de celulosa a glucosa; y de xilano a xilosa respectivamente.
- 1000: kg por tonelada.
- 0,511: rendimiento estequiométrico de transformar el azúcar a etanol.
- 0,85: Eficiencia de las etapas de pretratamiento químico, hidrólisis enzimática y fermentación alcohólica. Este valor se adoptó en línea con el esquema propuesto por Luo et al. (2009) para rastrojo de maíz. En este contexto, una eficiencia global del 85 % se considera consistente con condiciones de operación realistas para procesos de etanol lignocelulósico basados en pretratamientos químicos.

La fracción estructural de la biomasa se caracterizó mediante el contenido de celulosa y hemicelulosa, expresados en base seca. Estos valores fueron determinados mediante el método de Van Soest, cuyos resultados se presentan en el capítulo correspondiente a la producción de bioetanol.

Los flujos de entrada y salida, correspondientes a los balances de materia y energía de las rutas metanólica y etanólica, se presentan en la Tabla 20. Para la estimación de estos valores se tomó como referencia el proceso industrial de producción de bioetanol

descripto por Luo et al. (2009). Dicho proceso incluye un pretratamiento químico orientado a la degradación de lignina y hemicelulosa. Si bien en el presente trabajo (Capítulo 3) los pretratamientos biológicos resultaron más eficientes en términos de liberación de azúcares, no se disponía de información detallada sobre sus requerimientos energéticos. Por esta razón, no fue posible calcular para ellos los indicadores de calentamiento global ni de demanda energética, por lo que se empleó el proceso químico como base para la modelización del análisis de ciclo de vida.

Tabla 20: Inventario adaptado de Luo et al. (2009) para la producción de 0,268 y 0,265 kg de bioetanol cantidad obtenida al producir 1 MJ de biodiésel con metanol y etanol respectivamente.

Proceso	**Flujo**	**Ruta**	**Ruta**	**Unidad**
Flujos principales	Bioetanol	0,268	0,265	kg
	CO_2	0,255	0,252	kg
Insumo	Rollo	0,826	0,815	kg
Pretratamiento e hidrólisis	Vapor	1,43	1,41	MJ
Producción de ácido sulfúrico	Electricidad	$9,85 \times 10^{-2}$	$9,74 \times 10^{-2}$	MJ
	Gas natural	$4,69 \times 10^{-4}$	$4,69 \times 10^{-4}$	MJ
	Diésel	$3,62 \times 10^{-3}$	$3,58 \times 10^{-3}$	MJ
	Fuel oil pesado	$7,72 \times 10^{-3}$	$7,63 \times 10^{-3}$	MJ
Producción de cal	Electricidad	$9,85 \times 10^{-2}$	$9,74 \times 10^{-2}$	MJ
	Gas natural	$4,69 \times 10^{-4}$	$4,64 \times 10^{-4}$	MJ
	Diésel	$1,37 \times 10^{-3}$	$1,35 \times 10^{-3}$	MJ
	Fuel oil liviano	$3,45 \times 10^{-3}$	$3,41 \times 10^{-3}$	MJ
	Fuel oil pesado	$3,88 \times 10^{-2}$	$3,84 \times 10^{-2}$	MJ
	Carbón mineral	$3,62 \times 10^{-2}$	$3,58 \times 10^{-2}$	MJ
Producción de enzimas	Electricidad	0,693	0,685	MJ
Producción de amoníaco	Electricidad	$4,69 \times 10^{-4}$	$4,69 \times 10^{-4}$	MJ
	Gas natural	$3,56 \times 10^{-2}$	$3,52 \times 10^{-2}$	MJ
	Diésel	$4,45 \times 10^{-4}$	$4,40 \times 10^{-4}$	MJ
	Fuel oil pesado	$2,13 \times 10^{-2}$	$2,11 \times 10^{-2}$	MJ

Sacarificación y cofermentación	Electricidad	$6{,}62 \times 10^{-2}$	$6{,}54 \times 10^{-2}$	MJ
Recuperación de producto	Vapor	0,493	0,488	MJ
Tratamiento de agua residual	Electricidad	$5{,}74 \times 10^{-2}$	$5{,}67 \times 10^{-2}$	MJ
Producción de agua caliente	Electricidad	$8{,}80 \times 10^{-2}$	$8{,}71 \times 10^{-2}$	MJ
Transporte		10,72	10,60	tkm

En el tercer escenario se obtuvieron ésteres metílicos (biodiésel convencional), mientras que la biomasa residual se destinó a la producción de pelets, asumiéndose una pérdida del 5 % durante el proceso. El pelet obtenido se consideró sustituto energético del gas natural, permitiendo reemplazar 0,35 m^3 de gas natural. Los inventarios del proceso de peletizado se presentan en la Tabla 22. El consumo energético de los sistemas auxiliares se estimó a partir de Jozzami (2023), quien consideró, con base en el informe técnico de INTI, la energía requerida por operaciones auxiliares del proceso de peletizado, tales como transporte interno, ventiladores, bombas y eliminación de finos. Para representar la infraestructura asociada a la etapa industrial de peletizado se utilizó el proceso correspondiente a una planta de producción de pelets disponible en la base de datos Ecoinvent, siguiendo el inventario empleado por Jozzami (2023). Este flujo representa la fracción de la infraestructura de la planta asignada a la cantidad de pelets considerada en el sistema y, por lo tanto, no corresponde a un consumo energético durante la operación. La infraestructura considerada responde a las características de la planta de referencia definida en Ecoinvent (Wernet et al., 2016).

Tabla 21: Inventario adaptado de Jozami (2023) para la producción de 0,78 kg de pelet cantidad obtenida al producir 1 MJ de biodiésel con metanol.

Tipo de flujo	**Flujo**	**Valor**	**Unidad**
Producto	Pelet	0,78	kg
Insumo	Sistemas auxiliares	$7{,}04 \times 10^{-2}$	MJ
	Peleteado	0,19	MJ
	Molienda	$6{,}13 \times 10^{-2}$	MJ

	Picado	$9{,}01 \times 10^{-2}$	MJ
	Embolsado	$4{,}68 \times 10^{-3}$	MJ
	Polietileno para bolsas	$4{,}68 \times 10^{-3}$	kg
	Rollo	$1{,}16 \times 10^{-3}$	unidad
Insfraestructura	Planta industrial	$1{,}43 \times 10^{-9}$	unidad
Transporte		$4{,}05 \times 10^{-3}$	tkm

Finalmente, el transporte de los granos hacia la planta aceitera se modeló considerando una distancia promedio de 40 km, acorde con la localización de las industrias en el Gran Rosario. El servicio de transporte se expresó en toneladas-kilómetro (tkm), considerando la cantidad de granos requerida en cada ruta (Tabla 22).

Tabla 22: Consumo de gasoil para transportar 0,137 y 0,36 kg de semillas necesarias para la obtención de 1 MJ de biodiésel con metanol y etanol respectivamente.

Tipo de flujo	**Flujo**	**Ruta metanólica**	**Ruta etanólica**	**Unidad**
Insumo	Granos	0,137	0,136	kg
Transporte	Transporte a planta aceitera (40 km)	$5{,}48 \times 10^{-3}$	$5{,}44 \times 10^{-3}$	tkm

Etapa II: Producción de aceite

El complejo agroindustrial argentino, compuesto por 41 plantas, está integrado por grandes firmas agroexportadoras (Cargill, Molinos, Dreyfus, Cofco, AFA, entre otras), destacándose dos plantas de alta capacidad ubicadas en el sur de la provincia de Santa Fe: Renova (30.000 tn día^{-1}), resultado de una asociación entre Viterra y Vicentin, y Terminal 6 (20.000 tn día^{-1}), fruto de una alianza entre AGD y Bunge. Para extraer el aceite a partir de granos oleaginosos, existen diversos métodos, entre los cuales se destacan tres enfoques principales: la extracción por solventes, la extracción mecánica mediante prensas continuas y los métodos combinados que integran ambas técnicas. De estos, la extracción por solventes constituye la tecnología más ampliamente adoptada en la industria oleaginosa argentina, dado su alto rendimiento y eficiencia en la recuperación de aceite. Actualmente, sobre una capacidad total de molienda de aproximadamente

200.000 toneladas diarias a nivel nacional, alrededor de 161.000 toneladas son procesadas mediante el método de extracción por solvente.

En esta tesis se utilizó el método de extracción de aceite por solvente, debido a su alta eficiencia en la recuperación de lípidos y a que representa la tecnología predominante en el sector agroindustrial argentino. La extracción con solventes orgánicos es una práctica ampliamente utilizada y regulada para la obtención de aceites vegetales a escala industrial, siendo referida incluso en marcos regulatorios como el Reglamento (UE) 2017/1017, donde la extracción por solvente se contempla entre los procesos de obtención de aceites a partir de semillas oleaginosas. El ácido fosfórico incluido en el inventario se emplea en el desgomado del aceite crudo, como parte de su acondicionamiento previo a la producción de biodiésel. Su incorporación facilita la separación de los fosfolípidos no hidratables presentes en el aceite, contribuyendo a reducir su contenido de gomas y fósforo.

Para producir 1 MJ de biodiésel se requieren 2,73 x 10^{-2} 2,71 × 10^{-2} kg de aceite para las rutas metanólica y etanólica respectivamente. Las entradas y salidas correspondientes a la etapa II se detallan en la Tabla 23.

En ambos casos, además del aceite crudo, se obtiene como coproducto una torta proteica, la cual fue incorporada al análisis mediante la metodología de expansión del sistema, considerándose su capacidad para sustituir pelet de soja en la alimentación animal.

Tabla 23: Inventario para la producción de 2,73 x10^{-2} y 2,71 x10^{-2} kg de aceite, cantidad necesaria para producir 1 MJ de biodiésel con metanol y etanol respectivamente.

Tipo de flujo	Flujo	Ruta metanólica	Ruta etanólica	Unidad
Producto	Aceite	2,73 x 10^{-2}	2,71 x 10^{-2}	kg
Coproducto	Torta proteica	0,11	0,11	kg
Insumo	Granos	1,37 x 10^{-1}	1,36 x 10^{-1}	kg
	Hexano	2,99 x 10^{-4}	2,94 x 10^{-4}	kg
	Agua	1,17 x 10^{-2}	1,17 x 10^{-2}	kg
	Ácido fosfórico	2,31 x 10^{-5}	2,30 x 10^{-5}	kg

	Electricidad	4,38 x 10^{-4}	4,35 x 10^{-4}	kWh
	Calor industrial	2,23 x 10^{-2}	2,22 x 10^{-2}	MJ

Etapa III: Producción biodiésel

Tal como se mencionó con anterioridad, en este ensayo se plantearon dos alternativas tecnológicas para la producción de biodiesel: (i) la transesterificación convencional utilizando metanol como solvente y (ii) la transesterificación utilizando el bioetanol obtenido a partir de la biomasa residual del cultivo de cardo.

Ambos procesos se modelaron bajo condiciones representativas de esquemas industriales convencionales. Las entradas y salidas correspondientes se presentan en la Tabla 24.

Tabla 24: Inventario para la producción de 2,69 x10^{-2} y 2,67 x 10^{-2} kg de, cantidad que contienen 1 MJ de biodiésel con metanol y etanol respectivamente.

Tipo de flujo	**Flujo**	**Ruta metanólica**	**Ruta etanólica**	**Unidad**
Producto	Biodiésel	2,69 x 10^{-2}	2,67 x 10^{-2}	kg
Coproducto	Glicerina	4,03 x 10^{-4}	4,00 x 10^{-4}	kg
Insumos	Aceite	2,73 x 10^{-2}	2,71 x 10^{-2}	kg
	Metanol / Etanol	6,18 x 10^{-3}	5,89 x 10^{-3}	kg
	Agua	5,38 x 10^{-3}	5,35 x 10^{-3}	kg
	Metóxido de sodio	2,69 x 10^{-4}	2,67 x 10^{-4}	Kg
	Ácido fosfórico	1,21 x 10^{-4}	1,20 x 10^{-4}	Kg

2.1.3. Evaluación de impacto

Se evaluaron dos categorías de impacto ambiental, seleccionadas por su relevancia en el análisis de sistemas bioenergéticos:

- Consumo de energía: se utilizó como indicador la demanda acumulada de energía no renovable, expresada en MJ MJ^{-1} biodiésel. Para su cuantificación

se aplicó la metodología Cumulative Energy Demand (CED) (Frischknecht et al., 2015).

- Cambio climático: se evaluó utilizando como indicador el potencial de emisiones de gases de efectos invernadero, medidas como kg CO_2 eq MJ^{-1} biodiésel. La evaluación se realizó utilizando la metodología ReCiPe midpoint I (Huijbregts et al., 2017).

Para ambas categorías de impacto, los cálculos se realizaron utilizando el software SimaPro 9.5.0.2, empleando la base de datos (Ecoinvent 3.1, 2014).

2.1.4. Interpretación

Para la interpretación de los resultados se elaboraron gráficos de barras para cada categoría de impacto, a fin de comparar el desempeño ambiental de los escenarios analizados. Además, se evaluó la contribución de las distintas etapas del sistema al impacto total, identificando los procesos con mayor incidencia sobre el consumo de energía y las emisiones de gases de efecto invernadero.

3. RESULTADOS

3.1.Evaluación del impacto del ciclo de vida

3.1.1. Consumo energético

En las Figuras 44, 45 y 46 se presenta el consumo de energía fósil, expresado como MJ de energía no renovable por MJ de biodiésel producido, para los escenarios 1, 2 y 3, respectivamente.

Al considerar exclusivamente la producción de biodiésel, sin incorporar la valorización de la biomasa residual, pero incluyendo los coproductos generados durante el proceso, el balance neto de energía fósil difiere según el alcohol empleado en la transesterificación. En los escenarios 1 y 3, en los que se utiliza metanol, se registra un consumo neto de 0,04 MJ de energía fósil por MJ de biodiésel producido. En cambio, en el escenario 2, donde se emplea bioetanol, se obtiene un consumo evitado de 0,027 MJ por MJ de biodiésel. Estos resultados se relacionan, además, con los créditos asociados a los coproductos del sistema, que sustituyen productos obtenidos mediante procesos alternativos con requerimientos de energía fósil. En los tres escenarios, la torta proteica obtenida durante la extracción del aceite se consideró sustituta de torta de soja, mientras que la glicerina

generada durante la transesterificación se consideró sustituta de glicerina de origen industrial. La sustitución de 0,054 kg de torta de soja representa un crédito energético de 0,24 MJ de energía fósil por MJ de biodiésel producido**.**

Al evaluar el sistema completo y considerar la valorización de la biomasa residual, los tres escenarios presentan consumos netos evitados de energía fósil. Entre los escenarios 1 y 2, en los que la biomasa residual se destina a la producción de bioetanol, el escenario 1 alcanza un consumo evitado de 2,75 MJ de energía fósil por MJ de biodiésel producido, mientras que en el escenario 2 este valor es de 2,61 MJ. Finalmente, el escenario 3, en el que la biomasa residual se destina a la producción de pelets que sustituyen gas natural para calefacción, presenta el resultado más favorable, con un consumo evitado de 11,55 MJ de energía fósil por MJ de biodiésel producido.

Figura 44: Diagrama de redes adaptado de SimaPro mostrando la demanda energética acumulada (CED) medida en MJ de energía fósil, para el escenario 1. UF: producción de 1 MJ de biodiésel con metanol

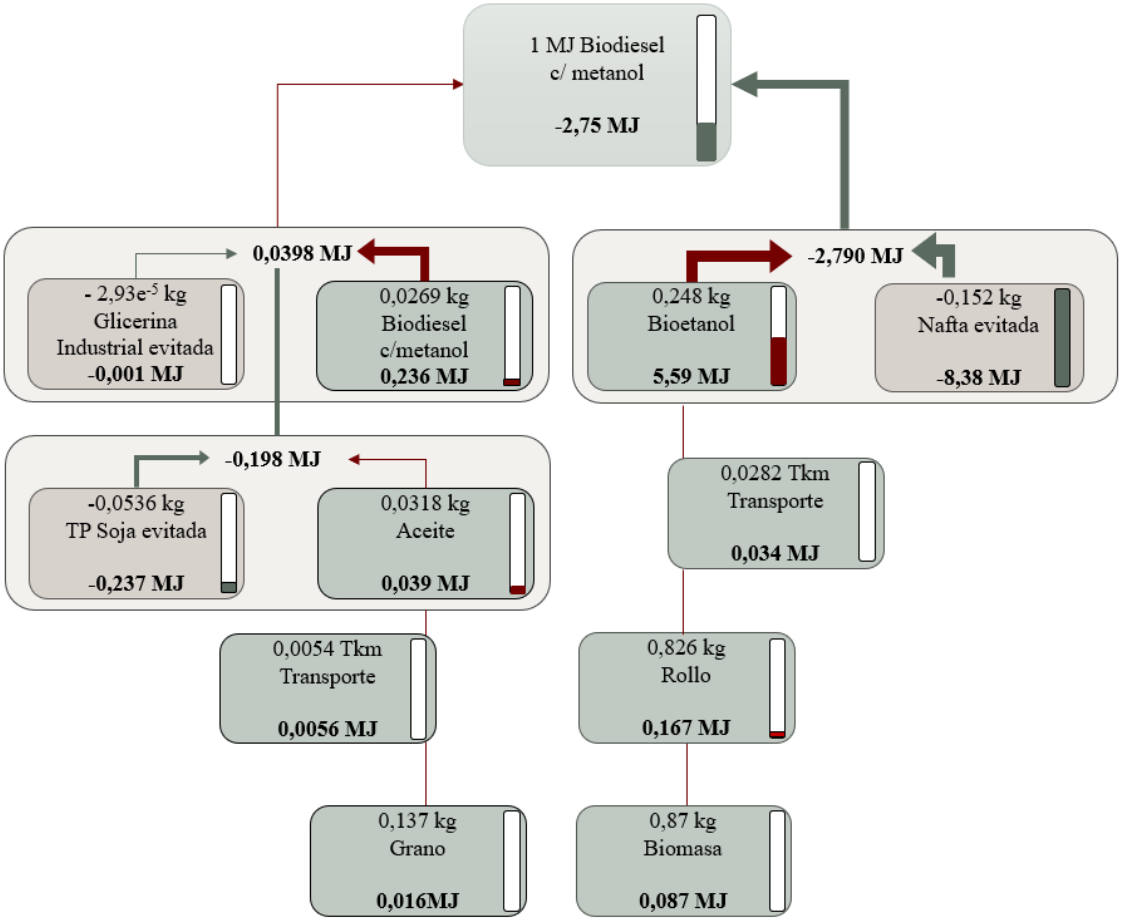


Figura 45: Diagrama de redes adaptado de SimaPro mostrando la demanda energética acumulada (CED) medida en MJ de energía fósil, para el escenario 2. UF: producción de 1 MJ de biodiésel con etanol

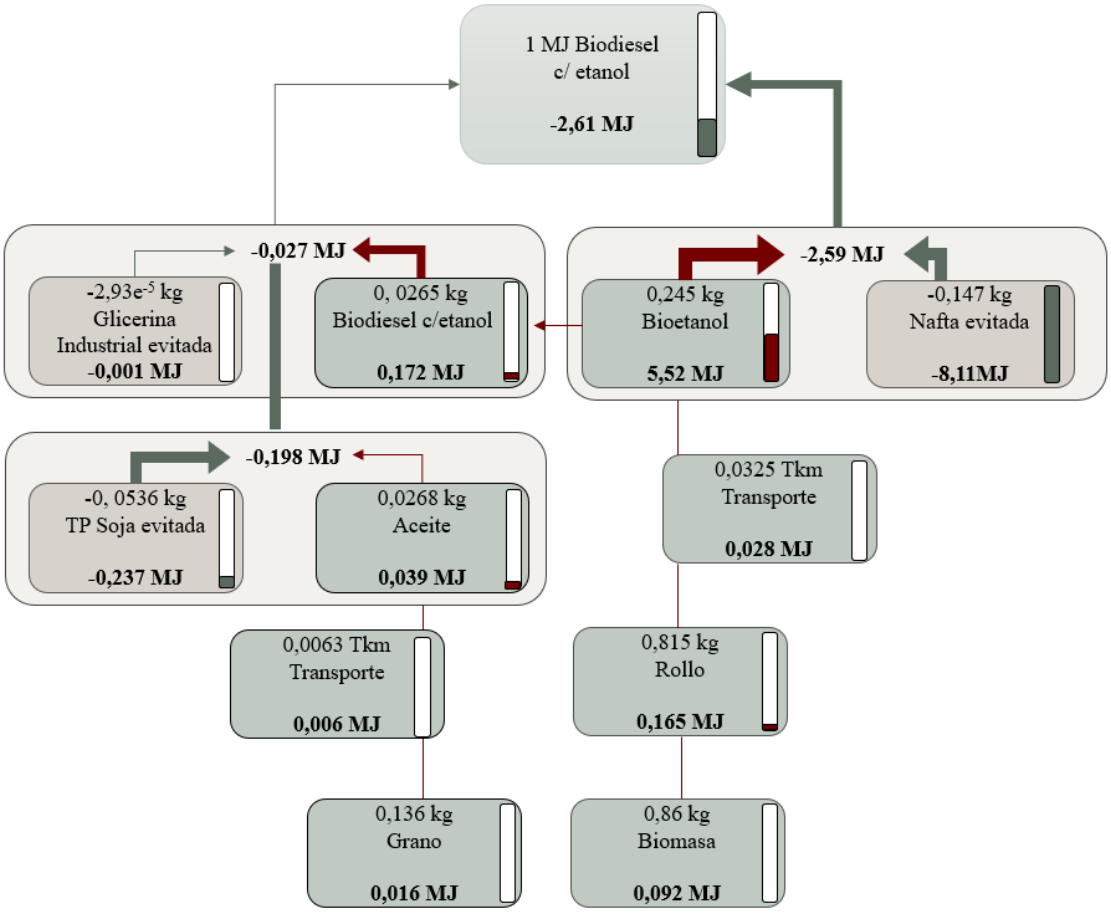
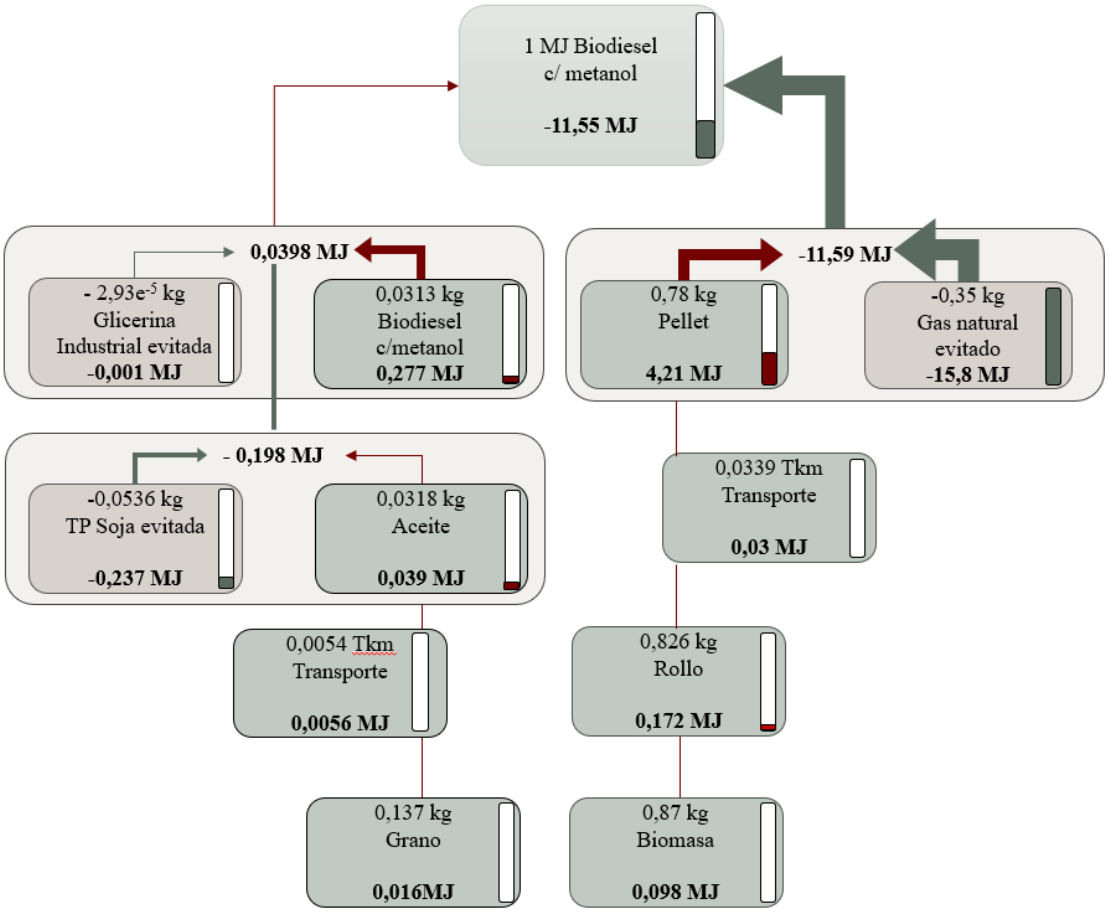


Figura 46: Diagrama de redes adaptado de SimaPro mostrando la demanda energética acumulada (CED) medida en MJ de energía fósil, para el escenario 3. UF: producción de 1 MJ de biodiésel con metanol



3.1.2. Calentamiento global

En las Figuras 47, 48 y 49 se presentan las emisiones de gases de efecto invernadero, expresadas como kg de CO_2 equivalente por MJ de biodiésel producido, para los escenarios 1, 2 y 3, respectivamente.

