

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

*Trabajo de titulación previo
a la obtención del título de
Ingeniera Ambiental*

TRABAJO EXPERIMENTAL:

**“CUANTIFICACIÓN DE LA TRANSFORMACIÓN DE CELULOSA A
GLUCOSA MEDIANTE HIDRÓLISIS ÁCIDA Y ENZIMÁTICA”**

AUTORAS:

ANDREA BELÉN NARVÁEZ JARA

MARÍA DEL CARMEN ORTEGA FLORES

TUTOR:

ING. JORGE BRAULIO AMAYA PINOS, Ph.D

CUENCA - ECUADOR

2021

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Nosotras, Andrea Belén Narvárez Jara con documento de identificación N° 0107291007 y María del Carmen Ortega Flores con documento de identificación N° 0706572211, manifestamos nuestra voluntad y cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autoras del trabajo de titulación: **“CUANTIFICACIÓN DE LA TRANSFORMACIÓN DE CELULOSA A GLUCOSA MEDIANTE HIDRÓLISIS ÁCIDA Y ENZIMÁTICA”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniera Ambiental*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En la aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en nuestra condición de autoras nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribimos este documento en el momento que hacemos entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, diciembre de 2021.



Andrea Belén Narvárez Jara
C.I. 0107291007

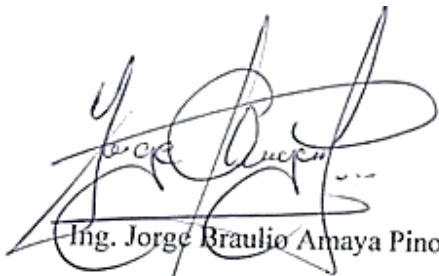


María del Carmen Ortega Flores
C.I. 0706572211

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **“CUANTIFICACIÓN DE LA TRANSFORMACIÓN DE CELULOSA A GLUCOSA MEDIANTE HIDRÓLISIS ÁCIDA Y ENZIMÁTICA”**, realizado por Andrea Belén Narváez Jara y María del Carmen Ortega Flores, obteniendo el *Trabajo Experimental* que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, diciembre de 2021.



Ing. Jorge Braulio Amaya Pinos, PhD
C.I. 0103444923

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Nosotros, Andrea Belén Narváez Jara con documento de identificación N° 0107291007 y María del Carmen Ortega Flores con documento de identificación N° 0706572211, autores del trabajo de titulación: **“CUANTIFICACIÓN DE LA TRANSFORMACIÓN DE CELULOSA A GLUCOSA MEDIANTE HIDRÓLISIS ÁCIDA Y ENZIMÁTICA”** certificamos que el total contenido del *Trabajo Experimental*, es de nuestra exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, diciembre de 2021.



Andrea Belén Narváez Jara
C.I. 0107291007



María del Carmen Ortega Flores
C.I. 0706572211

DEDICATORIA

A mi madre por ser mi pilar fundamental en mi crecimiento profesional y personal, por todo su esfuerzo para sacarme adelante, por su dedicación y por enseñarme buenos valores que hoy en día los he puesto en práctica, a mis hermanas; Rafaela por apoyarme y estar en cada uno de mis logros, Tania, por estar para mí incondicionalmente, a mis sobrinas por que espero que en el futuro cuando crezcan me vean como un ejemplo a seguir, a mi padre, por sus consejos y apoyo, a mi hermano menor que a pesar de la distancia siempre anhelo que siga cumpliendo cada uno de sus sueños, a mis abuelitos que estoy segura que estuvieran orgullosos de lo que ha logrado su nieta, y finalmente aunque nunca vayan a leer esto a mis pequeñas Lara y Luna, que cuando pasaba hasta la madrugada estudiando ellas se quedaban incondicionalmente junto a mí hasta que fuera a dormir.

Andrea Narváez

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo en primer lugar va dedicado a Dios por estar conmigo en cada paso y por ayudarme en todo momento, por brindarme la fortaleza necesaria para poder lograr cumplir este sueño.

A mis padres Miriam y Favian, por su apoyo, amor, confianza, trabajo y sacrificio durante todos estos años para que yo pueda cumplir con esta meta propuesta. Esta tesis y lo que logre obtener será gracias a ustedes, ya que forman parte de mi pilar fundamental para conseguir un mejor futuro.

A mi hermano Fabián por estar presente en cada paso a lo largo de esta etapa, apoyándome con sus mensajes, preocupándose por mí, aunque hemos pasado momentos difíciles él siempre estuvo ahí, te amo ñaño.

A mis queridos tíos Oswaldo y Carmita quienes fueron uno de los mayores pilares durante esta etapa de mi vida, ya que con su apoyo tanto económico como moral logré culminar esta carrera universitaria, mil gracias. A mi familia en general porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron una mejor persona y de una u otra manera me acompañan durante todos mis proyectos.

A mi amiga y compañera de tesis Andrea, por el apoyo brindado y por estar conmigo en todo este proceso universitario. A mi Paulita, por el apoyo brindado durante esta etapa, millón gracias flaquita por tu acogida, por tu paciencia, por aguantarme en todo momento, y por ayudarme a salir adelante con tus consejos y palabras de aliento. Finalmente quiero dedicar esta tesis a mi primera amiga que conocí al iniciar el pre, Doménica, gracias por tu comprensión y tu paciencia, les deseo lo mejor de la vida, y espero volver a encontrarnos como todas unas profesionales. Las quiero muchísimo chicas y siempre las tendré presente.

María Ortega

AGRADECIMIENTO

Primero a Dios y la Virgen porque en momentos en donde decidía rendirme, me encomendada en sus manos y siempre me hacían el milagro de salir de ese mal momento, a mi madre por darme la oportunidad de ser una profesional como ella y no dejarme rendirme nunca ni en mis peores momentos, a mi padre por apoyarme en mi carrera, a mi tía Rocío por darme la mano, confiar en mí, apoyarme estar en cada uno de mis logros, por creer en mí y sobre todo apoyarnos no sólo a mí, también a mi madre y hermana, a mi compañera de tesis Marita, por no solo ser una compañera, sino también amiga, la más incondicional que he tenido, a mi tutor de tesis que nos ha guiado en nuestro trabajo, por su tiempo, conocimiento y sobre todo paciencia, a las doctoras Mónica y Sandy y al ing. Marlon que nos ayudaron mientras trabajábamos en el laboratorio, con su tiempo para ayudarnos, explicarnos y enseñarnos, finalmente a cada una de estas personas que la Universidad me hizo conocer, Pablo, Stalin, Cristian, Fernanda, Paola, Danitza, Andrés, Heydi, Edwin, Cristina, quienes me ayudaron a crecer como persona, me brindaron apoyo, y creyeron en mí, algunos en una de las etapas de mi vida y otros hasta el día de hoy.

Andrea Narváez

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por guiarme en cada etapa de este proceso de formación universitaria y a mis familiares por apoyarnos incondicionalmente para culminar con éxito esta meta propuesta.

A nuestro profesor y tutor de este proyecto de investigación, Ing. Jorge Amaya, quién siempre estuvo predispuesto ayudarnos, con su conocimiento, dirección y enseñanza culminamos de manera exitosa nuestra investigación.

A los docentes de la Universidad Politécnica Salesiana por el apoyo brindado durante estos años, por su paciencia, amistad.

A la Dra. Mónica, Ing. Sandy Gavilánez, Ing. Marlon Loayza por toda su ayuda, predisposición y voluntad que nos brindaron durante este proceso en los laboratorios.

Finalmente agradecer a cada uno de nuestros amigos, Pablo, Cristian, Danitza, Edwin, Paola, Heidy y Fernanda con los cuales compartimos dentro y fuera de las aulas por su amistad, cariño por el apoyo brindado en este proceso.

María Ortega

RESUMEN

El presente trabajo de investigación busca transformar la celulosa obtenida del material lignocelulósico (papel reciclado y aserrín) en glucosa a través de una reacción de hidrólisis ácida y enzimática para determinar el material y el proceso más eficiente.

El análisis proximal químico realizado a la materia prima de papel reciclado presentó un porcentaje de humedad del 4.25% el cual es aceptable para ser papel, un pH básico de 7.2%, y un porcentaje significativo de celulosa del 80%. Con ayuda de los métodos ANSI/ASTM D1106-56 y TAPPI T17m-55 realizados en el pretratamiento se pudo obtener la presencia de celulosa.

Por otro lado, el análisis proximal químico realizado al aserrín presentó un porcentaje de humedad igual a 11.5%, pH igual a 5.7%, extraíbles de 9%, lignina de 25%, cenizas de 2% y celulosa del 37.25%.

Con ayuda de los métodos ANSI/ASTM D1102-56, ANSI/ASTM D1103-60 realizados en el pretratamiento se pudo obtener celulosa del aserrín, sin embargo, como se mencionó existieron extraíbles, por lo tanto, también se evidenció presencia de hemicelulosa y lignina a la hora de obtener la celulosa.

Posteriormente se analizó las muestras de celulosa extraídas del papel y aserrín mediante espectroscopía infrarroja (FTIR) tomando en cuenta que para el papel existía más concentración de celulosa que para el aserrín, se identificó su estructura molecular y comparó con una muestra estándar sus características y similitudes, presentando así un porcentaje de similitud del 90% para papel y del 80% para el aserrín.

Para la transformación de celulosa a glucosa primero se realizó la hidrólisis ácida con ayuda de ácido sulfúrico (H_2SO_4) y enzimática con ayuda de la enzima α celulosa, a parámetros de

temperatura, tiempo y concentración de acción diferentes para cada caso, seguido de esto los hidrolizados fueron pasados por la prueba fehling para determinar presencia de azúcares reductores.

Nuevamente se analizaron las muestras obtenidas por hidrólisis ácida y enzimática mediante espectroscopía infrarroja (FTIR) y tomando en cuenta que para el papel existía más concentración de celulosa que para el aserrín, se identificó su estructura molecular y comparó con una muestra estándar de glucosa, presentando así con la hidrólisis ácida un porcentaje de similitud del 80.25% para papel y del 60% para el aserrín, por otro lado con el proceso de hidrólisis enzimática un porcentaje de similitud del 82.56% para papel y de 70% para aserrín.

Finalmente, con ayuda del método DNS y espectroscopia ultravioleta visible (UV visible), se procedió a cuantificar la glucosa obtenida en cada proceso de hidrólisis.

Se determinó así que, para la hidrólisis ácida las mejores condiciones son: Temperatura igual a 90°C, concentración de ácido de 30% y a un tiempo de 0.75h para papel y, Temperatura igual a 100°C, concentración de ácido de 30% y a un tiempo de 0.25h Por otro lado para la hidrólisis enzimática los parámetros más eficientes fueron: Temperatura de 50°C, concentración de enzima de 315uL y a un tiempo de 96h para papel y aserrín, en este caso el tiempo es significativamente mayor que el proceso de hidrólisis ácida esto se debe a que las condiciones de acción de la enzima alpha celulosa son de rangos de tiempo de 45-96h.

Palabras Claves: *celulosa, hidrolisis, glucosa, ácido sulfúrico, alpha celulosa, extracción, transformación*

ABSTRACT

The present work research to transform the cellulose obtained from the lignocellulosic material (recycled paper and sawdust) into glucose through an acid and enzymatic hydrolysis reaction to determine the material and the most efficient process.

The chemical proximal analysis performed to the raw material of recycled paper presented a humidity percentage of 4.25% which is acceptable for being paper, a basic pH of 7.2, and a significant percentage of cellulose of 80 %. With the help of the ANSI / ASTM D1106-56 and TAPPI T17m-55 methods carried out in the pretreatment, it was possible to extract the cellulose from the paper.

On the other hand, the chemical proximal analysis carried out on the sawdust showed a humidity percentage equal to 11.5%, an acid pH of 5.7, extractables of approximately 9%, lignin content of 25%, ashes belonging to the organic residue that did not volatilize from the 2% acceptable for sawdust, and 37.25% cellulose. With the help of the ANSI / ASTM D1102-56, ANSI / ASTM D1103-60 methods carried out in the pretreatment, cellulose could be extracted from the sawdust, however, as mentioned, extractables existed, therefore, the presence of hemicellulose was also evidenced at the time to extract the cellulose.

Subsequently, the cellulose samples extracted from the paper and sawdust were analyzed by infrared spectroscopy (FTIR), taking into account that for the paper there was a higher concentration of cellulose than for the sawdust, its molecular structure was identified and its characteristics and similarities were compared with a standard sample, presenting a similarity percentage of 90% for paper and 80% for sawdust.

For the transformation of cellulose to glucose, acid hydrolysis was first carried out with the help of sulfuric acid (H₂SO₄) and enzymatic with the help of the enzyme alpha cellulose, at different parameters of temperature, time and concentration of action for each case, followed by the Hydrolysates were passed through the fehling test to determine the presence of reducing sugars.

Again the samples obtained by acid and enzymatic hydrolysis were analyzed by infrared spectroscopy (FTIR) and taking into account that for the paper there was a higher concentration of cellulose than for the sawdust, its molecular structure was identified and compared with a standard sample, thus presenting with acid hydrolysis had a similarity percentage of 80.25% for paper and 60% for sawdust, on the other hand, with the enzymatic hydrolysis process, a similarity percentage of 82.56% for paper and 70% for sawdust.

Finally, with the help of the DNS method and ultraviolet visible spectroscopy (UV visible), the glucose obtained in each hydrolysis process was quantified.

It was thus determined that, for acid hydrolysis, the best conditions are: Temperature equal to 90°C, acid concentration of 30% and at a time of 0.75h for paper and, Temperature equal to 100°C, acid concentration of 30% and at a time of 0.25h On the other hand for the enzymatic hydrolysis the most efficient parameters were: Temperature of 50°C, enzyme concentration of 315uL and a time of 96h for paper and sawdust, in this case the time is significantly greater than the acid hydrolysis process This is due to the fact that the action conditions of the alpha cellulose enzyme are in the time ranges of 45-96h.

Keywords: *cellulose, hydrolysis, glucose, sulfuric acid, alpha cellulose, extraction, transformation*

INDICE DE CONTENIDO

1.	CAPÍTULO	28
1.1	Introducción	28
1.2.	Antecedentes	29
1.3.	Justificación.....	32
2.	CAPITULO: OBJETIVOS DEL PROYECTO	34
2.1	Objetivo general	34
2.2	Objetivos específicos.....	34
3.	CAPÍTULO: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	35
3.1	Madera	35
3.2	Transformación de la madera.....	36
3.2.2	Clases de aserrín	37
3.2.3	Usos del aserrín	37
3.3	Papel.....	38
3.3.1	Propiedades del papel	39
3.3.1.1	Propiedades físicas	39
3.3.1.2	Propiedades químicas	39
3.4	Residuos lignocelulósicos.....	40
3.5	Biocombustibles.....	41
3.5.1	Obtención de biocombustibles a partir de biomasa lignocelulósica.....	42

3.5.2	Bio etanol con residuos lignocelulósicos.....	44
3.5.3	Situación actual de los biocombustibles	45
3.5.4	Impacto en el medio Ambiente.....	46
3.5.5	Impacto Socio económico	49
3.6	Celulosa.....	49
3.6.1	Estructura.....	49
3.6.2	Usos de la celulosa en la industria.....	50
3.6.3	Biomateriales compuestos con fibras de celulosa	51
3.6.4	Métodos de extracción de celulosa	51
3.6.5	Principales fuentes de extracción.	52
3.6.6	Consumo de celulosa en el mundo	52
3.7	Lignina	53
3.7.1	Métodos para deslignificación.....	55
3.7.1.1	Pre tratamiento ácido	56
3.7.2	Hidrólisis	56
3.7.2.1	Hidrólisis ácida.....	56
3.7.2.2	Hidrólisis Enzimática	56
3.7.2.3	Mecanismo de hidrolisis enzimática.....	57
3.7.2.4	Factores clave en la hidrólisis enzimática	58
3.7.2.5	Hidrólisis enzimática de la celulosa	59
3.7.2.6	Enzimas más utilizadas en la hidrólisis enzimática de celulosa.....	59
3.8	Métodos de análisis e identificación de polisacáridos	61

3.8.1	Métodos instrumentales de análisis.....	61
3.8.1.1	Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR).....	61
3.8.1.2	Espectroscopia UV visible.....	63
4.	CAPÍTULO: MATERIALES Y MÉTODOS.....	64
4.1	Proceso de caracterización del aserrín y papel reciclado.....	64
4.1.1.	Reciclaje manual del aserrín y papel.....	64
4.1.2.	Pre tratamiento del papel.....	65
4.1.3.	Pre tratamiento del aserrín.....	66
4.1.4.	Análisis proximal del papel.....	66
4.1.4.1.	Determinar tinta en papel.....	67
4.1.4.2.	Determinación de Humedad.....	67
4.1.4.3.	Determinación de pH.....	68
4.1.4.4.	Determinación de celulosa en papel.....	69
4.1.5.	Análisis proximal del aserrín.....	70
4.1.5.1.	Determinación de humedad en aserrín.....	71
4.1.5.2.	Determinación de pH en aserrín.....	71
4.1.5.3.	Determinación de extraíbles en aserrín.....	71
4.1.5.4.	Determinación de lignina en aserrín.....	72
4.1.5.5.	Determinación de cenizas en aserrín.....	73
4.1.5.6.	Determinación de celulosa en aserrín.....	74
4.2.	Proceso de transformación de celulosa a glucosa a partir del papel y aserrín.....	76
4.2.1.	Hidrólisis Ácida.....	76
4.2.2.	Prueba Fehling.....	78
4.2.3.	Hidrólisis Enzimática.....	79