Al considerar únicamente la producción de biodiésel y los coproductos asociados a su obtención, los tres escenarios presentan un balance neto favorable en términos de calentamiento global. Las rutas metanólicas (Esc. 1 y 3) permiten evitar 0,214 kg CO_2 eq por MJ de biodiésel producido, mientras que la ruta etanólica (Esc. 2) presenta un valor muy similar, de 0,210 kg CO_2 eq evitados. Por lo tanto, las diferencias entre ambas rutas en esta etapa son reducidas.

Cuando se incorpora la valorización de la biomasa residual mediante la producción de bioetanol, el beneficio asociado a las emisiones evitadas se reduce en los escenarios 1 y 2. La producción de bioetanol genera 0,495 y 0,467 kg CO_2 eq por MJ de biodiésel en los escenarios 1 y 2, respectivamente, mientras que su utilización como sustituto de la nafta permite evitar 0,405 y 0,401 kg CO_2 eq. En consecuencia, en ambos escenarios las emisiones asociadas a la producción de bioetanol son superiores a los créditos obtenidos por la sustitución de nafta, reduciendo parcialmente el beneficio ambiental observado para la producción de biodiésel considerada de manera aislada.

En el escenario 3, la valorización de la biomasa residual mediante la producción de pelets mejora el desempeño ambiental del sistema respecto de la producción de biodiésel considerada de manera aislada, alcanzando un balance neto de 0,384 kg CO_2 eq por MJ de biodiésel producido. Este resultado se debe a que las emisiones asociadas a la producción de pelets (0,226 kg CO_2 eq) son ampliamente compensadas por el crédito derivado de la sustitución de gas natural para calefacción domiciliaria (0,397 kg CO_2 eq).

Figura 47: Diagrama de redes adaptado de SimaPro mostrando el potencial de calentamiento global, medido como kg CO2 equivalente para el escenario 1. UF: producción de 1 MJ de biodiésel con metanol

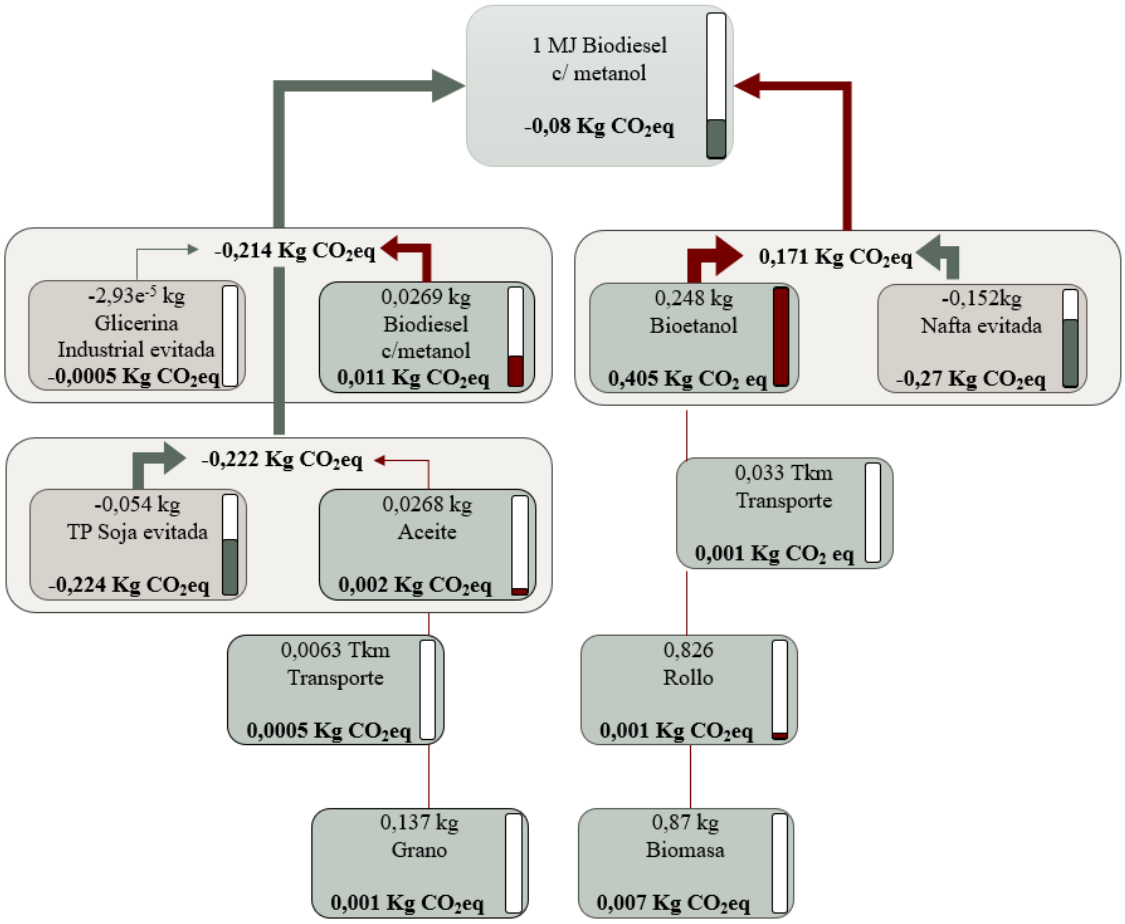


Figura 48: Diagrama de redes adaptado de SimaPro mostrando el potencial de calentamiento global, medido como kg CO2 equivalente para el escenario 2. UF: producción de 1 MJ de biodiésel con etanol

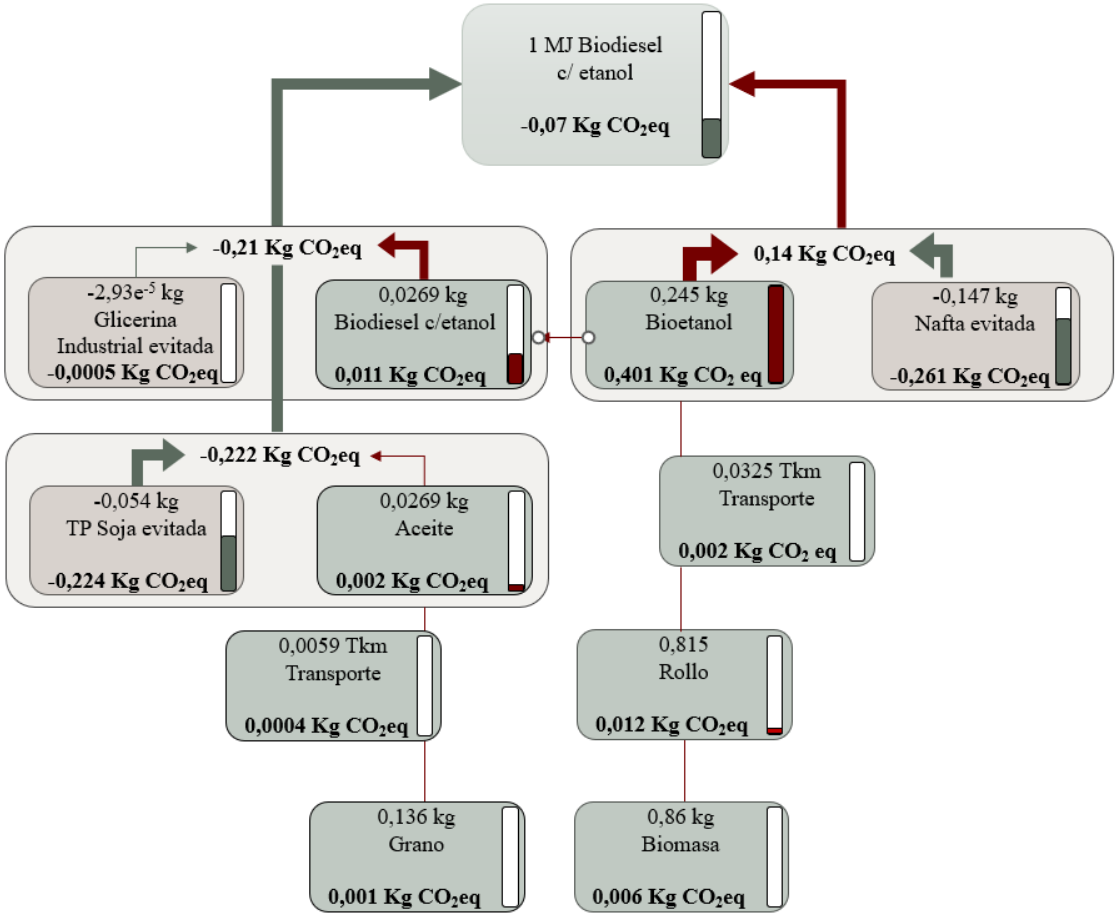
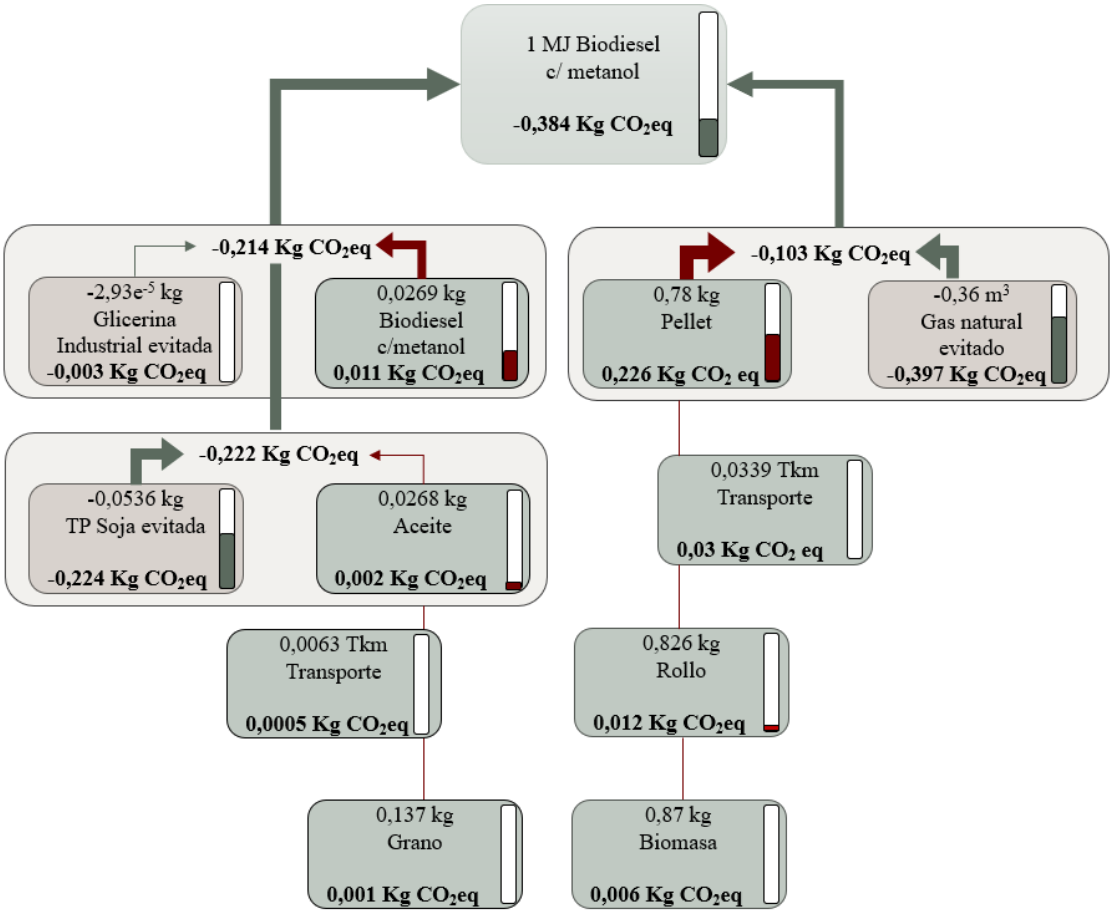


Figura 49: Diagrama de redes adaptado de SimaPro mostrando el potencial de calentamiento global, medido como kg CO2 equivalente para el escenario 3. UF: producción de 1 MJ de biodiésel con metanol



3.2.Interpretación

Mediante el análisis de ciclo de vida (ACV) se compararon tres escenarios de uso potencial del cultivo de cardo para la producción de biodiesel, considerando distintos destinos para la biomasa residual. En los tres casos, el objetivo fue producir 1 MJ de biodiésel de cardo, diferenciándose los escenarios en la estrategia de valorización de la biomasa residual. En el escenario 1, la biomasa residual se destinó a la producción de bioetanol, el cual se utilizó en su totalidad como sustituto de nafta. En el Escenario 2, parte del bioetanol producido se destinó a la transesterificación para la obtención del biodiésel, mientras que el resto sustituyó a la nafta. Finalmente, en el escenario 3, la biomasa se utilizó para la producción de pelets destinados a sustituir gas natural en la calefacción domiciliaria.

La comparación entre los tres escenarios, en términos de consumo de energía fósil y de emisiones de gases de efecto invernadero se presentan en las Figuras 50 y 51, respectivamente.

Figura 50: Consumo energético medido en MJ de energía fósil por cada MJ de biodiésel de cardo producido; en cada etapa del proceso

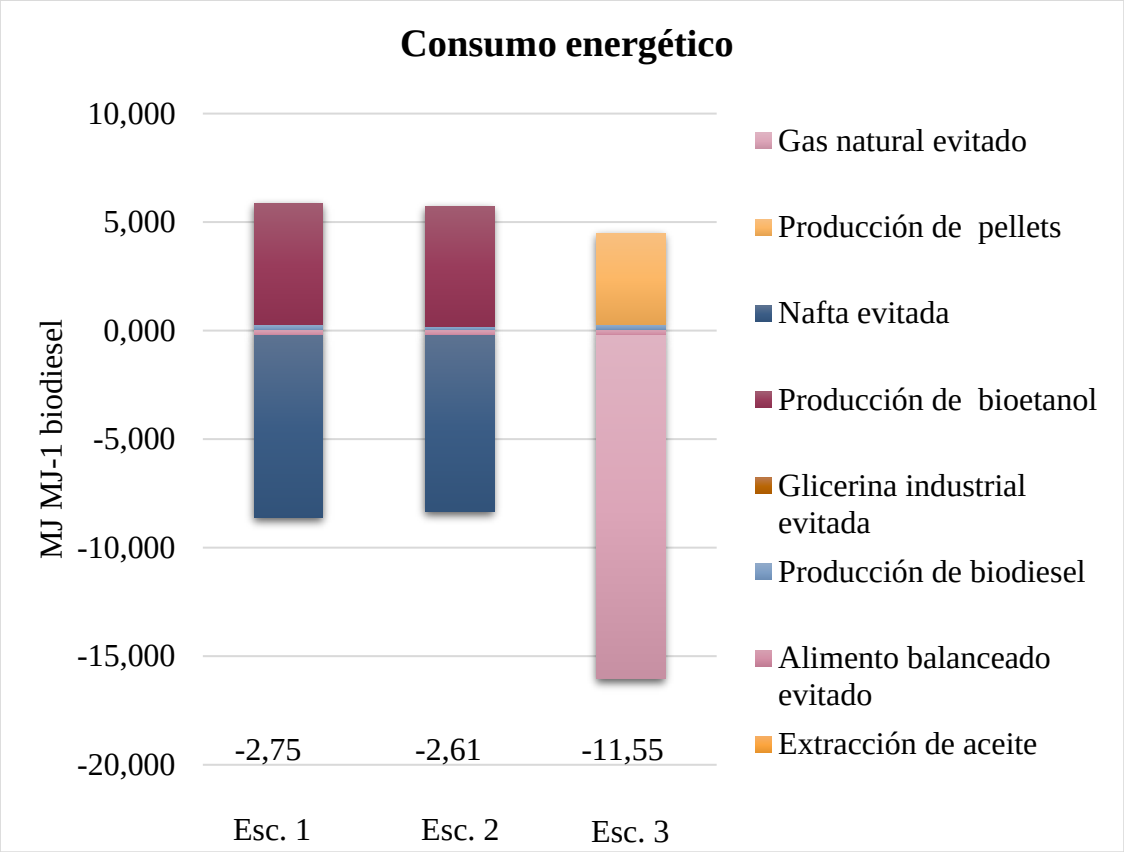
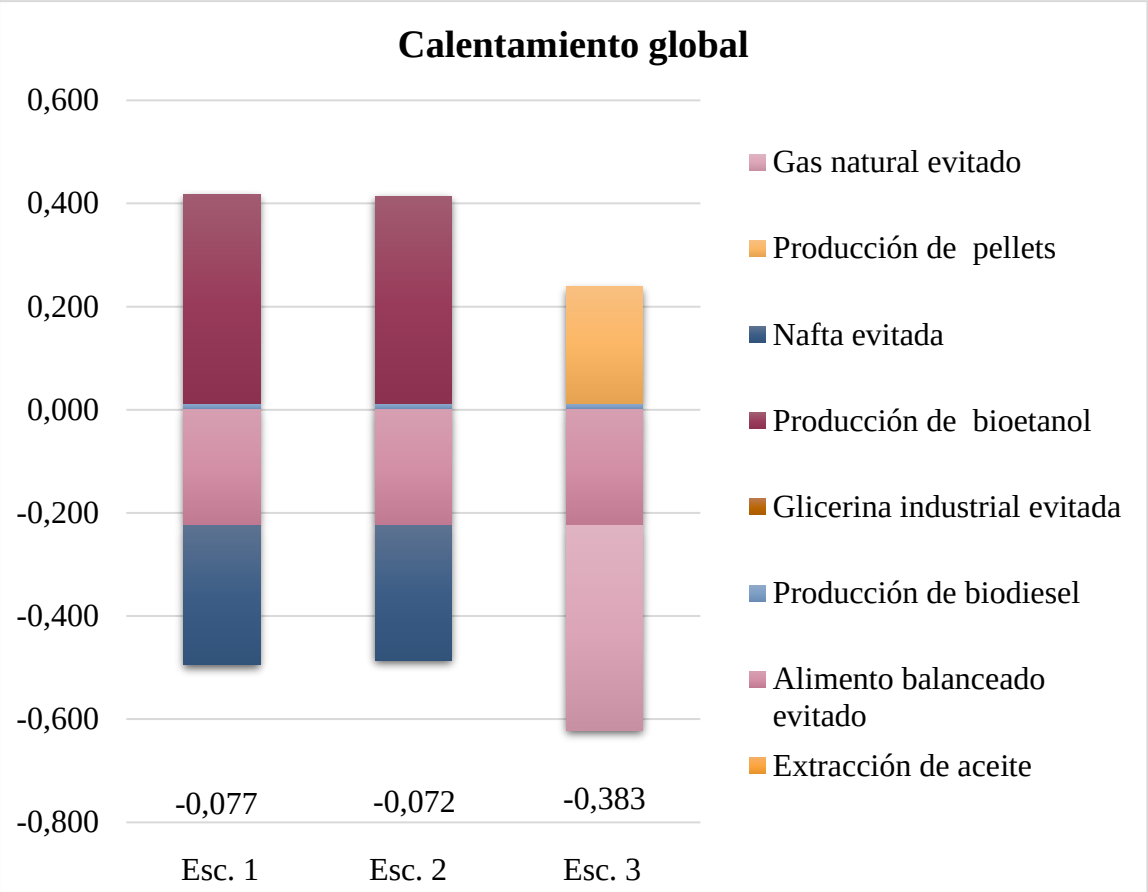


Figura 51: Calentamiento global medido en kg CO2 eq por cada MJ de biodiésel de cardo producido; en cada etapa del proceso



4. DISCUSIÓN

Los tres escenarios evaluados presentan valores negativos tanto en el consumo de energía fósil como en las emisiones de CO_2 equivalente. Esto refleja un desempeño ambiental más favorable que el del diésel fósil convencional, el cual presenta 1,25 MJ de energía fósil consumida y emisiones de 0,03 kg CO_2 eq por cada MJ producido. Estos valores de referencia para el diésel fueron obtenidos de la base de datos Ecoinvent 3.1 (2014) y calculados bajo las mismas metodologías aplicadas en este estudio (DEC para energía fósil y ReCiPe para calentamiento global), garantizando así una comparación metodológicamente consistente.

La incorporación de la valorización energética de la biomasa residual, ya sea mediante la producción de bioetanol o de pelets, modifica sustancialmente los consumos energéticos netos y las emisiones de CO_2 equivalente del sistema, debido a que el contenido

energético del rastrojo disponible constituye un flujo dominante frente al asociado a la producción de biodiésel.

En términos de **consumo energético**, al considerar únicamente la producción de biodiésel y sin incorporar la valorización de la biomasa residual, la ruta etílica presenta un desempeño más favorable que la metílica. En los escenarios 1 y 3, donde se emplea metanol, el sistema consume 0,04 MJ de energía fósil por MJ de biodiésel producido, mientras que en el escenario 2, basado en etanol lignocelulósico, se evita 0,027 MJ. Esta diferencia se explica principalmente por el menor requerimiento energético del etanol lignocelulósico (19,52 MJ kg^{-1}) frente al metanol de origen fósil (33,04 MJ kg^{-1}) (Ecoinvent 3.1, 2014), así como por el carácter renovable del etanol, cuyo proceso de producción puede cubrir gran parte de su demanda térmica y eléctrica mediante la combustión de la fracción lignificada de la biomasa, reduciendo la dependencia de energía fósil (Kemppainen y Shonnard, 2008). En contraste, la síntesis industrial de metanol depende mayoritariamente del gas natural, lo que conduce a intensidades fósiles significativamente mayores (Sutar y Jadhav, 2022; Masum et al., 2025).

Los balances energéticos negativos observados en los tres escenarios se explican por los créditos ambientales asociados a los procesos evitados mediante la generación de coproductos, que compensan la energía fósil consumida a lo largo del sistema. En esta tesis se aplicó la expansión del sistema mediante el método de producto evitado, conforme a la norma ISO 14044 (2006), descontando de las cargas del biodiésel aquellas asociadas a los productos sustituidos. En este contexto, los principales coproductos considerados fueron la torta proteica, modelada como sustituto parcial de harina de soja en la alimentación animal, y la glicerina cruda, considerada reemplazo de glicerina convencional de origen fósil. Dado que la producción de harina de soja presenta una mayor intensidad energética que la de glicerina, su sustitución genera reducciones de impacto que pueden superar los consumos propios del proceso de transesterificación. Asimismo, la nafta (escenarios 1 y 2) y el gas natural (escenario 3) constituyen productos evitados de elevada influencia sobre los resultados. La contribución de los coproductos a la mejora de los balances energéticos y climáticos ha sido ampliamente documentada en estudios de ACV de biodiésel, los cuales demuestran que la expansión del sistema puede reducir significativamente el consumo de energía fósil y las emisiones de GEI, e incluso invertir el balance energético neto (Hill et al., 2006; Huo et al., 2009; Morais et al., 2010; Rajaeifar et al., 2014). Estos antecedentes concuerdan con los resultados obtenidos en

esta tesis, donde la sustitución de harina de soja, glicerina industrial, nafta y gas natural contribuye de manera determinante a los balances energéticos negativos observados.

Al analizar el sistema completo en los escenarios que incluyen la valorización de la biomasa residual, se observa un cambio en los consumos energéticos netos al comparar los escenarios 1 y 2. El escenario 2 presenta un balance de energía fósil menos favorable que el escenario 1 (-2,61 MJ frente a -2,75 MJ), lo que indica un menor ahorro neto de energía fósil. Esta diferencia se explica principalmente por el uso y destino final del bioetanol producido. En el escenario 1 la totalidad del bioetanol generado se destina a sustituir nafta, maximizando el ahorro de energía fósil. En cambio, en el escenario 2, una fracción del bioetanol obtenido se utiliza como reactivo en la transesterificación, reduciendo la cantidad disponible para sustituir nafta y, en consecuencia, el beneficio energético asociado al producto evitado.

Por otro lado, el escenario 3, en el cual la biomasa residual se destina a la producción de pelets para sustituir gas natural, presenta el mejor desempeño energético, con un ahorro de energía fósil de -11,55 MJ. Este resultado se explica por la sustitución de un combustible fósil de alta intensidad energética y por la elevada eficiencia térmica de los sistemas modernos de combustión de pelets. Diversos estudios muestran que los pelets obtenidos a partir de residuos lignocelulósicos presentan balances energéticos favorables, ya que la energía fósil requerida para su procesamiento resulta moderada en comparación con la energía útil obtenida durante su combustión (Cherubini y Strømman, 2011). En conjunto, esta evidencia respalda que la valorización energética de la biomasa residual en forma de pelets constituye, en muchos contextos, una alternativa más eficiente desde el punto de vista energético y ambiental que su transformación en biocombustibles líquidos.

En cuanto al **calentamiento global**, la producción de biodiésel de cardo, considerando los coproductos generados pero sin incorporar la valorización de la biomasa residual, presenta valores netos de -0,214 kg CO_2 eq en los escenarios 1 y 3, y de -0,21 kg CO_2 eq en el escenario 2, valores muy inferiores a los 0,03 kg CO_2 eq emitidos por el diésel fósil (Ecoinvent 3.1, 2014). Al igual que en el análisis energético, los balances climáticos negativos obtenidos en los tres escenarios se explican principalmente al efecto de los productos evitados, más que a iferencias asociadas a la ruta de producción en la producción de biodiésel. Este comportamiento ha sido ampliamente documentado en evaluaciones de ciclo de vida de biodiésel, donde la sustitución de coproductos puede

incluso dominar el resultado final del inventario (Suh y Huppes, 2005; Huo et al., 2009; Cherubini y Strømman, 2011; Jeswani et al., 2020).

No obstante, al incorporar la valorización de la biomasa residual mediante la producción de bioetanol (escenarios 1 y 2), el beneficio climático se ve reducido respecto del caso en el que el biodiésel se considera sin el aprovechamiento alternativo de la biomasa, debido a las emisiones asociadas a dicha cadena productiva, obteniéndose valores totales de -0,08 kg CO_2 eq y -0,07 kg CO_2 eq, respectivamente. A pesar de esta reducción, ambos escenarios continúan mostrando un desempeño ambiental positivo y superior al del diésel fósil. En los ensayos realizados en esta tesis (Capítulo 3), el pretratamiento biológico demostró ser más eficiente en términos de liberación de azúcares y potencial de conversión a etanol. Sin embargo, al no disponer de información sobre los consumos energéticos ni las emisiones asociadas a este tipo de pretratamiento, el inventario del ACV se construyó utilizando datos correspondientes a un pretratamiento químico (Luo et al., 2009), caracterizado por requerimientos de energía térmica e insumos químicos. Como línea futura de investigación, sería necesario cuantificar los requerimientos energéticos y las emisiones asociadas a pretratamientos biológicos a escala piloto o semiindustrial, lo que permitiría comparar ambas alternativas desde una perspectiva de ciclo de vida. De confirmarse que las ventajas observadas a nivel experimental se acompañan de menores requerimientos energéticos y ambientales, el empleo de pretratamientos biológicos podría mejorar el desempeño ambiental del bioetanol lignocelulósico.

Por otro lado, el escenario 3, en el que la biomasa residual se valoriza mediante la producción de pelets, presenta la mayor reducción de emisiones, evitando 0,384 kg CO_2 eq por MJ de biodiésel producido. En conjunto, los tres escenarios muestran un desempeño climático más favorable que el diésel convencional, aunque la magnitud del beneficio depende del destino asignado a la biomasa residual. Esta tendencia coincide con estudios de ACV de biodiésel de soja y otros aceites vegetales que han reportado reducciones importantes en el consumo de energía fósil y en las emisiones de GEI respecto del diésel derivado del petróleo (Huo et al., 2009; National Renewable Energy Laboratory, 2010; Argonne National Laboratory, 2018). Asimismo, distintos análisis han señalado que la valorización de coproductos y residuos puede mejorar sustancialmente el desempeño energético y climático de los sistemas de biocombustibles (Suh y Huppes, 2005; Jeswani et al., 2020).

En los escenarios 1 y 2, el desempeño ambiental resulta del balance entre las cargas asociadas a la producción de los insumos utilizados y los beneficios derivados de la sustitución de combustibles fósiles. La diferencia entre ambos escenarios se relaciona principalmente con el destino del bioetanol producido a partir de la biomasa residual. En el escenario 1, la totalidad del bioetanol se destina a sustituir nafta, mientras que en el escenario 2 una fracción se utiliza como reactivo en la transesterificación, reduciendo la cantidad disponible para dicha sustitución (0,147 kg frente a 0,152 kg en el escenario 1), y, en consecuencia, el crédito ambiental asociado. A ello se suma que, en el inventario considerado, la producción de etanol lignocelulósico de cardo presenta emisiones de 1,68 kg CO_2 eq kg^{-1}, ligeramente superiores a las del metanol de origen fósil (1,63 kg CO_2 eq kg^{-1}, ecoinvent 3.1).

En este sentido, si bien el etanol lignocelulósico presenta un menor consumo de energía fósil que el metanol, genera mayores emisiones de GEI por kilogramo de producto. A pesar de los bajos impactos de la etapa agrícola del cardo, la mayor parte de las emisiones del bioetanol se originan en el proceso industrial (pretratamiento, hidrólisis, fermentación y destilación), caracterizado por elevados requerimientos de vapor, electricidad y uso de insumos con altos factores de emisión. En contraste, la producción petroquímica de metanol, aunque más intensiva en energía fósil (33,04 MJ kg^{-1}), presenta menores emisiones de GEI por kilogramo (1,08 kg CO_2 eq), debido a su alta eficiencia y a la ausencia de emisiones adicionales asociadas a fermentación o N_2O del suelo, en concordancia con lo reportado en estudios de ACV previos (Morales et al., 2015; Gerbrandt et al., 2016).

El escenario 3, en cambio, muestra un desempeño superior porque el uso de pelets permite desplazar directamente un combustible fósil de alta intensidad de carbono, en este caso, gas natural, maximizando los beneficios asociados al método de producto evitado. Aunque la producción de pelets genera emisiones asociadas al secado, molienda y peletización (0,226 kg CO_2 eq), la sustitución del gas natural evita -0,397 kg CO_2 eq, resultando en un balance neto altamente favorable. Este comportamiento coincide con estudios previos que muestran que los biocombustibles sólidos destinados a usos térmicos suelen presentar ventajas ambientales más marcadas frente a los biocombustibles líquidos, debido a su menor complejidad tecnológica y a las menores demandas energéticas de procesamiento (Reed et al., 2012; Saosee et al., 2020).

La comparación conjunta de los tres escenarios pone de manifiesto que la incorporación de productos evitados (nafta o gas natural) se convierte en un factor determinante en el balance final de emisiones de GEI. Mientras que en los escenarios que producen bioetanol, el beneficio por sustitución apenas compensa las cargas del proceso, en el escenario de producción de pelets el combustible fósil evitado tiene un peso mayor, ampliando la reducción neta de emisiones. Este patrón confirma que los sistemas en los que la biomasa sustituye directamente combustibles fósiles de uso térmico aprovechan de manera más eficiente el potencial de mitigación de GEI, debido a mayores rendimientos energéticos globales y menores pérdidas asociadas a demandas energéticas internas. Estos resultados son consistentes con estudios que comparan rutas termoquímicas y bioquímicas y señalan que las primeras suelen presentar mayores eficiencias globales cuando la biomasa se destina a generación térmica en lugar de a la obtención de combustibles líquidos (Caputo et al., 2005; Cherubini, 2010). La elección entre estas opciones dependerá también de factores económicos, de infraestructura y de la demanda energética local; sin embargo, desde una perspectiva estrictamente ambiental, el escenario de producción de pelets se posiciona como la mejor alternativa.

Finalmente, distintos estudios de ACV realizados en cardo muestran que el desempeño ambiental depende en gran medida de la ruta de valorización seleccionada. Dufour et al. (2013) evaluaron la producción de biodiésel a partir de aceite de Cynara cardunculus y observaron un balance energético favorable frente a otras materias primas oleaginosas. Cocco et al. (2014), por su parte, analizaron una cadena de aprovechamiento energético que integraba el aceite de las semillas y los residuos del cultivo, y observaron ahorros de energía primaria y disminución en las emisiones de gases de efecto invernadero respecto de la generación de energía a partir de combustibles fósiles, destacando además la contribución del aprovechamiento de los residuos del cultivo. En relación con la producción de bioetanol, Espada et al. (2021) mostraron que el desempeño ambiental estuvo fuertemente condicionado por la tecnología de pretratamiento, con menores requerimientos energéticos para las alternativas basadas en explosión de vapor respecto al tratamiento con ácido diluido. Asimismo, Temporim et al. (2022) evaluaron cadenas de producción de biodiésel y poligeneración a partir de *C. cardunculus*, poniendo de manifiesto la importancia de definir la estrategia de aprovechamiento energético y la distribución de las cargas entre los diferentes productos del sistema.

En conjunto, estos antecedentes respaldan la importancia de considerar el aprovechamiento de las distintas fracciones del cardo y la sustitución de fuentes de energía fósil en la evaluación de su desempeño ambiental. En concordancia con estos estudios, los resultados de la presente tesis muestran que la estrategia de valorización de la biomasa y el tratamiento de los coproductos mediante expansión del sistema pueden modificar sustancialmente el balance ambiental obtenido. No obstante, las diferencias en las unidades funcionales, los límites del sistema, las condiciones productivas, las categorías de impacto y los procedimientos utilizados para resolver la multifuncionalidad limitan la comparación directa de los valores absolutos entre estudios

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican que la producción de biodiésel a partir de cardo presenta un desempeño ambiental favorable frente al diésel fósil bajo las condiciones y supuestos considerados en este estudio. En los tres escenarios evaluados se obtuvieron balances netos negativos de consumo de energía fósil y de emisiones de gases de efecto invernadero, asociados principalmente a los créditos generados por los coproductos y por la valorización de la biomasa residual mediante la expansión del sistema.

Las diferencias entre escenarios reflejan el efecto combinado del tipo de alcohol empleado en la transesterificación y del destino asignado a la biomasa residual. Si bien el etanol lignocelulósico presenta emisiones de GEI ligeramente superiores por kilogramo producido respecto del metanol, su menor requerimiento de energía fósil favorece el balance energético. No obstante, el beneficio global de esta alternativa depende de la cantidad de bioetanol disponible para sustituir nafta y de las cargas ambientales asociadas a su producción.

Entre las alternativas evaluadas, el escenario basado en la conversión de la biomasa residual en pelets para sustituir gas natural presentó el mejor desempeño tanto en consumo de energía fósil como en calentamiento global. Esto evidencia la importancia del destino final de la biomasa residual y del producto fósil desplazado sobre el balance ambiental del sistema. En consecuencia, dentro de los escenarios analizados, la valorización de la biomasa residual mediante la producción de pelets constituyó la alternativa con mayor potencial para maximizar el ahorro de energía fósil y la reducción de emisiones de GEI.

CONCLUSIONES GENERALES

La presente tesis permitió evaluar de manera integral el potencial de *Cynara cardunculus* L. var. *altilis* como cultivo energético multipropósito bajo las condiciones edafoclimáticas del sur de la provincia de Santa Fe, abordando de forma articulada aspectos agronómicos, energéticos, tecnológicos y ambientales. La integración de ensayos a campo, estudios de valorización energética de los granos y de la biomasa, y herramientas de Análisis de Ciclo de Vida (ACV) permitió analizar distintas alternativas de aprovechamiento del cultivo y su posible inserción en sistemas bioenergéticos regionales.

Desde el punto de vista agronómico, los resultados obtenidos mostraron que *C. cardunculus* var. *altilis* incrementa marcadamente su capacidad productiva una vez superada la etapa de establecimiento. Mientras que durante el primer año la producción de biomasa y granos fue limitada, a partir del segundo ciclo de cultivo se registraron aumentos importantes y rendimientos comparables con los informados para otras regiones productoras. Entre los factores de manejo evaluados, la densidad de siembra tuvo una influencia significativa sobre la producción de biomasa y granos, mientras que el sistema de labranza presentó un efecto más moderado. La siembra directa mostró, además, un comportamiento favorable sobre el rendimiento de granos en determinadas condiciones, lo que señala la importancia de continuar evaluando su interacción con las condiciones ambientales y la disponibilidad hídrica.

En relación con el aprovechamiento energético de la biomasa aérea, los resultados demostraron su aptitud técnica para la producción de biocombustibles sólidos. Los ensayos de combustión mostraron un comportamiento térmico estable, con tasas de consumo y temperaturas compatibles con aplicaciones térmicas de pequeña escala. No obstante, el contenido relativamente elevado de cenizas constituye una característica a considerar para su utilización, particularmente en equipos adaptados a biomasas herbáceas o mediante su empleo en mezclas con materiales leñosos. Asimismo, la biomasa de cardo presentó una adecuada respuesta al proceso de peletizado, alcanzando densidades comparables con las informadas para otros biocombustibles sólidos. La optimización de las variables operativas permitió identificar condiciones de procesamiento que favorecieron la densificación del material y la calidad física del producto, mejorando las posibilidades de transporte, almacenamiento y utilización de la biomasa respecto de su empleo en forma suelta.

Por otra parte, la biomasa lignocelulósica de cardo presentó características composicionales adecuadas para su aprovechamiento en la producción de bioetanol de segunda generación. La respuesta al proceso de hidrólisis dependió tanto del estado de la biomasa como del pretratamiento aplicado, observándose una mayor liberación de glucosa con los pretratamientos biológicos basados en secretomas fúngicos respecto del tratamiento químico evaluado. Estos resultados resultan particularmente relevantes porque muestran la posibilidad de aprovechar la biomasa senescente remanente luego de la producción de granos mediante una ruta de conversión complementaria. Sin embargo, la superioridad observada a escala experimental en términos de hidrólisis no permite establecer aún una ventaja ambiental del pretratamiento biológico, por lo que será necesario cuantificar sus requerimientos energéticos y materiales a escalas mayores para evaluar su desempeño mediante ACV.

En cuanto a la valorización de los granos, el contenido y la composición del aceite de cardo confirmaron su aptitud como materia prima para la obtención de biodiésel. Tanto los ésteres metílicos como los etílicos presentaron características compatibles con los parámetros de calidad evaluados, destacándose el comportamiento del biodiésel etílico a bajas temperaturas. La obtención y caracterización de ambas rutas a partir de una misma materia prima permitió, además, incorporar posteriormente estas alternativas dentro de un análisis ambiental integrado del sistema.

La integración de los distintos procesos de valorización mediante ACV mostró que el desempeño ambiental del sistema depende no solo de la producción de biodiésel, sino también de los coproductos generados y, especialmente, del destino asignado a la biomasa residual. Bajo los supuestos de expansión del sistema considerados, los tres escenarios presentaron balances favorables respecto del diésel fósil tanto para el consumo de energía fósil como para las emisiones de gases de efecto invernadero. Las diferencias entre las rutas metanólica y etanólica fueron relativamente reducidas en términos de calentamiento global, mientras que el destino de la biomasa residual produjo cambios de mayor magnitud en el desempeño global del sistema. Entre las alternativas evaluadas, su conversión en pelets para sustituir gas natural presentó el mayor ahorro de energía fósil y la mayor reducción de emisiones de GEI, evidenciando la importancia del producto fósil desplazado sobre los resultados finales del ACV.

Entre los principales aportes originales de esta tesis se destaca la evaluación integrada y plurianual de *C. cardunculus* var. *altilis* como cultivo energético multipropósito,

considerando en un mismo sistema la producción de granos y biomasa y su posterior valorización mediante diferentes rutas bioenergéticas. Los resultados permitieron identificar el efecto de la densidad de siembra sobre la productividad del cultivo, demostrar la elevada respuesta de la biomasa lignocelulósica a pretratamientos biológicos, obtener y caracterizar biodiésel mediante rutas metílica y etílica y comparar ambientalmente distintos destinos de la biomasa residual. Particularmente, el ACV permitió establecer que el destino asignado a dicha biomasa condiciona en mayor medida el desempeño energético y climático global que la elección del alcohol empleado en la transesterificación, siendo su utilización como biocombustible sólido la alternativa más favorable entre las evaluadas.

En conjunto, estos hallazgos permiten concluir que *Cynara cardunculus* L. var. *altilis* presenta un importante potencial como cultivo energético multipropósito bajo las condiciones evaluadas. La posibilidad de combinar la producción de aceite a partir de los granos con diferentes alternativas de valorización de la biomasa aérea permite plantear esquemas de aprovechamiento integral del cultivo. Los resultados muestran, además, que la selección de las prácticas agronómicas y, particularmente, de la ruta de valorización energética constituye un aspecto central para maximizar el aprovechamiento de la biomasa y los beneficios ambientales del sistema.

Finalmente, esta tesis aporta información original sobre el comportamiento agronómico, las alternativas de conversión energética y el desempeño ambiental del cardo en condiciones locales, y establece una base para futuros estudios orientados a optimizar el manejo del cultivo, mejorar los procesos de conversión y evaluar su escalamiento productivo. En este sentido, los resultados amplían el conocimiento disponible sobre el cardo más allá de su adaptación regional, al demostrar las posibilidades y limitaciones de integrar, dentro de un mismo sistema, la producción de biodiésel, bioetanol y biocombustibles sólidos.

PERSPECTIVAS

A partir de los resultados obtenidos, se abren diversas líneas de investigación y desarrollo que podrían profundizar y ampliar el conocimiento generado en esta tesis. En el plano agronómico, futuros estudios podrían orientarse a evaluar el comportamiento del cardo bajo condiciones de estrés abiótico, como salinidad, anegamiento o sequía, y en

ambientes marginales, con el objetivo de delimitar con mayor precisión su plasticidad productiva y su potencial de expansión en regiones con restricciones para cultivos tradicionales.

Desde el punto de vista tecnológico, resulta relevante avanzar en la optimización de los procesos de conversión energética, particularmente en lo referido a la mejora del peletizado y a la reducción del contenido de cenizas mediante mezclas de biomasa o estrategias de acondicionamiento. Asimismo, la profundización en el estudio de pretratamientos biológicos a escala piloto permitiría evaluar su factibilidad técnica y energética bajo condiciones más cercanas a sistemas productivos reales, contribuyendo a reducir la dependencia de insumos químicos y a mejorar el desempeño ambiental del bioetanol de segunda generación.

En el caso del biodiésel, futuras investigaciones podrían focalizarse en la evaluación de blends, en el uso de antioxidantes naturales o en el análisis del comportamiento del combustible en condiciones de uso prolongado, con el fin de fortalecer su inserción en esquemas de producción y consumo a mayor escala.