4.2.3.1.	Proceso de hidrólisis enzimática.....	81
4.3.	Cuantificación de glucosa obtenida.....	83
4.3.1.	Obtención de la curva de calibración usando glucosa como estándar.....	83
4.3.2	Grafica de la curva de Calibración	85
4.3.3	Preparación DNS para las muestras hidrolizadas ácida y enzimáticamente	87
4.3.4	Cuantificación de glucosa con ayuda del espectrofotómetro UV visible	87
5	CAPÍTULO: RESULTADOS	89
5.1	Resultados del análisis proximal del papel reciclado	89
5.1.1.	Determinación de tinta en papel	89
5.1.2.	Determinación de humedad en papel.....	90
5.1.3.	Determinación de pH en papel	90
5.1.4.	Determinación de celulosa en papel	90
5.2.	Resultados del análisis proximal del aserrín	91
5.2.1.	Determinación de humedad en aserrín	91
5.2.2.	Determinación de pH en aserrín	91
5.2.3.	Determinación de extraíbles en aserrín	91
5.2.4.	Determinación de lignina en aserrín.....	91
5.2.5.	Determinación de cenizas en aserrín	91
5.2.6.	Determinación de celulosa en aserrín.....	92
5.3.	Resultados del FTIR de celulosa.....	93

5.3.1.	FTIR de celulosa en aserrín	94
5.3.2	Comparación de las curvas FTIR de celulosa estándar y celulosa en aserrín	95
5.3.3	FTIR de celulosa en papel	96
5.3.4	Comparación de las curvas FTIR de celulosa estándar y celulosa en papel.....	97
5.4	Resultados de la hidrólisis ácida y enzimática.....	98
5.4.1	Hidrólisis ácida – Prueba Fehling.....	98
5.5	Hidrólisis enzimática – Prueba Fehling	103
5.6	Resultados FTIR de glucosa obtenida en las hidrólisis ácida y enzimática.....	103
5.6.1	FTIR de glucosa obtenido por hidrolisis ácida del papel	104
5.6.2	Comparación de curvas FTIR de glucosa estándar y glucosa obtenida por hidrolisis ácida del papel.....	105
5.6.3	FTIR de glucosa obtenida por hidrolisis ácida del aserrín	106
5.6.4	Comparación de curvas FTIR de glucosa estándar y glucosa obtenida por hidrolisis ácida del aserrín.....	107
5.6.5	FTIR de glucosa obtenida por hidrolisis enzimática del papel.....	108
5.6.6	Comparación de curvas FTIR de glucosa estándar y glucosa obtenida por hidrolisis enzimática del papel	109
5.6.7	FTIR de glucosa obtenida por hidrolisis enzimática del aserrín	110
5.6.8	Comparación de curvas FTIR de glucosa estándar y glucosa obtenida por hidrolisis enzimática del aserrín.....	111

5.7	Resultados de la cuantificación de glucosa a partir del reactivo DNS y su curva de calibración, con ayuda del espectrofotómetro UV visible.	112
5.7.1	Cuantificación de glucosa por Hidrólisis ácida	112
5.7.2	Cuantificación de glucosa por Hidrólisis enzimática	115
5.8	Análisis estadístico de la cuantificación de glucosa de acuerdo a los factores temperatura, tiempo y concentración de H ₂ SO ₄	116
5.8.1	ANOVA de dos factores: Interacción de la Temperatura vs Tipo de Material, % de Glucosa en Hidrólisis Ácida.....	116
5.8.2	ANOVA de dos factores: Interacción de la Temperatura vs Tipo de Material, % de Glucosa en Hidrólisis Enzimática.	120
5.8.3	ANOVA de dos factores: Interacción del Tiempo vs Tipo de Material, % de Glucosa. 123	
	Tiempo vs Tipo de Material, % de Glucosa.	123
5.8.4	ANOVA de dos factores: Interacción de la Concentración de H ₂ SO ₄ vs Tipo de Material, % de Glucosa en Hidrólisis ácida	125
5.8.5	ANOVA de dos factores: Interacción de la Concentración de enzima celulosa ultra 10 vs Tipo de Material, % de Glucosa en Hidrólisis Enzimática.....	127
5.8.6	ANOVA de un factor: Interacción del Tipo de Material vs Concentración de glucosa en Hidrólisis ácida.....	129
5.8.7	ANOVA de un factor: Interacción del Tipo de Material vs Concentración de glucosa en Hidrólisis enzimática.....	131

5.8.8 ANOVA de un factor: Interacción del Tipo de proceso vs Concentración de glucosa	133
6 CAPÍTULO: DISCUSIÓN.....	135
7 CAPÍTULO: CONCLUSIONES.....	138
8 CAPITULO: BIBLIOGRAFÍA.....	141
Dominguez. (2011). Obtenido de	141
9 ANEXOS.....	150

INDICE DE IMÁGENES

<i>Imagen 1.</i> Composición química de la Madera	35
<i>Imagen 2.</i> Muestra de Aserrín	36
<i>Imagen 3.</i> Espectrofotómetro	62
<i>Imagen 4.</i> Reciclaje manual: a) Reciclaje papel; b) Reciclaje aserrín.....	65
<i>Imagen 5.</i> Pre tratamiento del papel	65
<i>Imagen 6.</i> Pre tratamiento del aserrín.....	66
<i>Imagen 7.</i> Material utilizado en la hidrólisis ácida.....	77
<i>Imagen 8.</i> Realización de hidrólisis ácida	78
<i>Imagen 9.</i> Prueba Fehling: a) muestra con reactivo A y B antes de baño María. b) resultado final de muestra patrón; almidón de yuca.....	79
<i>Imagen 10.</i> Proceso de hidrolisis enzimática	82

<i>Imagen 11.</i> Curva de calibración	87
<i>Imagen 12.</i> Resultados de la prueba fehling: a) Prueba negativa b) Prueba positiva.....	98
<i>Imagen 13.</i> Resultados de la prueba fehling: a) Prueba negativa papel y aserrín b) Prueba negativa muestra estándar de almidón de yuca	99
<i>Imagen 14.</i> Resultados de la prueba fehling: a) Prueba positiva papel y aserrín b) Prueba positiva muestra estándar de almidón de yuca.....	101
<i>Imagen 15.</i> Resultados de la prueba fehling: a) Prueba positiva papel y aserrín b) Prueba positiva muestra estándar de almidón de yuca	102
<i>Imagen 16.</i> a) Papel; b) aserrín reciclado sin tratar	150
<i>Imagen 17.</i> Trituración de aserrín	
<i>Imagen 18.</i> Aserrín ya triturado y tamizado	
.....	150
<i>Imagen 19.</i> Muestras de aserrín y papel en proceso de tratamiento	151
<i>Imagen 20.</i> Muestra de aserrín pre tratada con ácido sulfúrico.....	151
<i>Imagen 21.</i> Muestra de papel pre tratada con agua caliente	151
<i>Imagen 22.</i> Muestra de celulosa obtenida de papel y aserrín.	152
<i>Imagen 23.</i> Muestras de hidrolizado ácido y enzimático	152
<i>Imagen 24.</i> Prueba fehling positiva de hidrolizado ácido de papel	152
<i>Imagen 25.</i> Prueba de fehling positiva de hidrolizado enzimático de aserrín	153
<i>Imagen 26.</i> Auto clavar materiales para realizar hidrolisis enzimática.....	153
<i>Imagen 27.</i> Preparación del buffer de citrato para hidrólisis enzimática	154

<i>Imagen 28.</i> Enzima alpha celulosa utilizada en el proceso de hidrólisis enzimática	154
<i>Imagen 29.</i> Proceso hidrólisis enzimática aserrín – papel y aserrín en binder	154
<i>Imagen 30.</i> Concentración de azúcares reductores.....	168
<i>Imagen 31.</i> Concentración de azúcares reductores.....	168
<i>Imagen 32.</i> Concentración de azúcares reductores.....	168
<i>Imagen 33.</i> Concentración de azúcares reductores.....	169

INDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Estructura de la biomasa lignocelulósica	40
<i>Figura 2.</i> Composición estructural de la biomasa vegetal	43
<i>Figura 3.</i> Modelo estructural de la celulosa.	50
<i>Figura 4.</i> Modelo estructural de la lignina aserrada.....	55
<i>Figura 5.</i> Aplicaciones de la espectrofotometría FTIR	63
<i>Figura 6.</i> Espectro infrarrojo de celulosa estándar.....	93
<i>Figura 7.</i> FTIR de la muestra de celulosa de aserrín	94
<i>Figura 8.</i> Comparación de curvas FTIR de celulosa estándar vs celulosa aserrín.....	95
<i>Figura 9.</i> FTIR de celulosa en papel	96
<i>Figura 10.</i> Comparación de curvas FTIR de celulosa estándar vs celulosa papel	97
<i>Figura 11.</i> FTIR glucosa obtenida hidrólisis ácida y enzimática.....	104

<i>Figura 12.</i> FTIR glucosa obtenida por hidrólisis ácida del papel	104
<i>Figura 13.</i> Comparación de curvas FTIR de glucosa estándar vs glucosa obtenida por hidrólisis ácida del papel.....	105
<i>Figura 14.</i> FTIR glucosa obtenida hidrólisis ácida del aserrín	106
<i>Figura 15.</i> Comparación de curvas FTIR de glucosa estándar vs glucosa obtenida por hidrólisis ácida del aserrín.....	107
<i>Figura 16.</i> FTIR glucosa obtenida hidrólisis enzimática del papel.....	108
<i>Figura 17.</i> Comparación de curvas FTIR de glucosa estándar vs glucosa obtenida por hidrólisis enzimática del papel	109
<i>Figura 18.</i> FTIR glucosa obtenida hidrólisis enzimática del aserrín	110
<i>Figura 19.</i> Comparación de curvas FTIR de glucosa estándar vs glucosa obtenida por hidrólisis enzimática del aserrín.....	111
<i>Figura 20.</i> Influencia de Temperatura vs tipo de material (aserrín-papel)	117
<i>Figura 21.</i> Influencia de Temperatura hidrólisis ácida	118
<i>Figura 22.</i> Ajuste lineal proceso hidrólisis ácida.....	119
<i>Figura 23.</i> Influencia de temperatura Vs. Tipo de Material.....	121
<i>Figura 24.</i> Ajuste lineal proceso hidrólisis enzimática	122
<i>Figura 25.</i> Interacción del tiempo	124
<i>Figura 26.</i> Interacción de la concentración de H ₂ SO ₄	126
<i>Figura 27.</i> % de Concentración- Hidrólisis enzimática	128

<i>Figura 28.</i> Concentración de glucosa vs material-hidrólisis ácida	130
<i>Figura 29.</i> Concentración de glucosa vs material- hidrólisis enzimática.....	132
<i>Figura 30.</i> Concentración vs reacción- hidrólisis ácida- enzimática	134
<i>Figura 31.</i> Diagrama de flujo del análisis proximal.....	155
<i>Figura 32.</i> Porcentaje de similitud entre celulosa de aserrín y celulosa estándar	156
<i>Figura 33.</i> Porcentaje de similitud entre celulosa de papel y celulosa estándar	156
<i>Figura 34.</i> Porcentaje de similitud entre celulosa de papel y celulosa estándar	157
<i>Figura 35.</i> Porcentaje de similitud entre celulosa de aserrín y celulosa estándar	157
<i>Figura 36.</i> Porcentaje de similitud entre glucosa de aserrín y glucosa estándar	158
<i>Figura 37.</i> Porcentaje de similitud entre glucosa de papel y glucosa estándar	158
<i>Figura 38.</i> Porcentaje de similitud entre glucosa de papel y glucosa estándar	159
<i>Figura 39.</i> Porcentaje de similitud entre glucosa de papel y glucosa estándar	159
<i>Figura 40.</i> Porcentaje de similitud entre glucosa de aserrín y glucosa estándar	160
<i>Figura 41.</i> Imagen FTIR celulosa aserrín	160
<i>Figura 42.</i> Imagen FTIR celulosa aserrín	161
<i>Figura 43.</i> Imagen FTIR celulosa aserrín	161
<i>Figura 44.</i> Imagen FTIR celulosa papel.....	162
<i>Figura 45.</i> Imagen FTIR celulosa papel.....	162
<i>Figura 46.</i> Imagen FTIR glucosa obtenida papel.....	163

<i>Figura 47.</i> Imagen FTIR glucosa obtenida aserrín.....	163
<i>Figura 48.</i> Imagen FTIR glucosa obtenida aserrín.....	164
<i>Figura 49.</i> Imagen FTIR glucosa obtenida papel.....	164
<i>Figura 50.</i> Imagen FTIR glucosa obtenida papel.....	165
<i>Figura 51.</i> Imagen FTIR glucosa obtenida papel.....	165
<i>Figura 52.</i> Imagen FTIR glucosa obtenida aserrín.....	166
<i>Figura 53.</i> Imagen FTIR glucosa obtenida aserrín.....	166
<i>Figura 54.</i> Imagen FTIR glucosa obtenida aserrín.....	167
<i>Figura 55.</i> Imagen FTIR glucosa obtenida aserrín.....	167

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos o clases de aserrín.....	37
Tabla 2. Composición de materiales lignocelulósicos.....	44
Tabla 3. Consumo de celulosa en el mundo	53
Tabla 4. Datos medidos para la determinación de humedad en papel.....	68
Tabla 5. Datos medidos para la determinación de celulosa del papel	70
Tabla 6. Datos medidos para la determinación de humedad en aserrín	71
Tabla 7. Datos medidos para la determinación de lignina en aserrín	73
Tabla 8. Datos medidos para la determinación de cenizas en aserrín	74
Tabla 9. Datos medidos para la determinación de celulosa en aserrín	76

Tabla 10. Datos para realizar la hidrolisis ácida.....	77
Tabla 11. Datos para realizar la hidrolisis enzimática.....	82
Tabla 12. Datos para obtener la curva de calibración.....	83
Tabla 13. Concentración de azúcar de las cinco soluciones.....	84
Tabla 14. Absorbancia de las cinco soluciones	85
Tabla 15. Datos para construir la curva de calibración	85
Tabla 16. Datos de absorancia para la muestra	86
Tabla 17. Resultados obtenidos de la cantidad de tinta en papel	89
Tabla 18. Resultados obtenidos del porcentaje de celulosa de papel	90
Tabla 19. Resultados obtenidos del porcentaje de celulosa de aserrín.....	92
Tabla 20. Bandas de absorción características de celulosa	94
Tabla 21. Resultados obtenidos prueba de fehling concentración cte (60% H ₂ SO ₄).....	99
Tabla 22. Resultados obtenidos prueba de fehling tiempo cte (15 min)	100
Tabla 23. Resultados obtenidos prueba de fehling temperatura cte(90°C)	101
Tabla 24. Resultados hidrólisis enzimática-prueba fehling.....	103
Tabla 25. Resultados obtenidos concentración cte(60% H ₂ SO ₄).....	112
Tabla 26. Resultados obtenidos tiempo cte(15 min)	113
Tabla 27. Resultados obtenidos temperatura cte(90°C)	114
Tabla 28. Resultados obtenidos cuantificación de glucosa hidrólisis enzimática	115

Tabla 29. Datos hidrólisis ácida temperatura vs tipo de material, % de glucosa	116
Tabla 30. Datos hidrólisis enzimática temperatura vs tipo de material, % glucosa	120
Tabla 31. Datos de tiempo vs tipo de material, % glucosa.....	123
Tabla 32. Datos hidrólisis ácida concentración vs tipo de material, % glucosa.....	125
Tabla 33. Datos hidrólisis concentración (ul) vs tipo de material, % glucosa	127
Tabla 34. Datos hidrólisis concentración vs tipo de material, % glucosa	129
Tabla 35. Datos hidrólisis concentración vs tipo de material, % glucosa	131
Tabla 36. Datos hidrólisis concentración vs tipo de material, % glucosa	133
Tabla 37. Datos hidrólisis ácida	169
Tabla 38. Datos hidrólisis ácida	170
Tabla 39. Datos hidrólisis ácida	170
Tabla 40. Datos hidrólisis ácida	171
Tabla 41. Datos hidrólisis ácida	171
Tabla 42. Datos hidrólisis ácida	172
Tabla 43. Datos hidrólisis enzimática.....	172
Tabla 44. Datos hidrólisis enzimática.....	173
Tabla 45. Datos hidrólisis enzimática.....	173
Tabla 46. Datos hidrólisis enzimática.....	173
Tabla 47. Datos hidrólisis enzimática.....	174

Tabla 48. Datos hidrólisis enzimática.....	174
Tabla 49. Datos hidrólisis enzimática.....	175
Tabla 50. Datos hidrólisis enzimática.....	175
Tabla 51. Datos hidrólisis enzimática.....	176
Tabla 52. Datos hidrólisis enzimática.....	176
Tabla 53. Datos hidrólisis enzimática.....	177
Tabla 54. Datos hidrólisis enzimática.....	177

1. CAPÍTULO

1.1 Introducción

En la actualidad hay distintos grupos de biomasa, Bioenergía y Gestión energética en el país los mismos que han realizado investigaciones relacionadas con la generación de energías nuevas para en un futuro brindar usos alternativos sostenibles, en este sentido, el desarrollo de biocombustibles se ha considerado un recurso prometedor para tal fin.