Finalmente, la ampliación del Análisis de Ciclo de Vida hacia evaluaciones tecnoeconómicas y sociales permitiría integrar dimensiones adicionales de la sustentabilidad, aportando información clave para la toma de decisiones en políticas públicas y en estrategias de desarrollo territorial. En este marco, el cardo se proyecta como un cultivo con potencial para integrarse en sistemas agroenergéticos diversificados, contribuyendo no solo a la transición energética, sino también al desarrollo rural y a la valorización de recursos locales.

REFERENCIAS

- Abelha, P., Franco, C., Pinto, F., Lopes, H., Gulyurtlu, I., Gominho, J., Lourenço, A., Pereira, H. (2013). Thermal Conversion of *Cynara cardunculus* L. and Mixtures with Eucalyptus globulus by Fluidized-Bed Combustion and Gasification. Energy Fuels, 27(11), 6725–6737. https://doi.org/10.1021/ef401246p
- Abreu, M., Silva, L., Ribeiro, B., Ferreira, A., Alves, L., Paixão, S. M., Gouveia, L., Moura, P., Carvalheiro, F., Duarte, L. C., Fernando, A. L., Reis, A., Gírio, F. (2022). Low Indirect Land Use Change (ILUC) Energy Crops to Bioenergy and Biofuels—A Review. Energies, 15(12), 4348. https://doi.org/10.3390/en15124348

- Adapa, P. K., Tabil, L. G., Schoenau, G. J. (2013). Factors affecting pelet quality and energy analysis of peleting process. International Journal of Agricultural and Biological Engineering, 6(2). https://doi.org/10.3965/j.ijabe.20130602.001
- Adapa, P., Tabil, L., Schoenau, G. (2010). Physical and frictional properties of non-treated and steam exploded barley, canola, oat and wheat straw grinds. Powder Technology, 201(3), 230–241. https://doi.org/10.1016/j.powtec.2010.03.038
- Adler, E. (1977). Lignin chemistry: past, present and future. Wood Science and Technology, 11(3), 169–218. https://doi.org/10.1007/BF00365615
- Aggarwal, N. K., Kumar, N., Mittal, M. (2022). Current Trends in Pretreatment Technologies for Bioethanol Production: Biorefinery Concept (pp. 27–45). https://doi.org/10.1007/978-3-031-05091-6_3
- Alexandre, A. M. R. C., Dias, A. M. A., Seabra, I. J., Portugal, A. A. T. G., de Sousa, H. C., Braga, M. E. M. (2012). Biodiesel obtained from supercritical carbon dioxide oil of *Cynara cardunculus* L. The Journal of Supercritical Fluids, 68, 52–63. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2012.03.012
- Aljaafari, A., Fattah, I. M. R., Jahirul, M. I., Gu, Y., Mahlia, T. M. I., Islam, M. A., Islam, M. S. (2022). Biodiesel Emissions: A State-of-the-Art Review on Health and Environmental Impacts. Energies, 15(18), 6854. https://doi.org/10.3390/en15186854
- Almeida, E. S., Portela, F. M., Sousa, R. M. F., Daniel, D., Terrones, M. G. H., Richter, E. M., Muñoz, R. A. A. (2011). Behaviour of the antioxidant tert-butylhydroquinone on the storage stability and corrosive character of biodiesel. Fuel, 90(11), 3480–3484. https://doi.org/10.1016/J.FUEL.2011.06.056
- Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M., Negro, M. J. (2010). Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. Bioresource Technology, 101(13), 4851–4861. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.093
- Angelini, L. G., Ceccarini, L., Nassi o Di Nasso, N., Bonari, E. (2009). Long-term evaluation of biomass production and quality of two cardoon (*Cynara cardunculus* L.) cultivars for energy use. Biomass and Bioenergy, 33(5), 810–816. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2008.12.004
- Angulo-Mosquera, L. S., Alvarado-Alvarado, A. A., Rivas-Arrieta, M. J., Cattaneo, C. R., Rene, E. R., García-Depraect, O. (2021). Production of solid biofuels from organic waste in developing countries: A review from sustainability and economic

feasibility perspectives. Science of The Total Environment, 795, 148816. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.148816

- Antal, M. J., Grønli, M. (2003). The Art, Science, and Technology of Charcoal Production. Industrial Engineering Chemistry Research, 42(8), 1619–1640. https://doi.org/10.1021/ie0207919
- AOCS CA 12-55 Phosphorus, Pub. L. No. AOCS CA 12-55 (2009). https://es.scribd.com/document/501366590/AOCS-CA-12-55-Phosphorus
- Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J., Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. Progress in Energy and Combustion Science, 34(6), 755–781. https://doi.org/10.1016/j.pecs.2008.06.002
- Aragón-Garita, S., Moya, R., Bond, B., Valaert, J., Tomazello Filho, M. (2016). Production and quality analysis of pelets manufactured from five potential energy crops in the Northern Region of Costa Rica. Biomass and Bioenergy, 87, 84–95. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.02.006
- Archontoulis, S. V., Struik, P. C., Vos, J., Danalatos, N. G. (2010). Phenological growth stages of *Cynara cardunculus*: codification and description according to the BBCH scale. Annals of Applied Biology, 156(2), 253–270. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2009.00384.x
- Arisoy, K. (2008). Oxidative and Thermal Instability of Biodiesel. Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, 30(16), 1516–1522. https://doi.org/10.1080/15567030601082845
- Asghar, A., Sairash, S., Hussain, N., Baqar, Z., Sumrin, A., Bilal, M. (2022). Current challenges of biomass refinery and prospects of emerging technologies for sustainable bioproducts and bioeconomy. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 16(6), 1478–1494. https://doi.org/10.1002/bbb.2403
- Assaf, J. C., Mortada, Z., Rezzoug, S.-A., Maache-Rezzoug, Z., Debs, E., Louka, N. (2024). Comparative Review on the Production and Purification of Bioethanol from Biomass: A Focus on Corn. Processes, 12(5), 1001. https://doi.org/10.3390/pr12051001
- ASTM D12662. (2014). Determination of Total Contamination in Medium Distillates, Diesel Fuels and Fatty Acid Methyl Esters.
- ASTM D1298. (2014). ASTM D1298: Standard Test Method for Density, Relative Density (Specific Gravity), or API Gravity of Crude Petroleum and Liquid Petroleum Products by Hydrometer Method.

- ASTM D2500. (2023). Test Method for Cloud Point of Petroleum Products and Liquid Fuels. ASTM International.
- ASTM D445/D446. (2016). Standard Test Method for Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (and Calculation of Dynamic Viscosity).
- ASTM D6584. (2019). Standard Test Method for Determination of Total Monoglycerides, Total Diglycerides, Total Triglycerides, and Free and Total Glycerin in B-100 Biodiesel Methyl Esters by Gas Chromatography.
- ASTM D6751. (2020). ASTM D6751: Standard Specification for Biodiesel Fuel Blend Stock (B100) for Middle Distillate Fuels.
- ASTM D7501. (2021). Test Method for Determination of Fuel Filter Blocking Potential of Biodiesel (B100) Blend Stock by Cold Soak Filtration Test (CSFT). ASTM International.
- ASTM D93. (2020). Standard Test Methods for Flash Point by Pensky–Martens Closed Cup Tester.
- ASTM D974. (2019). Standard Test Method for Acid and Base Number by Color-Indicator Titration.
- Atabani, A. E., Silitonga, A. S., Badruddin, I. A., Mahlia, T. M. I., Masjuki, H. H., Mekhilef, S. (2012). A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 16(4), 2070–2093. https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.003
- Atadashi, I. M., Aroua, M. K., Aziz, A. R. A., Sulaiman, N. M. N. (2011). Refining technologies for the purification of crude biodiesel. Applied Energy, 88(12), 4239–4251. https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.05.029
- Atadashi, I. M., Aroua, M. K., Abdul Aziz, A. R., Sulaiman, N. M. N. (2013). The effects of catalysts in biodiesel production: A review. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 19(1), 14–26. https://doi.org/10.1016/j.jiec.2012.07.009
- Badhan, A., Wang, Y., Gruninger, R., Patton, D., Powlowski, J., Tsang, A., McAllister, T. (2014). Formulation of enzyme blends to maximize the hydrolysis of alkaline peroxide pretreated alfalfa hay and barley straw by rumen enzymes and commercial cellulases. BMC Biotechnology, 14(1), 31. https://doi.org/10.1186/1472-6750-14-31
- Baksi, S., Saha, D., Saha, S., Sarkar, U., Basu, D., Kuniyal, J. C. (2023). Pre-treatment of lignocellulosic biomass: review of various physico-chemical and biological methods influencing the extent of biomass depolymerization. International Journal of

Environmental Science and Technology, 20(12), 13895–13922. https://doi.org/10.1007/s13762-023-04838-4

- Balat, M., Balat, H. (2009). Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. Applied Energy, 86(11), 2273–2282. https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.03.015
- Baldrian, P. (2006). Fungal laccases – occurrence and properties. FEMS Microbiology Reviews, 30(2), 215–242. https://doi.org/10.1111/j.1574-4976.2005.00010.x
- Ballesteros, I., Ballesteros, M., Manzanares, P., Negro, M. J., Oliva, J. M., Sáez, F. (2008). Dilute sulfuric acid pretreatment of cardoon for ethanol production. Biochemical Engineering Journal, 42(1), 84–91. https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.06.001
- Bannister, C. D., Chuck, C. J., Bounds, M., Hawley, J. G. (2011). Oxidative Stability of Biodiesel Fuel. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part D: Journal of Automobile Engineering, 225(1), 99–114. https://doi.org/10.1243/09544070JAUTO1549
- Barba, J., Lapuerta, M., Cardeño, F., Hernández, J. (2020). Are Cold Filter Plugging Point and Cloud Point reliable enough to prevent cold-start operability problems in vehicles using biodiesel blends? Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part D: Journal of Automobile Engineering, 234(9), 2305–2311. https://doi.org/10.1177/0954407020915101
- Barlett, M. (1937). Properties of sufficiency and statistical tests. Proceedings of the Royal Society of London. Series A - Mathematical and Physical Sciences, 160(901), 268–282. https://doi.org/10.1098/rspa.1937.0109
- Barrios, E. (2015). Proceso de producción de biodiesel: efecto de variables operativas en la formación de glucósidos esteroles.
- Bartolomé, C., Gil, A., Aho, M., Pedersen, A. J., Sánchez-Biezma, A. (2008). Characterisation of Cynara Biomass Residues for Thermal Energy Conversion. Proceedings of the 16th European Biomass Conference and Exhibition 2008, Figure 2, 1315–1326.
- Basera, P., Chakraborty, S., Sharma, N. (2024). Lignocellulosic biomass: insights into enzymatic hydrolysis, influential factors, and economic viability. Discover Sustainability, 5(1), 311. https://doi.org/10.1007/s43621-024-00543-5

- Basotec. (2023). Qué es la biomasa forestal. https://basotec.com/que-es-la-biomasa-forestal/ . Visto el 15 de diciembre del 2025
- Basu, P. (2018). Production of Synthesis Fuels and Chemicals from Biomass. In Gasification, Pyrolysis and Torrefaction (pp. 415–443). Elsevier Inc. https://books.google.com/books/about/Biomass_Gasification_Pyrolysis_and_Torre.html?hl=idid=BYM2DwAAQBAJ. Visto el 18 de diciembre del 2025
- Bateni, H., Saraeian, A., Able, C. (2017). A comprehensive review on biodiesel purification and upgrading. Biofuel Research Journal, 4(3), 668–690. https://doi.org/10.18331/BRJ2017.4.3.5.
- BCR. (2025a). El aporte del biodiesel a la economía argentina | Bolsa de Comercio de Rosario. https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal/el-aporte-1. Visto el 22 de enero del 2026.
- BCR. (2025b). La industria del bioetanol alcanzó nuevos máximos en 2024 | Bolsa de Comercio de Rosario. https://bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal/la-83 Visto el 1 de diciembre del 2025.
- BCR. (2025c,). La comercialización de biodiesel a bajos niveles en lo que va del año | Bolsa de Comercio de Rosario. https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal/la-86 . Visto el 22 de enero del 2026.
- Blanco, G., Keesler, D., Manrique, S. (2021). Bioenergía y desarrollo sostenible: Una relación difícil. Centro de Tecnologías Ambientales y Energía Facultad de Ingeniería Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://farn.org.ar/wp-content/uploads/2021/10/DOCUMENTO_BIOENERGIA_links.pdf
- Boehman, A. L. (2005). Biodiesel production and processing. Fuel Processing Technology, 86(10), 1057–1058. https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2004.11.001
- Bolohan, C., Marin, D. I., Mihalache, M., Ilie, L., Oprea, A. C. (2013). Research on *Cynara cardunculus* L. species under the conditions of southeastern Romania area. Agronomy, LVI, 429–432.
- Borowitzka, M. A., Moheimani, N. R. (2013). Sustainable biofuels from algae. Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change, 18(1), 13–25. https://doi.org/10.1007/s11027-010-9271-9

- Borrás, L., Gambín, B. L. (2010). Trait dissection of maize kernel weight: Towards integrating hierarchical scales using a plant growth approach. Field Crops Research, 118(1), 1–12. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.04.010
- BP. (2023). Statistical Review of World Energy 2023. https://www.bp.com/statisticalreview. Visto el 1 de diciembre del 2025
- Bridgwater, A. (2000). Fast pyrolysis processes for biomass. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 4(1), 1–73. https://doi.org/10.1016/S1364-0321(99)00007-6
- Buranov, A. U., Mazza, G. (2008). Lignin in straw of herbaceous crops. Industrial Crops and Products, 28(3), 237–259. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.03.008
- Cafaro La Menza, F., Carciochi, W. D. (2023). Catch crops in the Argentinean Pampas: a synthesis-analysis on nutrient characteristics and their implications for a sustainable agriculture. Frontiers in Agronomy, 5. https://doi.org/10.3389/fagro.2023.1244057
- Calabrese, N., Cravero, V., Pagnotta, M. (2019). *Cynara cardunculus* Propagation. In E. Portis, A. Acquadro, S. Lanteri (Eds.), The Globe Artichoke Genome. Springer.
- Canakci, M., Van Gerpen, J. (2001). Biodiesel production from oils and fats with high free fatty acids. Transactions of the ASAE, 44(6). https://doi.org/10.13031/2013.7010
- Caputo, A. C., Palumbo, M., Pelagagge, P. M., Scacchia, F. (2005). Economics of biomass energy utilization in combustion and gasification plants: effects of logistic variables. Biomass and Bioenergy, 28(1), 35–51. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2004.04.009
- Casas-Jiménez, P. M., Escudero-González, C. A., Martínez-Guerrero, T. Z., Mendoza-Díaz, M. del C., Ramírez-Borroso, C., Gutiérrez-Ortega, N. L., Ramos-Ramírez, E. (2021). Procesos sustentables para la producción de biocombustibles: a review. Jóvenes En La Ciencia, 10, 1–15. https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/3454/2949
- César, E., Castellón, C., y Zamorano, H. (2009). Estudio de factibilidad económica para la producción de switchgrass (Panicum *virgatum*) en Carolina del Sur, como materia prima para la generación de bioenergía [Escuela Agrícola Panamericana, 2012.]. https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/58

- Chaib, O., Abatzoglou, N., Achouri, I. E. (2024). Lignocellulosic Biomass Valorisation by Coupling Steam Explosion Treatment and Anaerobic Digestion. Energies, 17(3), 677. https://doi.org/10.3390/en17030677
- Chakraborty, P., Kumar, R., Chakrabortty, S., Saha, S., Chattaraj, S., Roy, S., Banerjee, A., Tripathy, S. K., Kumar Ghosh, A., Jeon, B.-H. (2024). Technological advancements in the pretreatment of lignocellulosic biomass for effective valorization: A review of challenges and prospects. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 137, 29–60. https://doi.org/10.1016/j.jiec.2024.03.025
- Chang, V. S., Holtzapple, M. T. (2000). Fundamental Factors Affecting Biomass Enzymatic Reactivity. Applied Biochemistry and Biotechnology, 84–86(1–9), 5–38. https://doi.org/10.1385/ABAB:84-86:1-9:5
- Chavarría, H., Trigo, E., y Rodríguez, A. (2019). La bioeconomía: potenciando el desarrollo sostenible de la agricultura y los territorios rurales en ALC. Instituto Interamericano de Cooperación Para La Agricultura, 4–34. https://www.iica-ecuador.org/sisbio/doc_informacion/IICA_Cap4_Esp_V4.pdf
- Chen, Y.-H., Luo, Y.-M. (2011). Oxidation stability of biodiesel derived from free fatty acids associated with kinetics of antioxidants. Fuel Processing Technology, 92(7), 1387–1393. https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2011.03.003
- Cherubini, F. (2010). The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. Energy Conversion and Management, 51(7), 1412–1421. https://doi.org/10.1016/j.enconman.2010.01.015
- Cherubini, F., Strømman, A. H. (2011). Life cycle assessment of bioenergy systems: State of the art and future challenges. Bioresource Technology, 102(2), 437–451. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.08.010
- Chuck, C. J., Jenkins, R. W., Bannister, C. D., Han, L., Lowe, J. P. (2012). Design and preliminary results of an NMR tube reactor to study the oxidative degradation of fatty acid methyl ester. Biomass and Bioenergy, 47, 188–194. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.09.043
- Chukwuma, O. B., Rafatullah, M., Tajarudin, H. A., Ismail, N. (2020). Lignocellulolytic Enzymes in Biotechnological and Industrial Processes: A Review. Sustainability, 12(18), 7282. https://doi.org/10.3390/su12187282
- Clark, S. J., Wagner, L., Schrock, M. D., Piennaar, P. G. (1984). Methyl and ethyl soybean esters as renewable fuels for diesel engines. Journal of the American Oil Chemists' Society, 61(10), 1632–1638. https://doi.org/10.1007/BF02541648

- Cocco, D., Deligios, P. A., Ledda, L., Sulas, L., Virdis, A., & Carboni, G. (2014). LCA study of oleaginous bioenergy chains in a Mediterranean environment. Energies, *7*(10), 6258–6281. https://doi.org/10.3390/en7106258
- Comisión Europea. (2015). Commission Regulation (EU) 2015/1185 of 24 April 2015 implementing Directive 2009/125/EC of the European Parliament and of the Council with regard to ecodesign requirements for solid fuel local space heaters.
- Cosgrove, D. J. (2005). Growth of the plant cell wall. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 6(11), 850–861. https://doi.org/10.1038/nrm1746
- Cravero, V., Martin, E., Crippa, I., Anido, F. L., García, S. M., Cointry, E. (2012). Fresh biomass production and partitioning of aboveground growth in the three botanical varieties of Cynara cardunculus L. Industrial Crops and Products, 37(1), 253–258. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.12.028
- Curt, M. D., Sánchez, G., Fernández, J. (2002). The potential of *Cynara cardunculus* L. for seed oil production in a perennial cultivation system. Biomass and Bioenergy, 23(1), 33–46. https://doi.org/10.1016/S0961-9534(02)00030-2
- Damartzis, T., Vamvuka, D., Sfakiotakis, S., Zabaniotou, A. (2011). Thermal degradation studies and kinetic modeling of cardoon (*Cynara cardunculus*) pyrolysis using thermogravimetric analysis (TGA). Bioresource Technology, 102(10), 6230–6238. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.02.060
- Datsomor, O., Yan, Q., Opoku-Mensah, L., Zhao, G., Miao, L. (2022). Effect of Different Inducer Sources on Cellulase Enzyme Production by White-Rot Basidiomycetes Pleurotus ostreatus and Phanerochaete chrysosporium under Submerged Fermentation. Fermentation, 8(10), 561. https://doi.org/10.3390/fermentation8100561
- de Siqueira Cavalcanti, E. H., Zimmer, A. R., Bento, F. M., Ferrão, M. F. (2019). Chemical and microbial storage stability studies and shelf-life determinations of commercial Brazilian biodiesels stored in carbon steel containers in subtropical conditions. Fuel, 236, 993–1007. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.09.043
- de Souza, T. A. Z., Pinto, G. M., Julio, A. A. V., Coronado, C. J. R., Perez-Herrera, R., Siqueira, B. O. P. S., da Costa, R. B. R., Roberts, J. J., Palacio, J. C. E. (2022). Biodiesel in South American countries: A review on policies, stages of development and imminent competition with hydrotreated vegetable oil. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 153, 111755. https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111755

- Deligios, P. A., Sulas, L., Spissu, E., Re, G. A., Farci, R., Ledda, L. (2017). Effect of input management on yield and energy balance of cardoon crop systems in Mediterranean environment. European Journal of Agronomy, 82, 173–181. https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.10.016
- Demirbas, A. (2004). Combustion characteristics of different biomass fuels. Progress in Energy and Combustion Science, 30(2), 219–230. https://doi.org/10.1016/j.pecs.2003.10.004
- Demirbas, A. (2006). Biodiesel production via non-catalytic SCF method and biodiesel fuel characteristics. Energy Conversion and Management, 47(15–16), 2271–2282. https://doi.org/10.1016/J.ENCONMAN.2005.11.019
- Demirbas, A. (2008). Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections. Energy Conversion and Management, 49(8), 2106–2116. https://doi.org/10.1016/j.enconman.2008.02.020
- Demirbas, A. (2009). Progress and recent trends in biodiesel fuels. Energy Conversion and Management, 50(1), 14–34. https://doi.org/10.1016/j.enconman.2008.09.001
- Doffo, G. N., Achinelli, F. G., Rodríguez, M. E., Luquez, V. M. (2017). Rendimiento de un sistema de rotación corta de alta densidad con Salix spp. en Buenos Aires, Argentina. Bosque (Valdivia), 38(3), 587–592. https://doi.org/10.4067/S0717-92002017000300016
- Dufour, J., Arsuaga, J. M., Moreno, J., Torrealba, H., & Camacho, J. (2013). Comparative life cycle assessment of biodiesel production from cardoon (*Cynara cardunculus*) and rapeseed oil obtained under Spanish conditions. *Energy & Fuels*, *27*(9), 5280–5286. https://doi.org/10.1021/ef400951f
- Durango Padilla, E. R., Berastegui Barranco, C., Mendoza Fandiño, J. M. (2019). Efecto de la adición de aglomerantes en las propiedades mecánicas de los pelets de biomasa. Ingeniare. Revista Chilena de Ingeniería, 27(1), 83–88. https://doi.org/10.4067/S0718-33052019000100083
- Ecoinvent 3.1. (2014). Ecoinvent database (version 3.1). ecoinvent Association. https://www.ecoinvent.org
- Ekielski, A., Mishra, P. K. (2020). Lignin for Bioeconomy: The Present and Future Role of Technical Lignin. International Journal of Molecular Sciences, 22(1), 63. https://doi.org/10.3390/ijms22010063

- Elisashvili, V., Kachlishvili, E., Penninckx, M. (2008). Effect of growth substrate, method of fermentation, and nitrogen source on lignocellulose-degrading enzymes production by white-rot basidiomycetes. Journal of Industrial Microbiology Biotechnology, 35(11), 1531–1538. https://doi.org/10.1007/s10295-008-0454-2
- Elisashvili, V., Kachlishvili, E., Tsiklauri, N., Metreveli, E., Khardziani, T., Agathos, S. N. (2009). Lignocellulose-degrading enzyme production by white-rot Basidiomycetes isolated from the forests of Georgia. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 25(2), 331–339. https://doi.org/10.1007/s11274-008-9897-x
- Ember. (2024a). Energy Institute Statistical Review of World Energy, 73rd Edition. 1–76. https://www.energyinst.org/statistical-review/resources-and-data-downloads Visto el 1 de diciembre del 2025.
- Ember. (2024b). Global Electricity Review 2024. https://ember-climate.org/insights/research/global-electricity-review-2024/ Visto el 1 de diciembre del 2025.
- EN 14103. (2011). Fat and oil derivatives — Fatty Acid Methyl Esters (FAME) — Determination of ester and linolenic acid methyl ester contents.
- EN 14112. (2012). Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) – Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test).
- EN 14214. (2012). EN 14214: Automotive fuels — Fatty acid methyl esters (FAME) for diesel engines — Requirements and test methods.
- EN 303-5. (2012). Heating boilers - Part 5: Heating boilers for solid fuels, manually and automatically stoked, nominal heat output up to 500 kW - Terminology, requirements, testing and marking.
- EN ISO 5508. (2014). Animal and vegetable fats and oils — Analysis by gas chromatography of methyl esters of fatty acids.
- Encinar, J. M., González, J. F., Rodríguez-Reinares, A. (2007). Ethanolysis of used frying oil. Biodiesel preparation and characterization. Fuel Processing Technology, 88(5), 513–522. https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2007.01.002
- Enerdata. (2024). Argentina Energy Information. https://www.enerdata.net/estore/energy-market/argentina/ Visto el 1 de diciembre del 2025.
- Enerdata. (2025). Estadísticas de consumo energético mundial. https://datos.enerdata.net/energia-total/datos-consumo-internacional.html Visto el 1 de diciembre del 2025.

- Escobar, P. (2025). Competitividad industrial | Argentina tiene oportunidades en el sector forestal de desarrollar el mercado de pelets de madera. https://www.argentinaforestal.com/2025/07/22/mercado-de-pelets-de-madera/ Visto el 15 de diciembre del 2025.
- Espada, J. J., Villalobos, H., & Rodríguez, R. (2021). Environmental assessment of different technologies for bioethanol production from *Cynara cardunculus*: A Life Cycle Assessment study. Biomass and Bioenergy, *144*, 105910. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105910
- Eze, V. C., Harvey, A. P., Phan, A. N. (2015). Determination of the kinetics of biodiesel saponification in alcoholic hydroxide solutions. Fuel, 140, 724–730. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.10.001
- Falasca, S., Ulberich, A. (2007). ¿Una plaga nacional utilizable como cultivo energético en áreas semidesérticas de Argentina?
- Falk, O., Meyer-Pittroff, R. (2004). The effect of fatty acid composition on biodiesel oxidative stability. European Journal of Lipid Science and Technology, 106(12), 837–843. https://doi.org/10.1002/ejlt.200400978
- Fan, J., Lu, Y., An, N., Zhu, W., Li, M., Gao, M., Wang, X., Wu, C., Wang, Y. (2025). Pretreatment technologies for lignocellulosic biomass: Research progress, mechanisms, and prospects. BioResources, 20(2). https://doi.org/10.15376/biores.20.2.Fan
- FAO. (2014). Wood chips: production, handling and utilization. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. https://www.fao.org/4/ae227s/ae227s00.pdf
- Fengel, D., Wegener, G. (1983). Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. Walter de Gruyter. https://books.google.com/books/about/Wood.html?hl=esid=x1B4uITKnt0C
- Fernandes, M. C., Ferro, M. D., Paulino, A. F. C., Mendes, J. A. S., Gravitis, J., Evtuguin, D. V., Xavier, A. M. R. B. (2015). Enzymatic saccharification and bioethanol production from *Cynara cardunculus* pretreated by steam explosion. Bioresource Technology, 186, 309–315. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.037
- Fernández, J., Curt, M. D., Aguado, P. L. (2006). Industrial applications of Cynara cardunculus L. for energy and other uses. Industrial Crops and Products, 24(3), 222–229. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.06.010

- Fernandez, J., Márquez, L. (1995). Energetic potential of Cynara cardunculus L. from agricultural production in dry areas in the Mediterranean region. Tropenlandwirt, Beiheft, 56, 121–129. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19960302490
- Fitria, Liu, J., Yang, B. (2023). Roles of mineral matter in biomass processing to biofuels. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 17(3), 696–717. https://doi.org/10.1002/bbb.2468
- Forestal Cando. (2025). ¿Qué es la biomasa y cómo se obtiene a partir de la madera? https://www.forestalcando.es/que-es-la-biomasa-y-como-se-obtiene-a-partir-de-la-madera_fb267105.html Visto el 15 de diciembre del 2025.
- Fort, D. A., Remsing, R. C., Swatloski, R. P., Moyna, P., Moyna, G., Rogers, R. D. (2007). Can ionic liquids dissolve wood? Processing and analysis of lignocellulosic materials with 1-n-butyl-3-methylimidazolium chloride. Green Chem., 9(1), 63–69. https://doi.org/10.1039/B607614A
- Francaviglia, R., Bruno, A., Falcucci, M., Farina, R., Renzi, G., Russo, D. E., Sepe, L., Neri, U. (2016). Yields and quality of *Cynara cardunculus* L. wild and cultivated cardoon genotypes. A case study from a marginal land in Central Italy. European Journal of Agronomy, 72, 10–19. https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.09.014
- Frischknecht, R., Wyss, F., Büsser Knöpfel, S., Lützkendorf, T., Balouktsi, M. (2015). Cumulative energy demand in LCA: the energy harvested approach. The International Journal of Life Cycle Assessment, 20(7), 957–969. https://doi.org/10.1007/s11367-015-0897-4
- Fukuda, H., Kondo, A., Noda, H. (2001). Biodiesel fuel production by transesterification of oils. Journal of Bioscience and Bioengineering, 92(5), 405–416. https://doi.org/10.1016/S1389-1723(01)80288-7
- Gaigalis, V., Skema, R. (2016). A review on solid biofuel usage in Lithuania after the decommission of Ignalina NPP and compliance with the EU policy. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 54, 974–988. https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.10.089
- Garcia-Maraver, A., Pérez-Jiménez, J. A. (2015). Biomass Peletization Process. In A. Garcia-Maraver J. A. Pérez-Jiménez (Eds.), Biomass Peletization: Standards and Production (p. 194). WIT Press / Computational Mechanics. https://books.google.com/books/about/Biomass_Peletization.html?hl=esid=Mn_6CAAAQBAJ

- Garcia Ceca, C. (2024). La astilla de madera, el combustible más económico para calentar tu casa. https://www.energias-renovables.com/bioenergia/la-astilla-de-madera-el-combustible-mas-20240715 Visto el 18 de diciembre del 2025.
- Gauna, A. (2017). Producción de bioetanol a partir de pastizales naturales. [Tesis doctoral]. Universidad Nacional de Rosario.
- Gauna, A., Larran, A. S., Perotti, V. E., Feldman, S. R., Permingeat, H. R. (2021). Fungal pretreatments improve the efficiency of saccharification of Panicum prionitis Ness biomass. Biofuels, 12(4), 415–421. https://doi.org/10.1080/17597269.2018.1479934
- Gerbrandt, K., Chu, P. L., Simmonds, A., Mullins, K. A., MacLean, H. L., Griffin, W. M., Saville, B. A. (2016). Life cycle assessment of lignocellulosic ethanol: a review of key factors and methods affecting calculated GHG emissions and energy use. Current Opinion in Biotechnology, 38, 63–70. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.12.021
- Gerpen, J. Van. (2005). Biodiesel processing and production. Fuel Processing Technology, 86(10), 1097–1107. https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2004.11.005
- Gil, M., Arauzo, I., Teruel, E., Bartolomé, C. (2012). Milling and handling *Cynara Cardunculus* L. for use as solid biofuel: Experimental tests. Biomass and Bioenergy, 41, 145–156. https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2012.02.023
- Girard, V., Dieryckx, C., Job, C., Job, D. (2013). Secretomes: The fungal strike force. PROTEOMICS, 13(3–4), 597–608. https://doi.org/10.1002/pmic.201200282
- Gírio, F. M., Fonseca, C., Carvalheiro, F., Duarte, L. C., Marques, S., Bogel-Łukasik, R. (2010). Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. Bioresource Technology, 101(13), 4775–4800. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.088
- Gnansounou, E., Dauriat, A. (2010). Techno-economic analysis of lignocellulosic ethanol: A review. Bioresource Technology, 101(13), 4980–4991. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.009
- Gominho, J., Curt, M. D., Lourenço, A., Fernández, J., Pereira, H. (2018). *Cynara cardunculus* L. as a biomass and multi-purpose crop: A review of 30 years of research. Biomass and Bioenergy, 109, 257–275. https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2018.01.001
- Gonzáles, O. M. (2024). ¿Qué es el gas natural y para qué sirve esta energía? https://preciogas.com/instalaciones/gas-natural/composicion Visto el 27 de enero del 2026.

- Graikou, K., Kourti, P.-M., Zengin, G., Gortzi, O., Danalatos, N., Chinou, I. (2021). Chemical Characterisation-Biological Evaluation of Greek Cultivar Cardoon Seeds (*Cynara cardunculus*). A By-product with Potential High Added Value. Planta Medica, 87(12/13), 1025–1031. https://doi.org/10.1055/a-1472-6336
- Grammelis, P., Malliopoulou, A., Basinas, P., Danalatos, N. G. (2008). Cultivation and Characterization of *Cynara Cardunculus* for Solid Biofuels Production in the Mediterranean Region. International Journal of Molecular Sciences 2008, Vol. 9, Pages 1241-1258, 9(7), 1241–1258. https://doi.org/10.3390/IJMS9071241
- Guo, B., Sun, L., Jiang, S., Ren, H., Sun, R., Wei, Z., Hong, H., Luan, X., Wang, J., Wang, X., Xu, D., Li, W., Guo, C., Qiu, L.-J. (2022). Soybean genetic resources contributing to sustainable protein production. Theoretical and Applied Genetics, 135(11), 4095–4121. https://doi.org/10.1007/s00122-022-04222-9
- Guo, M., Song, W., Buhain, J. (2015). Bioenergy and biofuels: History, status, and perspective. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 42, 712–725. https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.10.013
- Guzatto, R., Defferrari, D., Reiznautt, Q. B., Cadore, Í. R., Samios, D. (2012). Transesterification double step process modification for ethyl ester biodiesel production from vegetable and waste oils. Fuel, 92(1), 197–203. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.08.010
- Hajji Nabih, M., El Hajam, M., Boulika, H., Hassan, M. M., Idrissi Kandri, N., Hedfi, A., Zerouale, A., Boufahja, F. (2021). Physicochemical Characterization of Cardoon "*Cynara cardunculus*" Wastes (Leaves and Stems): A Comparative Study. Sustainability, 13(24), 13905. https://doi.org/10.3390/su132413905
- Hatakka, A. (1994). Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role from in lignin degradation. FEMS Microbiology Reviews, 13(2–3), 125–135. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1994.tb00039.x
- Havilah, P. R., Sharma, A. K., Govindasamy, G., Matsakas, L., Patel, A. (2022). Biomass Gasification in Downdraft Gasifiers: A Technical Review on Production, Up-Gradation and Application of Synthesis Gas. Energies, 15(11), 3938. https://doi.org/10.3390/en15113938
- Hazrat, M. A., Rasul, M. G., Mofijur, M., Khan, M. M. K., Djavanroodi, F., Azad, A. K., Bhuiya, M. M. K., Silitonga, A. S. (2020). A Mini Review on the Cold Flow Properties of Biodiesel and its Blends. Frontiers in Energy Research, 8. https://doi.org/10.3389/fenrg.2020.598651

- Hendriks, A. T. W. M., Zeeman, G. (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. Bioresource Technology, 100(1), 10–18. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.027
- Herguedas, A., Taranco, C., Rodrígez, E., Paniagua, prado. (2012). Biomasa, Biocombustibles Y Sostenibilidad. Transbioma, 13(2), 105–109.
- Hill, J., Nelson, E., Tilman, D., Polasky, S., Tiffany, D. (2006). Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. Proceedings of the National Academy of Sciences, 103(30), 11206–11210. https://doi.org/10.1073/pnas.0604600103
- HLPE. (2017). Sustainable Forestry for Food Security and Nutrition. A report by the High-Level Panel of Experts on Food Security and Nutrition of the Committee on World Food Security, Rome. June, 136.
- Hoang, A. T., Le, A. T. (2019). Trilateral correlation of spray characteristics, combustion parameters, and deposit formation in the injector hole of a diesel engine running on preheated Jatropha oil and fossil diesel fuel. Biofuel Research Journal, 6(1), 909–919. https://doi.org/10.18331/BRJ2019.6.1.2
- Hofrichter, M. (2002). Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). Enzyme and Microbial Technology, 30(4), 454–466. https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00528-2
- Huijbregts, M. A. J., Steinmann, Z. J. N., Elshout, P. M. F., Stam, G., Verones, F., Vieira, M., Zijp, M., Hollander, A., van Zelm, R. (2017). ReCiPe2016: a harmonised life cycle impact assessment method at midpoint and endpoint level. The International Journal of Life Cycle Assessment, 22(2), 138–147. https://doi.org/10.1007/s11367-016-1246-y
- Huo, H., Wang, M., Bloyd, C., Putsche, V. (2009). Life-Cycle Assessment of Energy Use and Greenhouse Gas Emissions of Soybean-Derived Biodiesel and Renewable Fuels. Environmental Science Technology, 43(3), 750–756. https://doi.org/10.1021/es8011436
- IAEA. (2022). Country Nuclear Power Profiles: Argentina. https://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/cnpp2022/countryprofiles/Argentina/Argentina.htm Visto el 1 de diciembre del 2025.
- IDAE. (2009). Biomasa. https://www.idae.es/tecnologias/energias-renovables/uso-termico/biomasa Visto el 18 de diciembre del 2025.

- IEA. (2020). Renewables 2020 – Analysis - IEA. https://www.iea.org/reports/renewables-2020 Visto el 15 de diciembre del 2025.
- IEA. (2023a). Renewables 2023: Analysis and Forecast to 2028. https://www.iea.org/reports/renewables-2023 Visto el 15 de diciembre del 2025.
- IEA. (2023b, June). Biofuels - Energy System. https://www.iea.org/energy-system/low-emission-fuels/biofuels Visto el 15 de diciembre del 2025.
- IEA. (2024). Bioenergy. www.iea.org/energy-system/renewables/bioenergy#tracking. Visto el 15 de diciembre del 2025.
- IEA. (2025). Global Energy Review 2025. https://www.iea.org/reports/global-energy-review-2025 Visto el 15 de diciembre del 2025.
- Ierna, A., Mauro, R. P., Mauromicale, G. (2012). Biomass, grain and energy yield in *Cynara cardunculus* L. as affected by fertilization, genotype and harvest time. Biomass and Bioenergy, 36, 404–410. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.11.013
- Ierna, A., Sortino, O., Mauromicale, G. (2020). Biomass, Seed and Energy Yield of *Cynara cardunculus* L. as Affected by Environment and Season. Agronomy, 10(10), 1548. https://doi.org/10.3390/agronomy10101548
- Ilić, N., Milić, M., Beluhan, S., Dimitrijević-Branković, S. (2023). Cellulases: From Lignocellulosic Biomass to Improved Production. Energies, 16(8), 3598. https://doi.org/10.3390/en16083598
- IPCC. (2025). About the IPCC / Organization. https://www.ipcc.ch/organization/
- IRAM 5504. (2014). Iram 5504 Aceite y grasas vegetales- Métodos para la determinación de densidad (IRAM 5504). https://es.scribd.com/document/904114410/IRAM-5504-2014
- IRAM 5512. (1988). IRAM 5512. Aceite y grasa animales. Determinación de la acidez.
- IRAM 5515. (2018). Aceites y grasas animales. Determinación del índice de yodo.
- IRAM 5517. (1988). Norma IRAM 5517: aceites y grasas vegetales y animales. Método para la determinación de la materia insaponificable /. Instituto Argentino de Normalización y Certificación.
- IRAM 5651. (2009). Aceites y grasas. Determinación del perfil de ácidos grasos por cromatografía gaseosa.
- IRAM 6515-1. (2006). IRAM 6515-1: Calidad de combustibles. Combustibles líquidos para uso en automotores — Biodiesel. Parte 1: Puro (B100) – Requisitos.

- ISO 14040. (2006). ISO 14040: Environmental Management — Life Cycle Assessment — Principles and Framework.
- ISO 14044. (2006). ISO 14044: Environmental Management — Life Cycle Assessment — Requirements and Guidelines.
- ISO 17225-6. (2021). Solid biofuels — Fuel specifications and classes. Part 6: Graded non-woody pelets.
- ISO 17225. (2021). Solid biofuels -Fuel specifications and classes- Part 1: General requirements.
- Isroi, Millati, R., Syamsiah, S., Niklasson, C., Cahyanto, M. N., Lundquist, K., Taherzadeh, M. J. (2011). Biological pretreatment of lignocelluloses with white-rot fungi and its applications: A review. BioResources, 6(4), 5224–5259. https://doi.org/10.15376/biores.6.4.5224-5259
- Jayakumar, M., Gindaba, G. T., Gebeyehu, K. B., Periyasamy, S., Jabesa, A., Baskar, G., John, B. I., Pugazhendhi, A. (2023). Bioethanol production from agricultural residues as lignocellulosic biomass feedstock's waste valorization approach: A comprehensive review. Science of The Total Environment, 879, 163158. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163158
- Jenkins, B., Baxter, L., Miles, T., Miles, T. (1998). Combustion properties of biomass. Fuel Processing Technology, 54(1–3), 17–46. https://doi.org/10.1016/S0378-3820(97)00059-3
- Jeswani, H. K., Chilvers, A., Azapagic, A. (2020). Environmental sustainability of biofuels: a review. Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences, 476(2243). https://doi.org/10.1098/rspa.2020.0351
- Jiang, X., Cheng, W., Liu, J., Xu, H., Zhang, D., Zheng, Y., Cai, H. (2020). Moisture content and binders in biomass peletization. BioResources, 15(1), 557–573.
- Jozami, E. (2023). Pastizales naturales como fuente de energía renovable. Facultad de Ciencias Agrarias. [Tesis doctoral]. Universidad Nacional de Rosario. http://hdl.handle.net/2133/26026
- Kaliyan, N., Vance Morey, R. (2009). Factors affecting strength and durability of densified biomass products. Biomass and Bioenergy, 33(3), 337–359. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2008.08.005
- Kemppainen, A. J., Shonnard, D. R. (2008). Comparative Life-Cycle Assessments for Biomass-to-Ethanol Production from Different Regional Feedstocks. Biotechnology Progress, 21(4), 1075–1084. https://doi.org/10.1021/bp049548q

- Khan, E., Ozaltin, K., Spagnuolo, D., Bernal-Ballen, A., Piskunov, M. V., Di Martino, A. (2023). Biodiesel from Rapeseed and Sunflower Oil: Effect of the Transesterification Conditions and Oxidation Stability. Energies, 16(2), 657. https://doi.org/10.3390/en16020657
- Kim, T. H., Taylor, F., Hicks, K. B. (2008). Bioethanol production from barley hull using SAA (soaking in aqueous ammonia) pretreatment. Bioresource Technology, 99(13), 5694–5702. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.10.055
- Kinney, A. J., Clemente, T. E. (2005). Modifying soybean oil for enhanced performance in biodiesel blends. Fuel Processing Technology, 86(10), 1137–1147. https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2004.11.008
- Kirk, T. K., Farrell, R. L. (1987). Enzymatic "Combustion": The Microbial Degradation of Lignin. Annual Review of Microbiology, 41(1), 465–501. https://doi.org/10.1146/annurev.mi.41.100187.002341
- Kivevele, T. (2020). Storage and thermal stability of biodiesel produced from manketti nut oil of Southern Africa origin with the influence of metal contaminants and antioxidants. SN Applied Sciences, 2(5), 930. https://doi.org/10.1007/s42452-020-2743-y
- Klass, D. L. (1998). Biomass for renewable energy, fuels, and chemicals. Academic Press. https://books.google.com/books/about/Biomass_for_Renewable_Energy_Fuels_and_C.html?hl=esid=udDHC3Ss7DAC
- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H., Bohn, A. (2005). Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. Angewandte Chemie International Edition, 44(22), 3358–3393. https://doi.org/10.1002/anie.200460587
- Knothe, G. (2005). Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. Fuel Processing Technology, 86(10), 1059–1070. https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2004.11.002
- Knothe, G. (2007). Some aspects of biodiesel oxidative stability. Fuel Processing Technology, 88(7), 669–677. https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2007.01.005
- Knothe, G., Van Gerpen, J., Krahl, J. (Eds.). (2005). The Biodiesel Handbook. AOCS Publishing. https://doi.org/10.1201/9781439822357
- Komariah, L. N., Arita, S., Rendana, M., Ramayanti, C., Suriani, N. L., Erisna, D. (2022). Microbial contamination of diesel-biodiesel blends in storage tank; an

analysis of colony morphology. Heliyon, 8(4), e09264. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09264

- Koppejan, J., van Loo, S. (Eds.). (2012). The Handbook of Biomass Combustion and Co-firing. Routledge. https://doi.org/10.4324/9781849773041
- Kowalczyk-Juśko, A., Mazur, A., Pochwatka, P., Janczak, D., Dach, J. (2022). Evaluation of the Effects of Using the Giant Miscanthus (*Miscanthus* × *Giganteus*) Biomass in Various Energy Conversion Processes. Energies, 15(10), 3486. https://doi.org/10.3390/en15103486
- Kumar, D., Pratap, S., Gupta, N., Tyagi, P., Kumar, P., Prajapati, R. K., Hasnain, S. M. M., Paramasivam, P., Ayanie, A. G. (2025). Transesterification-derived biodiesel: a comprehensive assessment of feedstock diversity, engine performance, and pathways to sustainable transportation. Discover Sustainability, 6(1), 1447. https://doi.org/10.1007/s43621-025-02449-2
- Kumar, N. (2017). Oxidative stability of biodiesel: Causes, effects and prevention. Fuel, 190, 328–350. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.11.001
- Kumar, R., Engineering, F., Haryana, C. C. S. (2025). Ethanol from lignocellulosic biomass: pretreatment challenges and management and energy Production. 2712–2738. https://doi.org/10.1002/bbb.70039
- Kumar, R., Kumar, N., Gupta, R. (2024). Enhanced Saccharification Yield of Alkali Pretreated Sugarcane Bagasse Utilizing Customized Cellulase Cocktail from Trichoderma harzianum and Trichoderma viride. International Journal of Economic Plants, 11(Aug, 3), 263–269. https://doi.org/10.23910/2/2024.5388a
- Lapuerta, M., Armas, O., Rodríguez-Fernández, J. (2008). Effect of biodiesel fuels on diesel engine emissions. Progress in Energy and Combustion Science, 34(2), 198–223. https://doi.org/10.1016/j.pecs.2007.07.001
- Larran, A., Jozami, E., Vicario, L., Feldman, S. R., Podestá, F. E., Permingeat, H. R. (2015). Evaluation of biological pretreatments to increase the efficiency of the saccharification process using Spartina argentinensis as a biomass resource. Bioresource Technology, 194, 320–325. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.150
- Las Valdesas. (2025). ¿Cuál es la densidad del aceite? https://www.aceitedelasvaldesas.com/faq/varios/densidad-del-aceite/?srsltid=AfmBOoqEnvb7JpNy33wgRfqb5v-7nm4364OIv5lhlSsYFiPKdHCb_cGp Visto el 15 de enero del 2026.