Frente a la disminución de la producción de energía a partir de reservas de combustibles fósiles (incluidas la energía solar, hidráulica, mareomotriz y geotérmica) y la energía de biomasa de fuentes vegetales y animales, la energía renovable ha determinado una posición sostenible para el progreso. Este último enfatizó que en los últimos años ha mostrado un notable crecimiento a escala global, como fuente de energía renovable acompañada de tecnologías innovadoras para el uso de bioenergía (Sánchez, 2017)

La biomasa contiene cualquier material biológico procedente de organismos vivos, como troncos, cultivos energéticos, desperdicios de alimentos, desechos industriales y subproductos. Se pueden producir varios combustibles a partir de recursos de biomasa (como etanol, metanol, biodiesel) y combustibles gaseosos tales como: hidrógeno y metano (Rodríguez, 2013).

Las actividades agrícolas y agroindustriales dan lugar a una amplia gama de residuos y subproductos que están dispuestos de diferentes maneras, principalmente como alimentos para el ganado o la quema en el lugar. Los residuos agrícolas derivados de plantas culturales (granos y cereales principalmente) permanecen en el suelo luego de cosechar grano o semilla (Tovar, 2008)

Los residuos agrícolas poseen una fracción significativa de biomasa lignocelulósica (celulosa, hemicelulosa y lignina) lo cual dificulta su biodegradación a través de procesos de digestión

anaeróbica. El uso de pre tratamientos químicos y enzimáticos aumenta la biodegradabilidad de estos materiales, aunque depende del tipo de pretratamiento usado, la concentración de reactivos, y los métodos de separación a los que sean sometidos, etc. (Tovar, 2008)

Ante este panorama el objetivo principal de esta investigación es determinar de forma cuantitativa la glucosa mediante hidrólisis ácida y enzimática a partir de residuos de biomasa lignocelulósica.

1.2. Antecedentes

Los combustibles aparecieron a finales del siglo XIX, de hecho, nacieron utilizando hidrocarburos como fuente de energía. La idea de usar aceite vegetal como combustible para motores de combustión interna se remonta a 1895, el Dr. Rudolf Diesel desarrolló el primer motor a diesel ese año (Salinas Callejas & Gasca Quezada, 2009).

Muchos años después, Henry Ford diseñó el primer modelo T en 1908, con la esperanza de usar etanol como combustible. A principios de la década de 1920, Standard Oil usaba etanol al 25% en gasolina en el área de Baltimore, pero debido al alto precio del maíz (el producto del que se obtenía), los altos costos de almacenamiento y las dificultades de transporte, abandonaron el proyecto. Además, el petróleo ha ingresado en el mercado más barato, más eficiente y más disponible (Salinas Callejas & Gasca Quezada, 2009).

Con la crisis del petróleo en la década de 1970, la oferta disminuyó, por lo que su precio se disparó y consiguó el precio de la gasolina se elevó en un 100%. A fines de 1979, debido a la dificultad del precio del petróleo, se implantó una mezcla de gasolina y etanol: se volvió a proponer biocombustibles para reemplazar el aumento de los precios del petróleo y el agotamiento de los recursos no renovables (Salinas Callejas & Gasca Quezada, 2009).

En la actualidad, a nivel internacional se promueve el uso de materias primas para producir alcoholes carburantes que no compitan con la producción alimentaria y que tampoco causen problemas ni daños ambientales, entre las materias primas está la biomasa celulósica, la misma que está formada por dos azúcares complejos denominados celulosa y xilano, estos unidos a una molécula que es alta en resistencia a la descomposición tanto biológica como química; lignina (Valdez Vasquez, 2017),

El químico francés Anselme Payen (1795-1871) descubrió la celulosa de sus trabajos con algodón, papas y papel en el año de 1838, consiguió aislarla y determinar su fórmula química. Desde entonces, se ha utilizado en la producción de fibras y sustancias comerciales, como el celuloide, que es un polímero termoplástico obtenido por primera vez en 1856, con el nombre de *parkesina* (Raffino, 2020).

En el año de 1870, Hyatt Manufacturing Company usó la celulosa por primera vez para producir el primer polímero termoplástico exitoso. Luego para el año de 1920, Hermann Staudinger elaboró una estructura de polímero de celulosa. El compuesto fue sintetizado químicamente (sin usar ninguna enzima de origen biológico) por Kobayashi y Shoda en 1992 (Polímeros, 2017).

En el año 1709-1782 el químico de origen alemán Andreas Marggraf descubrió el azúcar en la remolacha; sacarosa, y posteriormente creó un método en el cual se utilizaba alcohol para extraerla, después aisló la glucosa a partir de uvas, pasas, y la nombró como “un tipo de azúcar” (Glucoup, 2019).

En 1838, el químico francés Jean Baptiste Andre Dumas (1800-1884) calificó la sustancia aislada por Marggraf hace casi 100 años. Lo llamó “glucosa” la misma que es derivada del griego “glycos”, que significa dulce. Posteriormente, el pionero Dumas en el campo de la química orgánica fue reconocido por esta y otras contribuciones (Glucoup, 2019).

En 1902, el científico alemán Hermann Emil Fischer (1852-1919) ganó el Premio Nobel de Química, debido a su investigación sobre la glucosa. Mientras estudiaba los carbohidratos, determinó la estructura molecular de la glucosa y la fructosa (entre otros 13 azúcares). Debido a que la glucosa es necesaria para muchas tareas diarias del cuerpo humano, comprender la misma es la clave para entender la química orgánica (Glucoup, 2019).

Ecuador tiene una superficie de 25.637 millones de hectáreas, de las cuales el 42% al año 2000 (10,8 millones de hectáreas) se encontraban cubiertas por bosques nativos. Con base en la tasa de cobertura forestal del país, y utilizando la tasa de deforestación oficial del continente ecuatoriano la misma que es de 0,63%, de 2000 a 2008, es decir (61,765 hectáreas/año). El país posee actualmente 10,15 millones de hectáreas de cobertura forestal, que es aproximadamente el 40% del área total del país. Se estima que existen aproximadamente 3 millones de hectáreas de bosques primarios con potencial productivo en esta zona. En cuanto a la distribución de los residuos forestales, según Añazco et al. (2010) la zona con mayor cobertura forestal del país es la zona amazónica, con alrededor del 80%, seguida del 13% en las zonas costeras y el 7% en las zonas montañosas.

Ecuador es un país que depende de las exportaciones de petróleo. El estado actual de su sector energético no puede garantizar la autosuficiencia para atender la creciente demanda actual, ni puede asegurar la sostenibilidad económica, ambiental o social. Por lo tanto, es necesario determinar las fortalezas y amenazas que se requieren al momento de promover biocombustibles.

Para que el país pueda producir biocombustibles, debe tener una gran cantidad de plantaciones como soja, palmas, girasoles y caña de azúcar, etc., y otras plantaciones que el estado no tiene, lo que puede llevar a buscar tierras para dicha producción, y comenzar a plantar, y trae consigo una serie de inconvenientes como la destrucción de ecosistemas.

1.3. Justificación

Según un estudio de Greenpeace y el Centro de Investigación de Energía y Aire Limpio, la contaminación del aire causada por la quema de combustibles fósiles provoca 4,5 millones de muertes en todo el mundo cada año (Efeverde, 2020).

Los principales problemas ambientales causados por el uso de combustibles fósiles son contaminación atmosférica, del agua, del suelo y calentamiento global.

Según (Efeverde, 2020), Greenpeace enfatiza que “terminar con el uso de combustibles fósiles traerá importantes beneficios económicos y para la salud”.

En los últimos años, el interés de la gente por la química y el uso de energía de materiales lignocelulósicos, han ido aumentando, el uso y aplicación de estos materiales siempre ha llamado la atención (Materiales Lignocelulósicos, 2015).