- Lehmann, J., Joseph, S. (2015). Biochar for Environmental Management. Routledge. https://doi.org/10.4324/9780203762264
- Leung, D. Y. C., Wu, X., Leung, M. K. H. (2010). A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. Applied Energy, 87(4), 1083–1095. https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.10.006
- Lewandowski, I., Kicherer, A. (1997). Combustion quality of biomass: practical relevance and experiments to modify the biomass quality of Miscanthus x giganteus. European Journal of Agronomy, 6(3–4), 163–177. https://doi.org/10.1016/S1161-0301(96)02044-8
- Linglin, L., Fashe, L., Huicong, Z., Yaozong, D., Wenchao, W. (2023). Efficient removal of alkali and alkaline earth metals from biodiesel using Ion-exchange resin: Performance and mechanism. Separation and Purification Technology, 323, 124485. https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2023.124485
- Long, L., Wang, W., Liu, Z., Lin, Y., Wang, J., Lin, Q., Ding, S. (2023). Insights into the capability of the lignocellulolytic enzymes of Penicillium parvum 4-14 to saccharify corn bran after alkaline hydrogen peroxide pretreatment. Biotechnology for Biofuels and Bioproducts, 16(1), 79. https://doi.org/10.1186/s13068-023-02319-x
- Longanesi, L., Pereira, A. P., Johnston, N., Chuck, C. J. (2022). Oxidative stability of biodiesel: recent insights. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 16(1), 265–289. https://doi.org/10.1002/bbb.2306
- Low Carbon Power. (2024). Argentina: Electricity mix and emissions. https://lowcarbonpower.org/region/Argentina Visto el 18 de enero del 2026.
- Lubwama, M., Yiga, V. A. (2018). Characteristics of briquettes developed from rice and coffee husks for domestic cooking applications in Uganda. Renewable Energy, 118, 43–55. https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.11.003
- Luo, L., van der Voet, E., Huppes, G. (2009). An energy analysis of ethanol from cellulosic feedstock–Corn stover. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 13(8), 2003–2011. https://doi.org/10.1016/J.RSER.2009.01.016
- Ma, F., Hanna, M. A. (1999). Biodiesel production: a review1Journal Series #12109, Agricultural Research Division, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska–Lincoln.1. Bioresource Technology, 70(1), 1–15. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00025-5

- Maccarone, E., Fallico, B., Fanella, F., Mauromicale, G., Raccuia, S. A., Foti, S. (1999). Possible alternative utilization of Cynara spp. Industrial Crops and Products, 10(3), 229–237. https://doi.org/10.1016/S0926-6690(99)00027-8
- Macua, J., Lahoz, I., Santos, A. (2006). Influencia de la época de plantación en el cultivo del cardo en navarra. 87–91.
- MAGyP. (2016). Bioetanol- Observatorio Bioeconomía. https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/observatorio_bioeconomia/indicadores/07/index.php Visto el 23 de diciembre del 2025.
- MAGyP. (2025). Informe Bionergía. https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/bioenergia/informes/biodisel.php Visto el 12 de diciembre del 2025.
-
- Makareviciene, V., Janulis, P. (2003). Environmental effect of rapeseed oil ethyl ester. Renewable Energy, 28(15), 2395–2403. https://doi.org/10.1016/S0960-1481(03)00142-3
- Mancini, M., Breso, A., Rúa, F., Lanza Volpe, M., Leskovar, D., Cravero, V. (2023). Biomass characterization of wild and cultivated cardoon accessions and estimation of potential biofuels production. Biomass Conversion and Biorefinery, 14(22), 28661–28671. https://doi.org/10.1007/s13399-023-03784-y
- Mancini, M., Lanza Volpe, M., Gatti, B., Malik, Y., Moreno, A. C., Leskovar, D., Cravero, V. (2019). Characterization of cardoon accessions as feedstock for biodiesel production. Fuel, 235, 1287–1293. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.08.123
- Mandari, V., Devarai, S. K. (2022). Biodiesel Production Using Homogeneous, Heterogeneous, and Enzyme Catalysts via Transesterification and Esterification Reactions: a Critical Review. BioEnergy Research, 15(2), 935–961. https://doi.org/10.1007/s12155-021-10333-w
- Mani, S., Tabil, L. G., Sokhansanj, S. (2003). Compaction of biomass grinds-an overview of compaction of biomass grinds. Powder Handling and Processing, 15(3), 160–168.
- Mani, S., Tabil, L. G., Sokhansanj, S. (2006). Effects of compressive force, particle size and moisture content on mechanical properties of biomass pelets from grasses. Biomass and Bioenergy, 30(7), 648–654. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2005.01.004

- Manrique, S. M. (2022). Actualidad, perspectivas y reflexiones en el uso de la biomasa con fines energéticos. Ciencia e Investigación, 72(1), 35–54.
- Marchetti, J. M., Miguel, V. U., Errazu, A. F. (2007). Possible methods for biodiesel production. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 11(6), 1300–1311. https://doi.org/10.1016/j.rser.2005.08.006
- Marques, J.C., Gasi, F., Lourenço, S.R. (2024). Biofuel in the Automotive Sector: Viability of Sugarcane Ethanol. Sustainability, 16, 2674. https://doi.org/10.3390/su16072674
- Martin, N., Lombard, M., Jensen, K. R., Kelley, P., Pratt, T., Traviss, N. (2017). Effect of biodiesel fuel on "real-world", nonroad heavy duty diesel engine particulate matter emissions, composition and cytotoxicity. Science of The Total Environment, 586, 409–418. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2016.12.041
- Martínez, Á. T., Speranza, M., Ruiz-Dueñas, F. J., Ferreira, P., Camarero, S., Guillén, F., Martínez, M. J., Gutiérrez, A., Río, J. C. del. (2005). Biodegradación de la lignocelulosa: aspectos microbiológicos, químicos y enzimáticos del ataque fúngico a la lignina. International Microbiology, 8(3), 195–204. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttextpid=S1139-67092005000300007lng=esnrm=isotlng=pt
- Martínez, A. T. (2002). Molecular biology and structure-function of lignin-degrading heme peroxidases. Enzyme and Microbial Technology, 30(4), 425–444. https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00521-X
- Maruf, M., Haryono, I. (2019). An Effect of Biodiesel (B20) On Life Time Locomotive Fuel Filter. Majalah Ilmiah Pengkajian Industri; Journal of Industrial Research and Innovation, 13(3), 201–208. https://doi.org/10.29122/MIPI.V13I3.3787
- Masum, F. H., Tan, E. C. D., Kolodziej, C. P., Hawkins, T. R. (2025). Life Cycle Assessment of Methanol from Fossil, Biomass, and Waste Sources, and Its Use as a Marine Fuel in Dual-Fuel Engines. Environmental Science Technology, 59(43), 23239–23250. https://doi.org/10.1021/acs.est.5c08873
- Matbouei, M., Weston, D. P., Liang, X., Hainsworth, S. V. (2021). An investigation of the effect of temperature on the oxidation processes of metallic diesel engine fuel system materials and B100 biodiesel from used cooking oil in exposure testing. Fuel, 285, 119063. https://doi.org/10.1016/J.FUEL.2020.119063
- Mathanker, A., Das, S., Pudasainee, D., Khan, M., Kumar, A., Gupta, R. (2021). A Review of Hydrothermal Liquefaction of Biomass for Biofuels Production with a

Special Focus on the Effect of Process Parameters, Co-Solvents, and Extraction Solvents. Energies, 14(16), 4916. https://doi.org/10.3390/en14164916

- Mauromicale, G., Sortino, O., Pesce, G. R., Agnello, M., Mauro, R. P. (2014). Suitability of cultivated and wild cardoon as a sustainable bioenergy crop for low input cultivation in low quality Mediterranean soils. Industrial Crops and Products, 57, 82–89. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.03.013
- Mayer, A., Staples, R. (2002). Laccase: new functions for an old enzyme. Phytochemistry, 60(6), 551–565. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00171-1
- Meher, L., Vidysagar, D., Naik, S. (2006). Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 10(3), 248–268. https://doi.org/10.1016/j.rser.2004.09.002
- Melendez, J. R., Lowy, D. A., Hena, S., Gutierrez, L. (2025). Advances in Third-Generation Bioethanol Production, Industrial Infrastructure and Efficient Technologies in Sustainable Processes with Algae Biomass: Systematic Review. Fermentation, 12(1), 2. https://doi.org/10.3390/fermentation12010002
- Mendow, G., Veizaga, N. S., Sánchez, B. S., Querini, C. A. (2011). Biodiesel production by two-stage transesterification with ethanol. Bioresource Technology, 102(22), 10407–10413. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.052
- Mendow, G., Veizaga, N. S., Sánchez, B. S., Querini, C. A. (2012). Biodiesel production by two-stage transesterification with ethanol by washing with neutral water and water saturated with carbon dioxide. Bioresource Technology, 118, 598–602. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.026
- Min Oo, Y., Prateepchaikul, G., Somnuk, K. (2021). Continuous acid-catalyzed esterification using a 3D printed rotor–stator hydrodynamic cavitation reactor reduces free fatty acid content in mixed crude palm oil. Ultrasonics Sonochemistry, 72, 105419. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105419
- Mohammadi, A., Anukam, A. I., Ojemaye, M., Nyamukamba, P., Yamada, T. (2023). Energy Production Features of Miscanthus Pelets Blended with Pine Sawdust. BioEnergy Research, 17(1), 491–504. https://doi.org/10.1007/s12155-023-10671-x
- Monti, A., Venturi, G. (2003). Comparison of the energy performance of fibre sorghum, sweet sorghum and wheat monocultures in northern Italy. European Journal of Agronomy, 19(1), 35–43. https://doi.org/10.1016/S1161-0301(02)00017-5

- Morais, S., Martins, A. A., Mata, T. M. (2010). Comparison of allocation approaches in soybean biodiesel life cycle assessment. Journal of the Energy Institute, 83(1), 48–55. https://doi.org/10.1179/014426010X12592427712073
- Morales, M. M., Hoshide, A. K., Carvalho, L. M. P., Tardin, F. D. (2024). Sorghum Biomass as an Alternative Source for Bioenergy. Biomass, 4(3), 1017–1030. https://doi.org/10.3390/biomass4030057
- Morales, M., Quintero, J., Conejeros, R., Aroca, G. (2015). Life cycle assessment of lignocellulosic bioethanol: Environmental impacts and energy balance. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 42, 1349–1361. https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.10.097
- Morero, A. C., Bernardita, G., Malik, Y., Mancini, M., Lanza Volpe, M., Cravero, V. (2015). Potencial utilización del aceite de cardo para producción de biodiesel y su comparación con el aceite de soja. Invenio: Revista de Investigación Académica, 35, 135–142.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y., M, H., M, L. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. Bioresource Technology, 96(6), 673–686. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.025
- Musa, I. A. (2016). The effects of alcohol to oil molar ratios and the type of alcohol on biodiesel production using transesterification process. Egyptian Journal of Petroleum, 25(1), 21–31. https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.06.007
- NASA. (2021). 2020 Tied for Warmest Year on Record, NASA Analysis Shows - NASA. https://www.nasa.gov/news-release/2020-tied-for-warmest-year-on-record-nasa-analysis-shows Visto el 28 de enero del 2026.
- NguyenThi, T., Bazile, J.-P., Bessières, D. (2018). Density Measurements of Waste Cooking Oil Biodiesel and Diesel Blends Over Extended Pressure and Temperature Ranges. Energies, 11(5), 1212. https://doi.org/10.3390/en11051212
- Niklas, K. J. (1992). Plant biomechanics: an engineering approach to plant form and function. University of Chicago Press. https://books.google.com/books/about/Plant_Biomechanics.html?hl=esid=l3bRJVMbNMcC
- Nunes, L. J. R., Matias, J. C. O., Catalão, J. P. S. (2014). A review on torrefied biomass pelets as a sustainable alternative to coal in power generation. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 40, 153–160. https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.07.181

- Nunes, L. J. R., Matias, J. C. O., Catalão, J. P. S. (2016). Biomass combustion systems: A review on the physical and chemical properties of the ashes. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 53, 235–242. https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.08.053
- Nussbaumer, T. (2003). Combustion and Co-combustion of Biomass: Fundamentals, Technologies, and Primary Measures for Emission Reduction. Energy Fuels, 17(6), 1510–1521. https://doi.org/10.1021/ef030031q
- Obernberger, I., Brunner, T., Bärnthaler, G. (2006). Chemical properties of solid biofuels—significance and impact. Biomass and Bioenergy, 30(11), 973–982. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2006.06.011
- Obewenberger, I., Thek, G. (2010). The Pelet Handbook: The Production and Thermal Utilization of Biomass Pelets. Earthscan. (Earthscan (Ed.)).
- Obidziński, S., Cwalina, P., Kowczyk-Sadowy, M., Sienkiewicz, A., Krasowska, M., Szyszlak-Bargłowicz, J., Zając, G., Słowik, T., Mazur, J., Jankowski, M. (2024). Physical and Energy Properties of Fuel Pelets Produced from Sawdust with Potato Pulp Addition. Energies, 17(16), 3960. https://doi.org/10.3390/en17163960
- OCDE-FAO. (2025). Perspectivas Agrícolas 2025-2034. OECD Publishing. https://doi.org/10.1787/67cefa05-es
- Okonkwo, P. A., Omenihu, I. (2021). Production and characterization of biodiesel from mango seed oil (MSO). Nigerian Journal of Technology, 40(4), 598–607. https://doi.org/10.4314/njt.v40i4.6
- Oladeji. (2015). Theoretical Aspects of Biomass Briquetting: A Review Study. Journal of Energy Technology and Policy, 5(3), 72–81.
- Olesen, P. O. (1971). The water displacement method. A fast and accurate method of determining the green volume of wood samples. Forest Tree Improvement, 3, 57.
- Olofsson, K., Bertilsson, M., Lidén, G. (2008). A short review on SSF – an interesting process option for ethanol production from lignocellulosic feedstocks. Biotechnology for Biofuels, 1(1), 7. https://doi.org/10.1186/1754-6834-1-7
- Ottaiano, L., Di Mola, I., Impagliazzo, A., Cozzolino, E., Masucci, F., Mori, M., & Fagnano, M. (2017). Yields and quality of biomasses and grain in Cynara cardunculus L. grown in southern Italy, as affected by genotype and environmental conditions. Italian Journal of Agronomy, 12(4), 375–382. https://doi.org/10.4081/ija.2017.954
- Otto, R., Ferraz-Almeida, R., Sanches, G.M., Lisboa, I.P., Cherubin M.R. (2022). Nitrogen fertilizer consumption and nitrous oxide emissions associated with ethanol

production – A national-scale comparison between Brazilian sugarcane and corn in the United States, Journal of Cleaner Production. 350. 131482. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.131482

- Pallardy, S. G. (2010). Physiology of Woody Plants (Google eBook). 464. https://books.google.com/books/about/Physiology_of_Woody_Plants.html?hl=esid=lErfWWicYb4C
- Panwar, N. L., Kaushik, S. C., Kothari, S. (2011). Role of renewable energy sources in environmental protection: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 15(3), 1513–1524. https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.11.037
- Paryanto, I., Budianta, I. A., Alifia, K. C. H., Hidayatullah, I. M., Darmawan, M. A., Judistira, Prakoso, T., Indarto, A., Gozan, M. (2022). Modelling of Fuel Filter Clogging of B20 Fuel Based on the Precipitate Measurement and Filter Blocking Test. ChemEngineering, 6(6), 84. https://doi.org/10.3390/chemengineering6060084
- Pasqualino, J. C. (2006). *Cynara cardunculus* as an alternative crop for biodiesel production. [Tesis]. Universitat Rovira i Virgili. In Pain. http://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=8260
- Pereira, H., Gominho, J., Miranda, I., Pares, S. (1994). Chemical composition and raw-material quality of *Cynara cardunculus* L. biomass. Biomass for Energy and Industry., Ponte Press, Bochum, 1133–1137.
- Pesce, G. R., Fernandes, M. C., Mauromicale, G. (2020). Globe artichoke crop residues and their potential for bioethanol production by dilute acid hydrolysis. Biomass and Bioenergy, 134(October 2019), 105471. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105471
- Pesce, G. R., Mauromicale, G. (2019). *Cynara cardunculus* L.: Historical 1 and Economic Importance, Botanical Descriptions, Genetic Resources and Traditional Uses. In E. Portis, A. Acquadro, S. Lanteri (Eds.), The Globe Artichoke Genome. Springer. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-20012-1
- Pisarello, M. L. (2010). Producción De Biodiesel: Equilibrio Fisicoquímico Y Cinética De Esterificación Y Transesterificación Con Diferentes Catalizadores Y Alcoholes. [Tesis doctoral] Universidad Nacional del Litoral. http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8080/tesis/bitstream/handle/11185/291/tesis.pdf?sequence=1
- Piscioneri, I., Sharma, N., Baviello, G., Orlandini, S. (2000). Promising industrial energy crop, Cynara cardunculus: a potential source for biomass production and

alternative energy. Energy Conversion and Management, 41(10), 1091–1105. https://doi.org/10.1016/S0196-8904(99)00135-1

- Pittelkow, C. M., Liang, X., Linquist, B. A., et al. (2015). Productivity limits and potentials of the principles of conservation agriculture. *Nature*, *517*, 365–368. https://doi.org/10.1038/nature13809.
- Pittelkow, C. M., Linquist, B. A., Lundy, M. E., Liang, X., van Groenigen, K. J., Lee, J., van Gestel, N., Six, J., Venterea, R. T., van Kessel, C. (2015). When does no-till yield more? A global meta-analysis. Field Crops Research, 183, 156–168. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.07.020
- Proskurina, S., Junginger, M., Heinimö, J., Vakkilainen, E. (2019). Global biomass trade for energy – Part 1: Statistical and methodological considerations. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 13(2), 358–370. https://doi.org/10.1002/bbb.1841
- Polonini, L. F., Petrocelli, D., & Lezzi, A. M. (2023). The Effect of Flue Gas Recirculation on CO, PM and NOx Emissions in Pelet Stove Combustion. Energies, 16(2), 954. https://doi.org/10.3390/en16020954
- Putro, E. W., Suryadi, H., Sutriyo, Rahmani, N. (2025). Assisting fungal and enzymatic pretreatment to improve delignification of lignocellulosic biomass waste: A review. 020026. https://doi.org/10.1063/12.0039502
- Quilhó, T., Gominho, J., Pereira, H. (2004). Anatomical characterisation and variability of the thistle *Cynara cardunculus* in view of pulping potential. IAWA Journal, 25(2), 217–230. https://doi.org/10.1163/22941932-90000362
- R Core Team. (2024). A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. https://www.r-project.org/
- Raccuia, S. A., Gallo, G., Melilli, M. G. (2012). Effect of plant density on biomass and grain yields in *Cynara cardunculus* var. *altilis* cultivated in sicily. Acta Horticulturae, 942, 303–308. https://doi.org/10.17660/ACTAHORTIC.2012.942.43
- Raccuia, S. A., Melilli, M. G. (2007). Biomass and grain oil yields in *Cynara cardunculus* L. genotypes grown in a Mediterranean environment. Field Crops Research, 101(2), 187–197. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.11.006
- Raccuia, S. A., Melilli, M. G. (2010). Seasonal dynamics of biomass, inulin, and water-soluble sugars in roots *of Cynara cardunculus* L. Field Crops Research, 116(1–2), 147–153. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.12.005
- Rajaeifar, M. A., Ghobadian, B., Safa, M., Heidari, M. D. (2014). Energy life-cycle assessment and CO2 emissions analysis of soybean-based biodiesel: a case study.