Para obtener biocombustibles tradicionales, estos son producidos a partir de cultivos alimentarios, no solo son muy costosos, sino que a su vez compite con la producción de alimentos por el uso de la tierra, energía, agua y otros, es por ello, que se espera que, a partir de residuos lignocelulósicos se satisfagan las crecientes demandas de energía, pero sin que se aumente las emisiones de gases de efecto invernadero (Salinas Callejas & Gasca Quezada, 2009).

Hoy en día, el uso de biomasa lignocelulósica para producir azúcares fermentables es de sumo interés, ya que mediante estos se puede obtener compuestos comerciales de gran importancia como bioetanol, biobutanol, ácido láctico, xilitol y proteína unicelular (González García et al., 2015)

Por medio de hidrólisis ácida del papel y madera se obtienen azúcares reductores que a su vez estos son convertidos en biocombustibles. (Domínguez, 2011) menciona que, este es un tratamiento eficaz y que tiene un muy bajo costo y consumo energético, la recuperación y reutilización no son

complicadas, a su vez son aplicables a materiales diversos con gran eficiencia y repetibilidad (Gerena Baron, 2013).

El homopolímero más abundante del mundo es la celulosa, las moléculas de anhídrido glucosa son parte de la unidad estructural básica, la celulosa es la fuente más adecuada para la producción de biocombustibles (Marcano et al., 2010).

La industria de la madera, celulosa y papel es una de las principales fuentes de extracción de material celulósico, de la cual se obtiene una cantidad grande de productos y subproductos que son altos en carbohidratos (González García et al., 2015).

Según cálculos del Fondo Mundial para la Naturaleza, cada año desaparecen en el mundo entre 74.000 y 93.000 kilómetros cuadrados de bosque. Si limitamos el tiempo, las cifras serán más decisivas: el terreno que ocupan los árboles talados cada minuto se puede comparar con 36 campos de fútbol (Intermón, 2019).

En el Ecuador al año se reciclan unas 678.000 toneladas de esto, según el Ministerio de Industrias y Productividad (MIPRO) se reciclan aproximadamente 45 mil de papel (Garzón Pinto, 2014), lo demás es desechado y llevado al relleno sanitario por la falta de concientización.

Es por ello que el presente tema de investigación busca hacer uso de residuos de material lignocelulósicos como el aserrín (residuo de madera después de su uso en muebles) y el papel reciclado de oficina, para disminuir el impacto tanto ambiental como socio económico que genera el uso de fuentes alimentarias como la soja, caña de azúcar, etc. para la producción de biocombustibles.

2. CAPITULO: OBJETIVOS DEL PROYECTO

2.1 Objetivo general

Determinar cuantitativamente la glucosa mediante hidrólisis ácida y enzimática a partir de residuos de papel y aserrín.

2.2 Objetivos específicos

- Analizar físico y químicamente los residuos ligno-celulósicos utilizados como materia prima.
- Extraer celulosa de los residuos ligno-celulósicos.
- Establecer las mejores condiciones para realizar la hidrólisis ácida.
- Establecer las mejores condiciones para realizar la hidrólisis enzimática.
- Caracterizar físico y químicamente la glucosa obtenida por hidrólisis ácida y enzimática.
- Cuantificar la glucosa obtenida con ayuda del espectro UV visible.
- Realizar el análisis comparativo de glucosa obtenido a partir de los residuos ligno-celulósicos.

3. CAPÍTULO: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

3.1 Madera

Como todas las sustancias naturales, es un material extremadamente complejo compuesto por al menos miles de sustancias químicas, debe tenerse en cuenta que para que los organismos puedan realizar sus funciones, deben existir diversas reacciones y procesos (Núñez, 2008).

La madera se encuentra compuesta por tres tipos de sustancias: un tipo estructural, la celulosa, y otras dos agrupadas entre sí, la hemicelulosa y lignina las mismas que constituyen la matriz de lo que es el leño, de tal forma que la celulosa sola no constituiría la madera sin ellas (Núñez, 2008).

Según (Núñez, 2008) “El tercer tipo está conformado por un gran número de sustancias de poco peso molecular propias de los metabolismos de la planta y de sus sistemas de defensa hacia los agentes externos”.

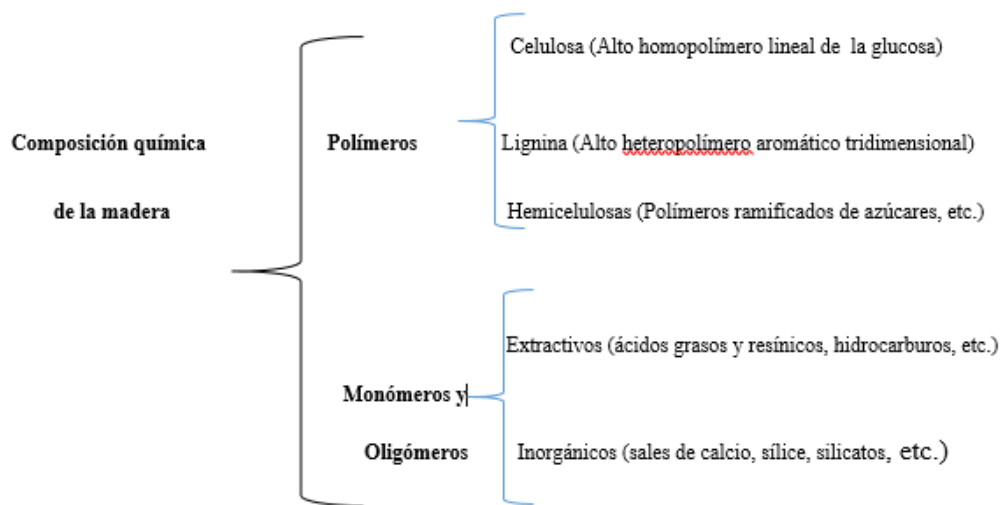


Imagen 1. Composición química de la Madera
Fuente: (Núñez, 2008)

3.2 Transformación de la madera

3.2.1 Aserrín

Se refiere a un grupo de partículas o polvo que cae de ella madera cuando está es aserrada, también posee pequeñas partículas de madera derivadas durante su proceso productivo. Aparte del polvo, se produce la viruta durante el proceso de aserrado, el cual es un fragmento de material residual con forma de lámina curvada o espiral (Jaramillo Orellana, 2018).

Se halla en la industria maderera, de igual forma en sitios donde elaboran artesanías. El principal motivo de su uso en cultivos es para que realice la función de sustrato, es decir, retiene la humedad y accede a que las plantas absorban el agua y los nutrientes aplicados, específicamente en arena y arcilla (Jaramillo Orellana, 2018).

Otra característica del aserrín menos positiva es su rápida descomposición, lo cual no se puede utilizar durante mucho tiempo. Además, la calidad de las astillas de madera dependerá del tipo de madera donde se generó. Finalmente, debido a su alta volatilidad, cualquier lluvia o viento fuerte lo elevará, por lo que no puede ser usado como cubierta en jardines (Jaramillo Orellana, 2018).



Imagen 2. Muestra de Aserrín

Fuente: (Jaramillo Orellana, 2018)

3.2.2 Clases de aserrín

Según el tamaño obtenido después de cada proceso de aserrado de madera, existen varios tipos de aserrín, dependiendo del tamaño de sierra a utilizar.

Tabla 1. Tipos o clases de aserrín

Tipo	Características
<i>Fino</i>	El de menor tamaño que es usado como combustible, y el polvo que queda luego del proceso final del lijado de madera, el cual es muy volátil y suave, pero este es el que provoca más daño a la salud humana.
<i>Grueso</i>	Hay clases de aserrín según el proceso que se realice. El primer aserrín que se obtiene luego de la tala se lo conoce como corteza, que es la parte inútil del mismo. Una vez hecho el tablón de madera inicia el proceso de serrado el cual produce otro tipo de aserrín áspero, que es usado como cama para animales u otros fines.

Fuente: (Jaramillo Orellana, 2018)

3.2.3 Usos del aserrín

Según (Jaramillo Orellana, 2018), se lo emplea en distintas áreas y diferentes aplicaciones:

Industria:

- Utilizado en estufas, cocinas, calderas para obtener vapor o combustible para calentar y secar hornos.
- En la producción de carbón activado.
- Ayuda con la filtración de líquidos y la limpieza de suelos.
- Fabricación de ladrillos, pellets, pulpas, aglomerados, etc.

- Se utiliza para obtener materias primas para papel.
- Embalar materiales aislantes, absorbentes y de limpieza

Agricultura:

- Se utiliza para camas de animales en galpones o granjas avícolas, ganado, porcinos.
- Material de relleno.
- Base para estiércol orgánico.
- El uso de un porcentaje bajo es útil para el cultivo de plantas.
- Material de retención de agua del suelo en plantaciones forestales.
- Reciclaje de material de suelo degradado.