Journal of Cleaner Production, 66, 233–241. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.10.041

- Ramos, M. J., Fernández, C. M., Casas, A., Rodríguez, L., Pérez, Á. (2009). Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. Bioresource Technology, 100(1), 261–268. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.039
- Rauch, R., Hrbek, J., Hofbauer, H. (2014). Biomass gasification for synthesis gas production and applications of the syngas. WIREs Energy and Environment, 3(4), 343–362. https://doi.org/10.1002/wene.97
- Reed, D., Bergman, R., Kim, J.-W., Taylor, A., Harper, D., Jones, D., Knowles, C., Puettmann, M. E. (2012). Cradle-to-Gate Life-Cycle Inventory and Impact Assessment of Wood Fuel Pelet Manufacturing from Hardwood Flooring Residues in the Southeastern United States*. Forest Products Journal, 62(4), 280–288. https://doi.org/10.13073/FPJ-D-12-00015.1
- Repsol. (2025). ¿Qué es la biomasa? Definición, ventajas y tipos. https://www.repsol.com/es/energia-avanzar/movilidad/biomasa/index.cshtml Visto el 15 de diciembre del 2025.
- Resquin Pérez, F. (2019). Producción de biomasa en plantaciones intensivas de Eucalyptus spp. en Uruguay. [Tesis]. Universidad de Córdoba. http://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/18685
- Ritchie, H., Rosado, P. (2020). Energy mix. Our World in Data. https://ourworldindata.org/energy-mix Visto el 1 de diciembre del 2025.
- Rodríguez Couto, S., Toca Herrera, J. L. (2006). Industrial and biotechnological applications of laccases: A review. Biotechnology Advances, 24(5), 500–513. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.04.003
- Rubin, E. M. (2008). Genomics of cellulosic biofuels. Nature, 454(7206), 841–845. https://doi.org/10.1038/nature07190
- Sadras, V., Calderini, D. (2021). Crop physiology: case histories for major crops (V. Sadras D. Calderini (Eds.)). Elsevier.
- SAGyP. (2026). Bioenergía moderna en argentina 2026.
- Salaheldeen, M., Mariod, A. A., Aroua, M. K., Rahman, S. M. A., Soudagar, M. E. M., Fattah, I. M. R. (2021). Current State and Perspectives on Transesterification of Triglycerides for Biodiesel Production. Catalysts, 11(9), 1121. https://doi.org/10.3390/catal11091121

- Santamaría Martínez, S. (2014). Impacto ambiental de los cultivos energéticos. [Tesis]. Universidad de Jaén. http://hdl.handle.net/10953.1/717
- Sanz, M., Mauri, P. V., Curt, M. D., Sánchez, J., García-Müller, M., Plaza, A., Fernández, J. (2016). Effect of plant density on biomass yield of *Cynara cardunculus*. Acta Horticulturae, 1147, 385–392. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1147.54
- Saosee, P., Sajjakulnukit, B., Gheewala, S. (2020). Life Cycle Assessment of Wood Pelet Production in Thailand. Sustainability, 12(17), 6996. https://doi.org/10.3390/su12176996
- Saranya, G., Ramachandra, T. V. (2020). Life cycle assessment of biodiesel from estuarine microalgae. Energy Conversion and Management: X, 8, 100065. https://doi.org/10.1016/j.ecmx.2020.100065
- Schueftan, A., Gonzalez, A. D. (2016). Mejorar la eficiencia térmica y el control de la contaminación atmosférica en ciudades con alto consumo de leña: estudio de caso en Valdivia. En: Boletín BES, Bosques - Energía - Sociedad, Año 2. N° 4. abril 2016. Observatorio de Los Combustibles Derivado de La Madera OCDM. Instituto Forestal, Chile, 24.
- Sengo, I., Gominho, J., D'Orey, L., Martins, M., D'Almeida-Duarte, E., Pereira, H., Ferreira-Dias, S. (2010a). Response surface modeling and optimization of biodiesel production from *Cynara cardunculus* oil. European Journal of Lipid Science and Technology, 112(3), 310–320. https://doi.org/10.1002/ejlt.200900135
- Sengo, I., Gominho, J., D'Orey, L., Martins, M., D'Almeida-Duarte, E., Pereira, H., Ferreira-Dias, S. (2010b). Response surface modeling and optimization of biodiesel production from Cynara cardunculus oil. European Journal of Lipid Science and Technology, 112(3), 310–320. https://doi.org/10.1002/ejlt.200900135
- Shankar Tumuluru, J., Sokhansanj, S., Hess, J. R., Wright, C. T., Boardman, R. D. (2011). REVIEW: A review on biomass torrefaction process and product properties for energy applications. Industrial Biotechnology, 7(5), 384–401. https://doi.org/10.1089/ind.2011.7.384
- Shapiro, S. S., Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). Biometrika, 52(3–4), 591–611. https://doi.org/10.1093/biomet/52.3-4.591

- Shen, J., Zhu, S., Liu, X., Zhang, H., Tan, J. (2010). The prediction of elemental composition of biomass based on proximate analysis. Energy Conversion and Management, 51(5), 983–987. https://doi.org/10.1016/j.enconman.2009.11.039
- Sidiras, D., Politi, D., Giakoumakis, G., Salapa, I. (2022). Simulation and optimization of organosolv based lignocellulosic biomass refinery: A review. Bioresource Technology, 343, 126158. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126158
- Sikkema, R., Junginger, M., Pichler, W., Hayes, S., Faaij, A. P. C. (2010). The international logistics of wood pelets for heating and power production in Europe: Costs, energy-input and greenhouse gas balances of pelet consumption in Italy, Sweden and the Netherlands. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 4(2), 132–153. https://doi.org/10.1002/bbb.208
- Sims, R. E. H., Mabee, W., Saddler, J. N., Taylor, M. (2010). An overview of second-generation biofuel technologies. Bioresource Technology, 101(6), 1570–1580. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.046
- Six, J., Elliott, E. T., & Paustian, K. (2000). Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: A mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biology and Biochemistry*, *32*(14), 2099–2103. https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00179-6.
- Sixto, H., Hernandez, M. J., Barrio, M., Carrasco, J., Cañellas, I. (2007). Populus genus for the biomass production for energy use: a review. Forest Systems, 16(3), 277–294. https://doi.org/10.5424/srf/2007163-01016
- Sjostrom, E. (1993). Wood Qhemistry: Fundamentals and Applications. In Academic Press (Ed.), Wood Chemistry (Second). Academic Press. https://books.google.com/books/about/Wood_Chemistry.html?hl=esid=Sv3xcS6eS5QC
- Smith, K. (2006). El uso doméstico de leña en los países en desarrollo y sus repercusiones en la salud. In FAO (Ed.), Unasylva: Los bosques y la salud humana (Perlis, A).
- Soares, S., Rocha, F. R. P. (2018). Fast Spectrophotometric Determination of Iodine Value in Biodiesel and Vegetable Oils. Article J. Braz. Chem. Soc, 29(8), 1701–1706. https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180044
- Somerville, C., Bauer, S., Brininstool, G., Facette, M., Hamann, T., Milne, J., Osborne, E., Paredez, A., Persson, S., Raab, T., Vorwerk, S., Youngs, H. (2004).

Toward a Systems Approach to Understanding Plant Cell Walls. Science, 306(5705), 2206–2211. https://doi.org/10.1126/science.1102765

- Stelte, W., Holm, J. K., Sanadi, A. R., Barsberg, S., Ahrenfeldt, J., Henriksen, U. B. (2011a). A study of bonding and failure mechanisms in fuel pelets from different biomass resources. Biomass and Bioenergy, 35(2), 910–918. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.11.003
- Stelte, W., Holm, J. K., Sanadi, A. R., Barsberg, S., Ahrenfeldt, J., Henriksen, U. B. (2011b). Fuel pelets from biomass: The importance of the peletizing pressure and its dependency on the processing conditions. Fuel, 90(11), 3285–3290. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.05.011
- Stolarski, M. J., Krzyżaniak, M., Warmiński, K., Niksa, D. (2016). Energy consumption and costs of heating a detached house with wood briquettes in comparison to other fuels. Energy Conversion and Management, 121, 71–83. https://doi.org/10.1016/j.enconman.2016.05.031
- Suh, S., Huppes, G. (2005). Methods for Life Cycle Inventory of a product. Journal of Cleaner Production, 13(7), 687–697. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2003.04.001
- Suman, S., Yadav, A. M., Tomar, N., Bhushan, A., Suman, S., Yadav, A. M., Tomar, N., Bhushan, A. (2020). Combustion Characteristics and Behaviour of Agricultural Biomass: A Short Review. Renewable Energy - Technologies and Applications. https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.91398
- Sun, Y., Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. Bioresource Technology, 83(1), 1–11. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7
- Sutar, D. D., Jadhav, S. V. (2022). Life cycle assessment of methanol production by natural gas route. Materials Today: Proceedings, 57, 1559–1566. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.12.164
- Taherzadeh, M., Karimi, K. (2007). Enzymatic-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review. BioResources, 2(4), 707–738.
- Tauro, R., Serrano-Medrano, M., Masera, O. (2018). Solid biofuels in Mexico: a sustainable alternative to satisfy the increasing demand for heat and power. Clean Technologies and Environmental Policy, 20(7), 1527–1539. https://doi.org/10.1007/s10098-018-1529-z

- Teleman, A. (2009). Wood Extractives: Wood resin in pulping and bleaching. In M. Ek, G. Gellerstedt, G. Henriksson (Eds.), Wood Chemistry and Biotechnology (1st ed.). DE Gruyter.
- Temmerman, M., Rabier, F., Jensen, P. D., Hartmann, H., Böhm, T. (2006). Comparative study of durability test methods for pelets and briquettes. Biomass and Bioenergy, 30(11), 964–972. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2006.06.008
- Thoai, D. N., Tongurai, C., Prasertsit, K., Kumar, A. (2019). Review on biodiesel production by two-step catalytic conversion. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 18, 101023. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101023
- Tien, M., Kirk, T. K. (1984). Lignin-degrading enzyme from Phanerochaete chrysosporium: Purification, characterization, and catalytic properties of a unique H 2 O 2 -requiring oxygenase. Proceedings of the National Academy of Sciences, 81(8), 2280–2284. https://doi.org/10.1073/pnas.81.8.2280
- Torrentes Espinoza, G. (2021). Retrospectiva y prospectiva del Desarrollo de las generaciones de biocombustibles. Ciencia y Tecnología, 53–63. https://doi.org/10.18682/cyt.vi21.2593
- Tukey, J. W. (1949). Comparing Individual Means in the Analysis of Variance. Biometrics, 5(2), 99. https://doi.org/10.2307/3001913
- Tumuluru, J.S., Wright, C.T., Hess, J.R. & Kenney, K.L. (2011). A review of biomass densification systems to develop uniform feedstock commodities for bioenergy application. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 5, 683–707. https://doi.org/10.1002/bbb.324
- Ulu, A., Yildiz, G., Rodriguez, A. D., Özkol, Ü. (2022). Spray Analysis of Biodiesels Derived from Various Biomass Resources in a Constant Volume Spray Chamber. ACS Omega, 7(23), 19365–19379. https://doi.org/10.1021/acsomega.2c00952
- UNE-CEN/TS 15210-1. (2005). UNE-CEN. (2005). Solid biofuels - Determination of mechanical durability of pelets and briquettes - Part 1: Pelets.
- UNE-EN 14107. (2003). Fat and oil derivatives — Fatty Acid Methyl Esters (FAME) — Determination of phosphorus content by inductively coupled plasma (ICP) emission spectrometry. Asociación Española de Normalización.
- UNE-EN 14774-3. (2010). Solid biofuels - Determination of moisture content - Oven dry method - Part 3: Moisture in general analysis sample. Asociación Española de Normalización.

- UNE-EN 14775. (2009). Solid biofuels - Determination of ash content. Asociación Española de Normalización.
- UNE-EN 14785. (2007). Residential space heating appliances fired by wood pelets - Requirements and test methods. Asociación Española de Normalización.
- UNE-EN 15148. (2009). UNE-EN. Solid biofuels - Determination of the content of volatile matter. Asociación Española de Normalización.
- UNE-EN ISO 12937. (2000). Productos petrolíferos. Determinación de agua. Método de valoración coulométrica Karl Fischer. Asociación Española de Normalización.
- Ungureanu, N., Paraschiv, G., Ionescu, M., Grigore, I. (2016). Production Status of Biomass Pelets – Review. Durable Agriculture – Agriculture of the Future, XLVI (February 2017), 574–581.
- USDA. (2025). Oilseeds and Products Annual - Buenos Aires - Argentina - AR2025-0006 | PDF | Soybean | Vegetable Oil. https://es.scribd.com/document/882499884/Oilseeds-and-Products-Annual-Buenos-Aires-Argentina-AR2025-0006
- van Capelle, C., Schrader, S., & Brunotte, J. (2012). Tillage-induced changes in the functional diversity of soil biota – A review with a focus on German data. European Journal of Soil Biology, *50*, 165–181. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2012.02.005.
- Van Gerpen, J. (2004). Biodiesel production technology. USDA/NCAUR.
- Vassilev, S., Baxter, D., Andersen, L. K., Vassileva, C. G. (2010). An overview of the chemical composition of biomass. Fuel, 89(5), 913–933. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2009.10.022
- Vassilev, S. V., Baxter, D., Andersen, L. K., Vassileva, C. G. (2013). An overview of the composition and application of biomass ash. Part 1. Phase–mineral and chemical composition and classification. Fuel, 105, 40–76. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.09.041
- Vassilev, S. V., Vassileva, C. G., Song, Y.-C., Li, W.-Y., Feng, J. (2017). Ash contents and ash-forming elements of biomass and their significance for solid biofuel combustion. Fuel, 208, 377–409. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.07.036
- Velasco, P., Guadabrazo, M. S. (2019). Cultivos energéticos y biocombustibles. Experticia Agro Alimentos Ambiente, 10.
- Velázquez Martí, B. (2018). Aprovechamiento de la biomasa para uso energético. [Tesis]. (Universitat Politècnica de València (Ed.)). https://riunet.upv.es/handle/10251/113122

- Vignote Peña, S. (2016). La biomasa, importancia, características y formas de preparación. https://www.researchgate.net/profile/Santiago-Pena-5/publication/311171316_La_biomasa_Importancia_tipos_y_caracteristicas_y_formas_de_preparacion/links/583ecc5d08ae8e63e617d4dc/La-biomasa-Importancia-tipos-y-caracteristicas-y-formas-de-preparacion.pdf
- Wan, C., Li, Y. (2012). Fungal pretreatment of lignocellulosic biomass. Biotechnology Advances, 30(6), 1447–1457. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.03.003
- Wariishi, H., Valli, K., Gold, M. H. (1992). Manganese (II) oxidation by manganese peroxidase from the basidiomycete Phanerochaete chrysosporium. Kinetic mechanism and role of chelators. Journal of Biological Chemistry, 267(33), 23688–23695. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)35893-9
- Whittaker, C., Shield, I. (2017). Factors affecting wood, energy grass and straw pelet durability – A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 71, 1–11. https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.119
- Woźniak, A., Kuligowski, K., Świerczek, L., Cenian, A. (2025). Review of Lignocellulosic Biomass Pretreatment Using Physical, Thermal and Chemical Methods for Higher Yields in Bioethanol Production. Sustainability, 17(1), 287. https://doi.org/10.3390/su17010287
- Xia, A., Deng, Z., Qin, T., Zhu, X., Huang, Y., Zhu, X., Liao, Q. (2024). A reaction–diffusion coupled kinetic model for hydrothermal acid pretreatment of wheat straw. Chemical Engineering Journal, 486, 150198. https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.150198
- Xu, H., Ou, L., Li, Y., Hawkins, T. R., Wang, M. (2022). Life Cycle Greenhouse Gas Emissions of Biodiesel and Renewable Diesel Production in the United States. Environmental Science Technology, 56(12), 7512–7521. https://doi.org/10.1021/acs.est.2c00289
- Yang, B., Wyman, C. E. (2008). Pretreatment: the key to unlocking low-cost cellulosic ethanol. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 2(1), 26–40. https://doi.org/10.1002/bbb.49
- YPF. (2022) ¿Cuánto Pesa la Nafta? Una Guía Detallada de YPF. https://ypfelcruce.com.ar/densidad-de-naftas-ypf/ Visto el 27 de enero del 2026.
- YPF. (2025). Poder Calorífico del Diésel: Guía Completa. https://ypfelcruce.com.ar/poder-calorifico-diesel-ypf/ Visto el 27 de enero del 2026.

- Zagrodnik, R., Duber, A., Seifert, K. (2021). Hydrogen production during direct cellulose fermentation by mixed bacterial culture: The relationship between the key process parameters using response surface methodology. Journal of Cleaner Production, 314, 127971. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127971
- Zhang, H., He, J., Li, S., Iojoiu, E. E., Galvez, M. E., Xiong, H., Da Costa, P., Chen, Y. (2020). Effect of Biodiesel impurities (K, Na, P) on non-catalytic and catalytic activities of Diesel soot in model DPF regeneration conditions. Fuel Processing Technology, 199, 106293. https://doi.org/10.1016/J.FUPROC.2019.106293
- Zhang, Z., Xing, J., Li, X., Lu, X., Liu, G., Qu, Y., Zhao, J. (2024). Review of research progress on the production of cellulase from filamentous fungi. International Journal of Biological Macromolecules, 277, 134539. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134539
- Zhao, X., Cheng, K., Liu, D. (2009). Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. Applied Microbiology and Biotechnology, 82(5), 815–827. https://doi.org/10.1007/s00253-009-1883-1
- Zhao, X., Zhang, L., Liu, D. (2012). Biomass recalcitrance. Part I: the chemical compositions and physical structures affecting the enzymatic hydrolysis of lignocellulose. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 6(4), 465–482. https://doi.org/10.1002/bbb.1331
- Zhou, P., Lv, Y., Wen, W. (2023). The Low-Carbon Transition of Energy Systems: A Bibliometric Review from an Engineering Management Perspective. Engineering, 29, 147–158. https://doi.org/10.1016/j.eng.2022.11.010

ANEXO I:

Procedimientos realizados en capítulo 4 (Biodiesel)

• Perfil de ácidos grasos – IRAM 5652

Esta norma establece la metodología para la determinación de ácidos grasos por cromatografía en fase gaseosa de sus ésteres metílicos para aceites y grasas vegetales y animales. La preparación de las muestras se realiza de acuerdo al procedimiento descripto en IRAM 5652.

Condiciones de análisis

- Cromatógrafo: PerkinElmer – Clarus 580
- Columna: ZB-WAX
- Cerrier: He
- Flujo del carrier: 1 ml/min
- Relación de Split: 50
- Temperatura del inyector y detector: 250 ºC
- Programa de temperatura del horno:
- $60\ ℃\ (2\ \text{min}) \xrightarrow{10\ ℃/min} 200\ ℃ \xrightarrow{5\ ℃/min} 240\ ℃\ (7\ \text{min})$
- Volumen de muestra: 1 µl
- Detector: FID

Cálculos

Para la identificación de los compuestos se emplean patrones certificados (Supelco 37 component FAME Mix). Se cuantifica el área total de ésteres ($A_E = 100 - A_{ste}$) y se calcula la contribución porcentual de cada ácido graso en la mezcla (g/100 g muestra).

Contenido de mono-, di- y triglicéridos, glicerina libre y total; mediante cromatografía gaseosa (g/100 g muestra):

Las normas internacionales especifican que la determinación de los glicéridos en muestras de biodiesel se debe realizar según las normas ASTM D-6584 o UNE-EN 14105, que son muy similares entre sí. Estas normas establecen el uso de disoluciones de calibración, y dos estándares internos, que son el butanotriol (1,2,4-butanotriol) y la tricaprina (1,2,3-tricaprilglicerol), para cuantificar glicerina libre y mono-, di- y

triglicéridos, respectivamente. Todas las muestras deben de ser tratadas previamente al análisis, transformando los glicéridos en sus derivados sililados, más volátiles, en presencia de piridina y N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida (MSTFA).

Procedimiento

Se pesa con precisión 100 mg de la muestra bien homogeneizada, en un vial de 10 ml, se añaden ambos estándares internos con jeringa: 80 µl de butanotriol y 100 µl de tricaprina; y 100 µl de MTSFA. Se cierra, se homogeiniza, y se deja reposar 15 min a temperatura ambiente. Se añaden 3 ml de hexanos y luego se inyecta.

Condiciones de análisis

- Cromatógrafo: PerkinElmer – Clarus 580
- Columna: ZB-5HT
- Cerrier: He
- Flujo del carrier: 3 ml/min
- Temperatura del inyector: 5 ºC por encima de la temperatura del horno.
- Programa de temperatura del horno:
- $50\ ℃\ (1\ \text{min}) \xrightarrow{15\ ℃/min} 180\ ℃ \xrightarrow{7\ ℃/min} 230\ ℃ \xrightarrow{10\ ℃/min} 380\ ℃\ (6\ \text{min})$
- Volumen de muestra: 1 µl
- Detector: FID
- Temperatura del detector: 380 ºC

Cálculos

Cuantificadas las áreas de los compuestos de interés, con los factores de respuesta obtenidos con las calibraciones, se determina la concentración expresada en porciento en peso de la glicerina libre (GL) y los mono-(MG), di-(DG) y tri-glicéridos(TG). Luego con la siguiente expresión, descripta en las normas, se calcula el contenido de glicerina total (GT):

$$GT = GL + (MG * 0{,}255) + (DG * 0{,}146) + (TG * 0{,}103)$$

Contenido Fósforo (gr fósforo/100 gr muestra) - AOCS CA 12-55

Procedimiento

1- Pesar de 3,3 – 3,2 g de la muestra en un crisol limpio y rotulado.
2- Agregar 0,5 g ZnO.
3- Preparar blanco de reactivo (sin muestra, solo con los 0,5 g de ZnO).
4- Calentar levemente hasta que espese la muestra. Aumentar levemente el calentamiento hasta carbonizar completamente.
5- Llevar a mufla a 550 ºC durante 2 h. Enfriar a temperatura ambiente.
6- Agregar a cada crisol 5 ml de H_2O destilada caliente (a ebullición suave) y 5 ml de HCl concentrado con pipeta, lavando las paredes del crisol.
7- Cubrir inmediatamente con vidrio reloj y calentar hasta ebullición suave (presencia de gotas condensadas en el vidrio reloj).
8- Filtrar en matraces de 50 ml para muestras que se suponen que poseen nulo-bajo contenido de P, 100 o 200 ml para muestras de bajo-moderado contenido de P y 500 ml para alto contenido. Hacerlo con ayuda de un vigilante de vidrio, lavar el vidrio y el crisol con pequeñas porciones de agua destilada caliente.
9- Enfriar a temperatura ambiente y neutralizar hasta aparición de precipitado blanco de ZnO, con una pequeña cantidad de solución de KOH al 50 % p/p. agregar HCl concentrado en pequeñas cantidades hasta redisolución del sólido, y agregar 2 gotas más. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con H_2O destilada, tapar mezclar cuidadosamente.
10- Pipetear 10 ml de la solución preparada anteriormente en matraz de 50 ml (bien limpio y seco).
11- Agregar 8 ml de solución de sulfato de hidracina ($N_2H_6SO_4$) y 2 ml de solución de molibdato de sodio ($Na_2MoO_4.2H_2O$) en ese orden (si no se realiza así, no se desarrollara color).
12- Tapar e invertir 2 o 3 veces para mezclar bien. Sacar la tapa y calentar 10±0,5 min en baño de agua hirviendo vigorosamente.
13- Sacar del baño, enfriar a temperatura ambiente, llevar a volumen con agua destilada, tapar y mezclar cuidadosamente.
14- Transferir a una cubeta limpia y seca. Con la lámpara del espectrofotómetro encendida un tiempo antes para que se caliente bien, medir absorbancia a 825 nm

con el equipo ajustado 100% Abs para la cubeta con el blanco de reactivos. En el caso de realizar mediciones de varias muestras, realizarlo por orden creciente de contenido de P (visualmente, del azul más claro al más oscuro).

15- Con absorbancia medida, calcular el contenido de P en mg con la ecuación de la curva del equipo:

$$Abs = 17{,}088 * mgP + 0{,}005$$

Para la curva de calibrado se realizan distintas disoluciones de una solución de KH_2PO_4 en agua destilada y se opera de igual forma a partir del punto 11.

Preparación de soluciones

- Molibdato de sódio ($N_2H_6SO_4$): Agregar 140 ml de H_2SO_4 a 300 ml de agua destilada. Enfriar a temperatura ambiente y agregar 12,5 g de Molibdato de sodio sólido. Diluir a 500 ml de agua destilada. Dejar en reposo al menos 24 h antes del uso.
- Sulfato de Hidracina ($N_2H_6SO_4$) al 0,015 %p/p: Disolver 0,150 g de sulfato de hidracina em 1 l de agua destilada.
- Hidróxido de Potasio (KOH) al 50%: disolver 50 g de KOH en 50 ml de agua destilada.