Construcción:

- Se lo usa para producir varios tipos de materiales para construcción como: masilla, aglomerados, etc.

Hogar:

- Utilizado como leña para la cocina en casa

3.3 Papel

Proviene de la palabra griega “papiros”, una planta que crece en orillas fangosas del río Nilo, muy similar al Junco, y se utilizó como alimento y combustible en la primera dinastía de Egipto (3000 a.C.) (Quihue Cabezas, 2014).

La primera fabricación de papel se dió en el año 105, por parte de Cai Lun (o Tsai-lun). El material utilizado fue corteza de morera, mientras que el papel fue elaborado con tiras de bambú.

El trabajo del papel ha sido introducido en el continente europeo por los árabes en el siglo XII, dónde hasta el momento usaban el pergamino (el cuál se lograba sometiendo la dermis de varios animales jóvenes, como ovejas, cabras, etc.) (Quihue Cabezas, 2014).

3.3.1 Propiedades del papel

3.3.1.1 Propiedades físicas

Las propiedades físicas que comúnmente se evalúan en cuanto a papel son el volumen, el tamaño del papel, rigidez, densidad tanto real como aparente, humedad, capacidad de absorción de agua y finalmente la resistencia del papel (González Velandia et al., 2016).

Un papel producido con un alto contenido de fibra larga va a ser mucho más rígido que uno con mayor fibra corta, por otro lado, va a ser más rígido un papel con pulpa mecánica que uno con pulpa química (Arqhys Arquitectura, 2012).

3.3.1.2 Propiedades químicas

(González Velandia et al., 2016) mencionan que, las propiedades químicas son aquellas que van a determinar la calidad de las fibras, entre estas están; la flexibilidad, estabilidad, adhesión, color, absorción de aditivos.

La celulosa, hemicelulosa que normalmente rodea los filamentos de la celulosa y a su vez son una ayuda a que las microfibrillas se formen, la holocelulosa cuya función representa una parte total de polisacáridos esta es igual a la suma de la celulosa más hemicelulosa, la lignina que es una sustancia natural, en este caso para facilitar la adhesión de fibras se debe eliminarla, todo lo

mencionado son las propiedades que son evaluadas en la pulpa de papel (González Velandia et al., 2016).

3.4 Residuos lignocelulósicos

Los materiales lignocelulósicos están compuestos por tres tipos diferentes de polímeros: celulosa, hemicelulosa y lignina. La celulosa está compuesta por subunidades de D-glucosa conectadas por enlaces glicosídicos β 1-4. En las plantas está compuesta por fragmentos con una estructura cristalina. Las capas de esta se juntan para formar las llamadas fibrillas de celulosa o haces de celulosa, la mayoría son independientes y están débilmente conectadas por enlaces de hidrogeno (Cortes Ortiz, 2011), también por otras sustancias que no son parte de la pared celular como: cenizas y mínimas cantidades de extractivos (Garea Vásquez, 2017).

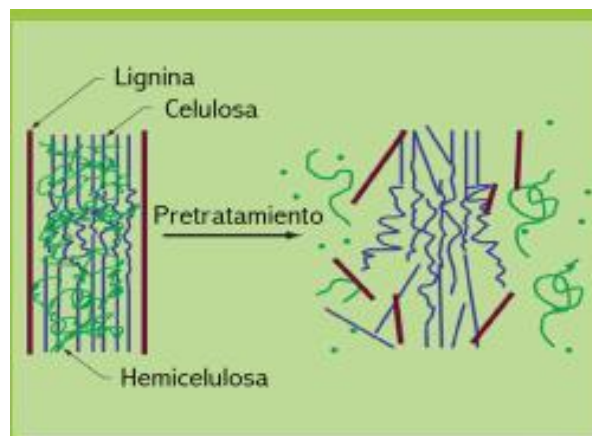


Figura 1. Estructura de la biomasa lignocelulósica

Fuente: (Cortes Ortiz, 2011)

El propósito de la pared celular es proteger el interior de la célula, fortalecer la estructura celular y mediar en la relación entre la célula y su entorno circundante.

3.5 Biocombustibles

Son una mezcla de sustancias de origen orgánico que se pueden utilizar como combustible para obtener energía. Se derivan de la biomasa, es decir, de la materia orgánica producida y acumulada durante procesos biológicos (como la fotosíntesis) (Moriana, 2018).

Hasta ahora, parece que los biocombustibles parecen ser un buen sustituto de nuestros combustibles convencionales, que son perjudiciales para nuestro medio ambiente y la salud por su gran capacidad de procesamiento. A continuación, se detalla algunas ventajas y desventajas de estos según (Moriana, 2018).

Ventajas

- El costo de las materias primas es prácticamente nulo al referirse a los residuos.
- El proceso de producción es más eficiente; consumen y contaminan menos.
- Sus fuentes son mucho menores que los combustibles fósiles y estos requieren miles de años para producirse
- El empleo se genera localmente.
- Reduce emisiones de Carbono y Azufre.
- La cantidad de residuos disminuye, porque la mayor parte se puede usar para producir biocombustibles.

Desventajas

- Debido al uso de fertilizantes nitrogenados en las tierras agrícolas, los biocombustibles derivados de plantas aumentarían las emisiones de dióxido de nitrógeno. Además, puede causar esto que el agua subterránea se contamine con nitrito y nitrato.

- Los biocombustibles proporcionan menos energía que los combustibles fósiles, por lo que para alcanzar estos niveles de energía se necesitan más materias primas.
- Algunos autores creen que el uso de campos como especies vegetales con fines de biocombustibles ha hecho que los cultivos para consumo humano funcionen, lo que ha llevado a precios más elevados de estos (Moriana, 2018).

3.5.1 Obtención de biocombustibles a partir de biomasa lignocelulósica

La Biomasa hace referencia a la materia orgánica forjada en procesos biológicos directos o inducidos, mediante los cuales se produce energía, combustibles, productos químicos y materiales, para que se den estos procesos es necesario instalar biorrefinería la cual depende del tipo de biomasa utilizado, debido a la influencia en métodos solicitados y en los productos que se desea obtener. Además, la disponibilidad y naturaleza de la biomasa utilizada afectaran la ubicación y el tamaño de las plantas (Garea Vásquez, 2017).

La biomasa se puede dividir en dos categorías: natural y residual. La diferencia entre los dos se reduce a la participación humana en el proceso de producción, es decir, el primero proviene del ecosistema natural y el resto proviene de las actividades humanas. Esto significa que cuando se utiliza el término "biomasa natural", nos referimos a residuos forestales o acuicultura, mientras que biomasa residual contempla cultivos energéticos y excedentes agrícolas, de igual forma residuos domésticos e industriales (Garea Vásquez, 2017).

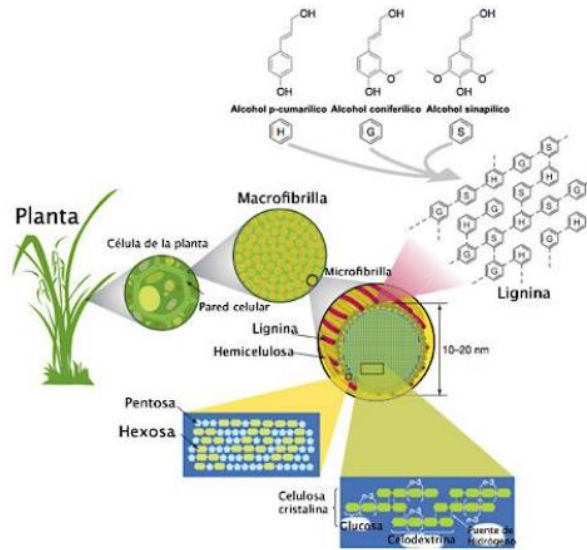


Figura 2. Composición estructural de la biomasa vegetal

Fuente: (Equihua Sánchez, 2013)

Las proporciones de estos componentes varían según el tipo de materia prima estimada, como se muestra en la siguiente tabla. Entre ellos, se puede observar que el contenido de celulosa en los recursos forestales es relativamente alto, pero, por otro lado, la proporción de ceniza y extracto es relativamente pequeña. Desde otro punto, observamos que el contenido de lignina y hemicelulosa es similar entre distintas materias primas (Garea Vásquez, 2017).