ANEXO II:

1. INTRODUCCIÓN

Una vez alcanzados los objetivos originalmente planteados en esta tesis, orientados a evaluar la potencialidad de *Cynara cardunculus* L. var. *altilis* como cultivo energético, el efecto del manejo agronómico y la caracterización de su biomasa para diferentes rutas de conversión energética y, a partir de los resultados obtenidos se consideró pertinente la realización de un ensayo complementario.

Los estudios realizados demostraron el elevado potencial de la especie tanto para la producción de biomasa lignocelulósica como de granos, así como su versatilidad para el aprovechamiento energético mediante distintas alternativas de biocombustibles. En este contexto, y considerando que la expansión de los cultivos bioenergéticos debe minimizar la competencia con tierras agrícolas de alta aptitud productiva, surgió la necesidad de estudiar el comportamiento del cardo en ambientes marginales.

Los ambientes con limitaciones edáficas, tales como exceso hídrico y salinidad, representan un desafío significativo para numerosos cultivos tradicionales. Sin embargo, al mismo tiempo, constituyen una oportunidad estratégica para el desarrollo de especies rústicas y tolerantes, destinadas a la producción de biomasa con fines energéticos, sin comprometer la producción de alimentos ni intensificar la presión sobre suelos de alto valor agrícola.

Si bien el presente estudio no formó parte de los objetivos específicos originalmente planteados en la tesis, su inclusión aporta información relevante y complementaria, ya que amplía la evaluación del cardo como cultivo bioenergético más allá de sistemas productivos de alta productividad. De este modo, el ensayo contribuye a una visión más integral del potencial del cardo, incorporando escenarios de uso de suelos marginales y reforzando su interés como alternativa sostenible dentro de estrategias de diversificación energética y aprovechamiento de tierras con restricciones productivas.

OBJETIVO

Evaluar el comportamiento durante la germinación y el crecimiento vegetativo de una población de *Cynara cardunculus* L. var. *altilis* sometida a condiciones de estrés hídrico y salino.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en condiciones controladas de invernadero, utilizando semillas de *Cynara cardunculus* L. var. *altilis* provenientes del ensayo a campo descripto en el Capítulo 1 de la presente tesis.

2.1.Germinación

Las semillas fueron sembradas en bandejas tipo *speedling* (55 cc por alvéolo), utilizándo sustrato comercial y disponiéndose una semilla por alvéolo (Fig. 1).

Figura 52: Ensayo de germinación. Tratamientos sin anegamiento



El experimento se llevó a cabo bajo un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial, en el que se evaluaron dos factores: anegamiento y salinidad.

El anegamiento se indujo colocando los *speedlings* en bandejas profundas e inundándolos completamente con agua de ósmosis inversa (Fig. 2). Se evaluaron dos períodos de inundación, contabilizando los días a partir de la siembra: 3 días (A1) y 6 días (A2).

Finalizado el período correspondiente, se eliminó el excedente de agua y se continuó con el riego diario.

Figura 53: Ensayo de germinación. Tratamientos con anegamiento



La salinidad se aplicó mediante riego diario con soluciones de cloruro de sodio (NaCl) a concentraciones de 5 (S1), 15 (S2) y 25 (S3) mM.

Todas las combinaciones entre ambos factores generaron un total de 11 tratamientos (2 niveles de anegamiento × 3 niveles de salinidad × combinación de ambos factores. Además, se incluyó un tratamiento testigo (A0S0), sin anegamiento y regado exclusivamente con agua de ósmosis inversa (0 mM NaCl) (Tabla 1).

Tabla 25: Tratamientos realizados durante el ensayo de germinación. Anegamiento: Duración= 0 (A0), 3 (A1) y 6 (A2); salinidad: 0 (S0), 5 (S1), 15 (S2) y 25 mM (S3)

Tratamientos	**Duración de anegamiento (días)**	**Salinidad (mM)**
Testigo (A0S0)	0	0
Tratamiento 1 (A0S1)	0	5
Tratamiento 2 (A0S2)	0	15
Tratamiento 3 (A0S3)	0	25
Tratamiento 4 (A1S0)	3	0
Tratamiento 5 (A1S1)	3	5
Tratamiento 6 (A1S2)	3	15
Tratamiento 7 (A1S3)	3	25

Tratamiento 8 (A2S0)	6	0
Tratamiento 9 (A2S1)	6	5
Tratamiento 10 (A2S2)	6	15
Tratamiento 11 (A2S3)	6	25

Cada tratamiento fue evaluado con tres repeticiones de cuatro semillas cada una (una semilla por alvéolo).

Durante los 18 días posteriores a la siembra se determinó:

- el porcentaje de germinación (% PG), calculado como el número de semillas germinadas sobre el total sembrado;
- el índice de velocidad de germinación (IVG), calculado según la siguiente expresión (Ecuación 1):

Ecuación 1: Expresión para el cálculo del Índice de Velocidad de Germinación

$$IVG = \frac{\Sigma ni}{\Sigma\, ti}$$

Donde:

- IVG: índice de velocidad de germinación;
- n_i representa el número de semillas germinadas en el intervalo de tiempo t_i;
- $\sum t_i$ corresponde al período total (en días) transcurrido desde la siembra hasta la finalización del ensayo.

2.2.Etapa vegetativa

Las plántulas obtenidas en el ensayo de germinación fueron trasplantadas al estadio de dos hojas verdaderas (Fig. 3) a macetas de 20 L de capacidad, que contenían una mezcla de sustrato comercial y perlita en una proporción 3:1 (v/v). Estas plantas continuaron su desarrollo bajo los tratamientos de anegamiento y salinidad previamente establecidos, manteniéndose las concentraciones aplicadas desde la etapa de germinación.

Figura 54: Plántula con dos hojas verdaderas en el momento del trasplante



Con el objetivo de evaluar el efecto del momento de aplicación del anegamiento (durante la siembra o durante el desarrollo vegetativo), se incorporó un conjunto adicional de plantas que no habían sido sometidas a anegamiento durante la germinación. En estas plantas, el anegamiento fue inducido al momento del trasplante por períodos de 3 y 6 días.

De esta manera, durante la etapa vegetativa se evaluaron distintas combinaciones (Tabla 2) entre:

- duración del anegamiento (0, 3 y 6 días)
- momento de aplicación (germinación o trasplante)
- salinidad (0, 5, 15 y 25 mM)

Tabla 26: Tratamientos evaluados durante la etapa vegetativa. Condición de anegamiento: Duración= 0 (A0), 3 (A1) y 6 (A2); Momento= en germinación (G) o en trasplante (T); salinidad: 0 (S0), 5 (S1), 15 (S2) y 25 mM (S3)

Tratamientos	**Condición de anegamiento**		**Salinidad (mM)**
	Duración (días)	**Momento**	
Testigo (A0S0)	0	-	0
Tratamiento 1 (A0S1G)	0	-	5
Tratamiento 2 (A0S2G)	0	-	15
Tratamiento 3 (A0S3G)	0	-	25
Tratamiento 4 (A1S0G)	3	Germinación	0

Tratamiento 5 (A1S1G)	3	Germinación	5
Tratamiento 6 (A1S2G)	3	Germinación	15
Tratamiento 7 (A1S3G)	3	Germinación	25
Tratamiento 8 (A2S0G)	6	Germinación	0
Tratamiento 9 (A2S1G)	6	Germinación	5
Tratamiento 10 (A2S2G)	6	Germinación	15
Tratamiento 11 (A2S3G)	6	Germinación	25
Tratamiento 12 (A1S0T)	3	Trasplante	0
Tratamiento 13 (A1S1T)	3	Trasplante	5
Tratamiento 14 (A1S2T)	3	Trasplante	15
Tratamiento 15 (A1S3T)	3	Trasplante	25
Tratamiento 16 (A2S0T)	6	Trasplante	0
Tratamiento 17 (A2S1T)	6	Trasplante	5
Tratamiento 18 (A2S2T)	6	Trasplante	15
Tratamiento 19 (A2S3T)	6	Trasplante	25

Debido a limitaciones de espacio en el invernadero, el tamaño muestral se estableció en cinco plántulas por combinación de tratamientos.

Los tratamientos de salinidad se aplicaron mediante riego regular con las soluciones correspondientes, mientras que el anegamiento se realizó manteniendo el nivel de agua por encima del sustrato durante el período definido para cada tratamiento. Finalizados los tratamientos de anegamiento, las macetas se drenaron y continuaron su crecimiento bajo condiciones normales de riego.

A los cuatro meses posteriores al trasplante, se cortó la totalidad de la biomasa aérea de cada planta. El material vegetal se pesó en fresco y los resultados se expresaron como biomasa aérea total (g planta^{-1}).

2.3.Análisis estadísticos

La normalidad de los datos se evaluó mediante la prueba de Shapiro Wilk (1965) y la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Barlett (1937). Cuando los datos no cumplieron con el supuesto de normalidad, se aplicaron transformaciones mediante la función exponencial. En la etapa vegetativa, el diseño experimental no correspondió a un factorial completo, dado que el anegamiento no fue aplicado en todos los tratamientos

bajo las mismas condiciones temporales. En particular, el anegamiento durante el trasplante solo se aplicó a plantas que no habían sido previamente anegadas durante la germinación, mientras que el tratamiento sin anegamiento (0 días) no presenta un momento de aplicación asociado. Por este motivo, no fue posible analizar de forma independiente los factores duración y momento del anegamiento. En consecuencia, el análisis estadístico se realizó considerando un factor compuesto denominado "condición de anegamiento", que integró duración y momento de aplicación y se evaluó su interacción con la salinidad mediante un análisis de varianza (ANOVA).

Los resultados se expresan como valores promedio ± error estándar (EE), calculado como el desvío estándar dividido por la raíz cuadrada del número de repeticiones (n = 5). Las comparaciones entre medias se efectuaron mediante la prueba de Tukey (1949) con un nivel de significancia del 5 % ($p < 0,05$). El análisis estadístico se realizó utilizando el software RStudio.

3. RESULTADOS

3.1.Geminación

El análisis de la varianza no evidenció efectos significativos de los factores anegamiento y salinidad, ni de su interacción, sobre el porcentaje de germinación (% PG). Por el contrario, el índice de velocidad de germinación (IVG) evidenció diferencias significativas en respuesta al factor anegamiento, sin detectarse efectos significativos de la salinidad ni de la interacción entre factores (Tabla 3)

Tabla 27:Resultados del ANOVA (probabilidades de F) para el Poder Germinativo (% PG) y para el Índice de Velocidad de Germinación (IVC)

	% PG	**IVG**
Anegamiento	$0,07^{ns}$	$1,65x10^{-4\ *}$
Salinidad	$0,12^{\ ns}$	$0,23^{\ ns}$
*Anegamiento * Salinidad*	$0,57^{\ ns}$	$0,15^{\ ns}$

*ns: no significativo (P < 0,05); *: significativo (P < 0,05)*

Los valores medios del IVG para el factor anegamiento, independientemente del nivel de salinidad, se presentan en la Tabla 4. El anegamiento durante 3 días no produjo diferencias significativas respecto al tratamiento sin anegamiento (0,54 vs 0,66). Sin embargo, un período de anegamiento de 6 días provocó una disminución significativa del

IVG (0,27), evidenciando un retraso en la germinación bajo condiciones de mayor duración del estrés hídrico.

Tabla 28: Índice de Velocidad de Germinación para el factor anegamiento. (media ± EE)

Anegamiento	IVG promedio
0 días	0,66 ± 0,07[a]
3 días	0,54 ± 0,08[a]
6 días	0,27± 0,04[b]

Letras diferentes indican diferencias significativas (prueba de Tukey, p < 0,05)

3.2.Etapa vegetativa

Dado que el momento de aplicación del anegamiento se encuentra anidado dentro del factor anegamiento, y que el tratamiento sin anegamiento (0 días) corresponde a una condición control sin aplicación de dicho factor, los datos no conformaron un diseño factorial completo de tres factores. Por este motivo, el análisis estadístico se realizó considerando las combinaciones de tratamientos como niveles de un factor compuesto ("condición de anegamiento") en interacción con la salinidad.

El peso de la biomasa aérea a los cuatro meses del trasplante estuvo significativamente influenciado tanto por la condición de anegamiento como por la salinidad ($p < 0,05$), registrándose además una interacción significativa entre ambos factores (Tabla 5).

Tabla 29: Resultados del ANOVA (probabilidades de F) para el peso final de la biomasa, medida a los 4 meses del trasplante

	Peso
Condición	$1,48x10^{-6*}$
Salinidad	$1,53x10^{-5*}$
*Condición * Salinidad*	$8,10x10^{-3*}$

**: significativo (P < 0,05).*

El análisis estadístico mostró una interacción significativa entre la condición de anegamiento y la salinidad (Tabla 5).

A 0 y 5 mM de Cloruro de Sodio (NaCl), las plantas anegadas durante el trasplante presentaron los mayores valores de biomasa aérea. A 0 mM, los tratamientos de 3 y 6 días de anegamiento durante el trasplante alcanzaron 188,0 g y 210,0 g, respectivamente,

valores significativamente superiores al testigo sin anegamiento (45,2 g) y a los tratamientos anegados durante la siembra (59,8 y 85,4 g para 3 y 6 días de anegamiento). A 5 mM, se observó el mismo patrón, con valores de 230,0 g (3 días) y 251,0 g (6 días) para el trasplante, superiores al testigo (130,2 g) y a los tratamientos anegado durate la siembra (161,8 y 154,4 g para 3 y 6 días de anegamiento). No se detectaron diferencias significativas entre las duraciones de anegamiento dentro de un mismo momento de aplicación.

A 15 mM de NaCl, no se observaron diferencias significativas entre las distintas condiciones de anegamiento, con valores de biomasa comprendidos entre 135,8 g y 202,0 g. A 25 mM, tampoco se detectaron diferencias significativas entre tratamientos, con valores que oscilaron entre 119,4 g y 146,8 g.

En todas las condiciones de anegamiento, los valores aumentaron de 0 a 5 mM de NaCl y luego disminuyeron a 15 y 25 mM. Por ejemplo, en el tratamiento de 6 días de anegamiento durante el trasplante, el valor máximo se observó a 5 mM (251,0 ± 26,9 g), mientras que a 15 y 25 mM se registraron 155,2 ± 34,9 g y 126,0 ± 25,9 g, respectivamente (Tabla 6).

Tabla 30: Efecto de la interacción entre la Condición de anegamiento (combinación entre el momento y la cantidad de días de anegamiento) y la Salinidad (media ± EE)

Condición de anegamiento	0 mM	5 mM	15 mM	25 mM
0 días – sin anegamiento	45,2 ± 7,1^{b}	130,2 ±14,3^{b}	141,6 ± 25,0^{a}	121,4 ± 16,5^{a}
3 días – siembra	59,8 ± 8,7^{b}	161,8 ± 7,6^{b}	167,0 ± 13,3^{a}	132,8 ± 12,3^{a}
6 días – siembra	85,4 ± 22,0^{b}	154,4 ± 22,0^{b}	135,8 ± 22,0^{a}	119,4 ± 22,0^{a}
3 días – trasplante	188,0 ± 27,9^{a}	230,0 ± 28,9^{a}	202,0 ± 36,8^{a}	146,8 ± 39,5^{a}
6 días – trasplante	210,0 ± 9,4^{a}	251,0 ± 26,9^{a}	155,2 ± 34,9^{a}	126,0 ± 25,9^{a}

Valores expresados como media ± error estándar (n = 5). Letras distintas dentro de una misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos (prueba de Tukey, $p < 0,05$)

4. DISCUSIÓN

La germinación constituye una etapa crítica del ciclo ontogénico, altamente sensible a condiciones ambientales. Factores como el estrés hídrico y salino suelen afectar negativamente tanto la velocidad como el porcentaje de germinación en muchas especies debido a efectos osmóticos y tóxicos asociados a la acumulación de iones Na^{+} y Cl^{-}, que interfieren con la imbibición, la activación enzimática y la respiración del embrión. Sin

embargo, en el presente estudio, el porcentaje de germinación (% PG) no se vio significativamente afectado por el anegamiento ni por la salinidad, lo que indica que las semillas de *Cynara cardunculus* var. *altilis* mantuvieron su viabilidad aún bajo condiciones de estrés moderado. Sin embargo, el índice de velocidad de germinación (IVG) disminuyó significativamente cuando el anegamiento se prolongó durante 6 días, lo que indica un retraso en la emergencia más que una pérdida de viabilidad per se. Esta respuesta sugiere que la especie posee mecanismos fisiológicos que permiten completar el proceso germinativo incluso bajo estrés hídrico, aunque con una reducción en la tasa metabólica inicial. La hipoxia generada por el anegamiento probablemente limita la respiración aeróbica durante la fase de imbibición, afectando procesos metabólicos esenciales para la protrusión radicular (Jiménez et al., 2024). Estudios en especies tolerantes al estrés hídrico y salino han mostrado respuestas similares, en las que las semillas pueden permanecer viables bajo potenciales hídricos bajos y recuperan su capacidad germinativa una vez removido el estrés, lo que enfatiza la importancia de la fase de imbibición y metabolismo inicial para determinar la velocidad de germinación (Dágata et al., 2022).

El peso final de la biomasa aérea estuvo significativamente influenciado tanto por la condición de anegamiento como por la salinidad, registrándose además una interacción significativa entre ambos factores. Este resultado es consistente con antecedentes que señalan que la combinación de salinidad y anegamiento frecuentemente genera efectos más severos sobre el crecimiento que cada estrés individualmente, debido a alteraciones en la homeostasis iónica y estrés oxidativo que se superponen en las plantas expuestas a ambos estímulos al mismo tiempo (Tahjib-Ul-Arif et al., 2023).

Un aspecto particularmente relevante fue la mayor biomasa observada en plantas sometidas a anegamiento durante el trasplante, especialmente a salinidades bajas a moderadas, con valores máximos registrados a 5 mM de NaCl. Este efecto podría asociarse a una mayor disponibilidad de agua y nutrientes en un momento crítico de expansión del sistema radicular, favoreciendo el establecimiento inicial de la planta.

Por el contrario, el anegamiento durante la siembra puede haber afectado etapas tempranas del desarrollo radical, limitando la formación de raíces funcionales y comprometiendo la capacidad de absorción de agua y nutrientes en etapas posteriores. La marcada diferencia en la respuesta según el momento de aplicación del anegamiento

refuerza la importancia del estadio fenológico en la tolerancia a condiciones de estrés combinado.

A salinidades más elevadas (15 y 25 mM), las diferencias entre tratamientos tendieron a atenuarse, no detectandose efectos significativos del anegamiento. Esto sugiere que, bajo condiciones de mayor estrés salino, se alcanza un umbral fisiológico que limita el crecimiento vegetal independientemente del momento o la duración del anegamiento. En este contexto, la reducción del crecimiento podría vincularse a restricciones en la absorción de agua, acumulación iónica y alteraciones en la fotosíntesis y el metabolismo energético.

En conjunto, los resultados indican que C. *cardunculus* var. *altilis* presenta una tolerancia moderada a condiciones combinadas de anegamiento y salinidad, particularmente cuando el exceso hídrico ocurre en etapas posteriores al establecimiento inicial.

5. CONCLUSIÓN

Cynara cardunculus var. *altilis* mostró una elevada tolerancia al estrés por anegamiento y salinidad durante la etapa de germinación, manteniendo el poder germinativo aún bajo condiciones adversas. No obstante, la velocidad de germinación se vio reducida cuando el anegamiento se prolongó, lo que indica una mayor sensibilidad de esta variable a condiciones de hipoxia.

Durante la etapa vegetativa, el crecimiento de las plantas estuvo condicionado por la interacción entre anegamiento y salinidad, evidenciando que estos factores no actúan de manera independiente. El momento de ocurrencia del anegamiento resultó determinante, observándose que el exceso hídrico aplicado durante el trasplante fue mejor tolerado que aquel ocurrido durante la siembra, particularmente a bajas y moderadas salinidades.

Desde una perspectiva agronómica, estos resultados destacan la importancia del manejo del anegamiento en etapas tempranas del desarrollo del cultivo, especialmente en ambientes con suelos salinos o propensos al exceso hídrico. En este sentido, *C. cardunculus* se perfila como una alternativa viable para sistemas productivos en suelos marginales, bajo escenarios de creciente variabilidad climática.

Alcances y limitaciones del estudio

El presente ensayo se desarrolló bajo condiciones controladas de invernadero, lo que permitió aislar y evaluar de manera precisa los efectos del anegamiento y la salinidad sobre la germinación y el crecimiento vegetativo inicial de *Cynara cardunculus* var. *altilis*. Sin embargo, estas condiciones no reproducen completamente la complejidad de los ambientes de campo, donde los factores edáficos, climáticos y biológicos interactúan de manera dinámica.

Asimismo, el período de evaluación se limitó a las etapas tempranas del desarrollo del cultivo, por lo que no se analizaron posibles efectos a largo plazo sobre la producción de biomasa o rendimiento en grano. En este sentido, futuros estudios deberían contemplar ensayos a campo en suelos con salinidad y anegamiento natural, así como evaluaciones fisiológicas más detalladas (por ejemplo, parámetros fotosintéticos, contenido iónico o indicadores de estrés oxidativo) que permitan profundizar en los mecanismos de tolerancia observados.

A pesar de estas limitaciones, los resultados obtenidos aportan evidencia preliminar relevante sobre la capacidad adaptativa del cardo frente a condiciones de estrés hídrico y salino, fortaleciendo su consideración como cultivo bioenergético potencial en ambientes marginales.

REFERENCIAS

Barlett, M. (1937). Properties of sufficiency and statistical tests. Proceedings of the Royal Society of London. Series A - Mathematical and Physical Sciences, 160(901), 268–282. https://doi.org/10.1098/rspa.1937.0109

Dágata, S. L., Meglioli, P. A., Passera, C. B. (2022). Efecto del estrés hídrico y salino en la germinación de la halófita Suaeda divaricata Moq. Boletín de La Sociedad Argentina de Botánica. https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/210402

Jiménez, J. de la C., Mustroph, A., Pedersen, O., Weits, D. A., Schmidt-Schippers, R. (2024). Flooding stress and responses to hypoxia in plants. Functional Plant Biology, 51(4). https://doi.org/10.1071/FP24061

Shapiro, S. S., Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). Biometrika, 52(3–4), 591–611. https://doi.org/10.1093/biomet/52.3-4.591

Tahjib-Ul-Arif, M., Hasan, M. T., Rahman, M. A., Nuruzzaman, M., Rahman, A. M. S., Hasanuzzaman, M., Haque, M. R., Hossain, M. A., Abdel Latef, A. A. H., Murata, Y., Brestic, M. (2023). Plant response to combined salinity and waterlogging stress: Current research progress and future prospects. Plant Stress, 7, 100137. https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100137

Tukey, J. W. (1949). Comparing Individual Means in the Analysis of Variance. Biometrics, 5(2), 99. https://doi.org/10.2307/3001913