Tabla 2. Composición de materiales lignocelulósicos

<i>BIOMASA</i>		<i>CELULOSA (%)</i>	<i>HEMICELULOSA (%)</i>	<i>LIGNINA (%)</i>	<i>CELULOSA Y OTROS EXTRACTIVOS (%)</i>
<i>MADERAS DURAS</i>	Nogal	46.2	20.9	21.9	11
	Arce	44.9	23	28	4.1
	Chopo	43.5	21.8	26.2	8.5
	Álamo	49.9	25.1	18.1	6.9
	Pino	46.4	20.6	29.4	3.6
<i>MADERAS BLANDAS</i>	Abeto	49.9	21.6	28.7	0.2
<i>RESIDUOS AGRÍCOLAS</i>	Paja de trigo	30.2	22.3	17	30.5
	Paja de cebada	33.1	24.9	16.1	25.9
	Residuos de maíz	36.8	30.6	23.1	9.5
<i>BIOMASA HERBÁCEA</i>	Pasto varilla	45	31.4	12	11.6
<i>RESIDUOS CELULÓSICOS</i>	Papel periódico	40-55	25-40	18-30	17-25

Fuente: (Garea Vásquez, 2017)

3.5.2 Bio etanol con residuos lignocelulósicos

Entre las características del etanol están: contiene un menor contenido de energía (aproximadamente 45 % menos que el diesel), un precio bajo, un porcentaje menor de emisión de contaminantes que la gasolina y el petrodiesel, número de octano alto (99), por regla mayor que el de las gasolinas (80-100) esto hace que no ocurra la pre-ignición al ser usado directamente. Todo

lo mencionado ha ocasionado que hasta la fecha sea usado más como un aditivo competitivo de la gasolina que como combustible puro (Alcalá Galiano Morell et al., 2018).

La producción de etanol cuando se obtiene partir de la caña de azúcar y algunos provoca que se compita con la industria alimentaria, debido a esto se ha generado una alta demanda a producirlo de fuentes renovables y de residuos agroindustriales. Muchas son las dificultades a enfrentar en la producción de etanol lignocelulósico, principalmente la reducción de los costos enzimáticos que actualmente son los más elevados. En esta dirección resulta primordial la búsqueda de cepas productoras, estables y resistentes al proceso de producción (Alcalá Galiano Morell et al., 2018).

3.5.3 Situación actual de los biocombustibles

En la actualidad hay diversos proyectos para elaboración de biocombustibles en el planeta. En Europa, Canadá y USA funcionan plantas para la producción de pellets; en lo que, en China, Japón, Alemania, Reino Unido, etc., utilizan pellets de madera para crear energía eléctrica (Trejo Zamudio & García Trejo, Juan Fernando Gutiérrez Antonio, 2019).

En el año 2012 la producción de pellets de madera ha sido de 19.1 millones de toneladas. Por otro lado, USA y Brasil son los más grandes fabricantes de bioetanol en el planeta, desde materias primas de primera generación (Trejo Zamudio & García Trejo, Juan Fernando Gutiérrez Antonio, 2019).

(Trejo Zamudio & García Trejo, Juan Fernando Gutiérrez Antonio, 2019) mencionan que, varias plantas que usan materia celulósica son: Abengoa Bioenergy (Salamanca), Iogen Energy (Ottawa) y Poet, LLC (Sioux Falls); éstas podrían usar residuos agrícolas y además serían empleadas para la producción de biobutanol.

Hay plantas de pirólisis que transforman biomasa de madera en bioaceite, localizadas en Canadá, Italia, USA, Brasil, Países Bajos, Alemania, Bélgica y Australia. Los más grandes productores de biodiésel se hallan en el continente europeo; mientras tanto que la bioturbosina posee enormes productores en la Alianza Europea y USA (Trejo Zamudio & García Trejo, Juan Fernando Gutiérrez Antonio, 2019).

3.5.4 Impacto en el medio Ambiente

Los biocombustibles hoy en día se han convertido en una alternativa de gran interés, estos permiten poseer una fuente de energía renovable que puede reemplazar a los combustibles de origen fósil, esto ayuda a mitigar el efecto invernadero (Trejo Zamudio & García Trejo, Juan Fernando Gutiérrez Antonio, 2019).

La producción de biocombustibles sigue siendo reducida, a pesar de ello resulta significativo en lo que tiene que ver con los niveles en la actualidad de producción agrícola, dicha producción hoy en día ha provocado algunos efectos negativos en los factores agua, tierra y en la biodiversidad. El tamaño de dichos efectos depende mucho en la manera en que son producidos y procesados la mayoría de materias primas usadas para la generación de biocombustibles, del grado de producción y, sobre todo, de la manera en la que están influyendo en el cambio del uso del suelo (FAO, 2008).

Aunque el uso de biocombustibles tiene algunas desventajas, se cree que es bueno para el medio ambiente. En comparación con el diésel de petróleo, el uso de biodiesel reduce las emisiones de monóxido de carbono en un 48%, los hidrocarburos en un 67% y el material particulado en un 47% (dañino para los pulmones). Del mismo modo, el bioetanol puede reducir los gases de efecto invernadero y el biogás es una verdadera alternativa de energía renovable porque puede reutilizar

los residuos y reducir la deforestación, que es uno de los principales problemas ecológicos (OK DIARIO, 2019).

Como mencionan los autores (Trejo Zamudio & García Trejo, Juan Fernando Gutiérrez Antonio, 2019) se puede obtener biocombustibles en los tres estados como son sólido, líquido y gaseoso, por otro lado, su clasificación se da por el tipo de materia prima que se usa para producirlos:

- a) **De primera generación:** se derivan de materias primas usadas como alimentos, como son aquellas plantas que son ricas en azúcares, almidones y aceites, entre ellas están; caña de azúcar, aceite de girasol. Sin embargo, su uso cada vez se ha hecho menos recomendable ya que en la actualidad compite con la seguridad alimentaria mundial.
- b) **De segunda generación:** En esta se encuentran aquellas materias primas de cultivos no comestibles como, por ejemplo; higuera, pastos, y aquellos residuos de algunas actividades agrícolas, ganaderas, forestales, agroindustriales y urbanas.

Cabe recalcar que, en el ejemplo de la planta higuera se usan sus semillas para producir biodiesel, este tipo de materia prima no genera un riesgo para la seguridad alimentaria, sin embargo, causa problemas de cambio de suelo, además de competir por el uso de suelo con cultivos alimenticios. Por otro lado, se pueden cultivar diferentes especies en tierras marginadas con un mínimo de requerimientos de agua y fertilizantes (Trejo Zamudio & García Trejo, Juan Fernando Gutiérrez Antonio, 2019).

No obstante, se ha observado que los residuos que se generan representan un gran problema de contaminación, esto debido a su alta generación y su poco o nulo empleo para la obtención de productos de mayor valor agregado (Trejo Zamudio & García Trejo, Juan Fernando Gutiérrez Antonio, 2019).

c) **De tercera generación:** Según (Trejo Zamudio & García Trejo, Juan Fernando Gutiérrez Antonio, 2019), en esta generación se abarca a aquellos biocombustibles generados a partir de microalgas, macroalgas y algas verde-azules, las cuales consumen cantidades significativas de CO₂ en su etapa de crecimiento y elaboran aceites, proteínas y carbohidratos, ayudando así a producir biodiesel, bioturbosina, bioetanol e hidrogeno renovable.

Los estudios científicos muestran que los diferentes tipos de biocombustibles producen emisiones de gases de efecto invernadero muy diferentes a las del petróleo. Dependiendo de las materias primas y los métodos utilizados para producir el combustible, algunos cultivos pueden emitir más gases de efecto invernadero que los combustibles fósiles (FAO, 2008).

Por ejemplo, según la (FAO, 2008) los fertilizantes nitrogenados emiten óxidos de nitrógeno, un gas de efecto invernadero con un potencial de calentamiento global de unas 300 veces superior al del dióxido de carbono. Las emisiones de GEI también provienen de otras etapas del biocultivo y la producción de biocombustibles, incluida la producción de fertilizantes, pesticidas, combustibles utilizados en la agricultura, producción, transporte, distribución e incluso uso final.

También es probable que se emitan gases de efecto invernadero directa o indirectamente a partir de cambios en el uso de la tierra como resultado del aumento de la producción de biocombustibles, por ejemplo, el carbono almacenado en bosques y pastizales se libera del suelo cuando la tierra se convierte para la producción agrícola (FAO, 2008).

Por otro lado, el maíz para producir etanol puede reducir alrededor de 1.8 toneladas de dióxido de carbono por hectárea por año, mientras que el pasto varilla el cual es un cultivo de segunda generación puede ahorrar alrededor de 8.6 toneladas de gases de efecto invernadero por hectárea por año.

3.5.5 Impacto Socio económico

Al reducir la demanda de petróleo, los biocombustibles pueden hacer que el suministro de energía sea más seguro. Su uso también reducirá el costo de las importaciones a países con deficiencia energética y proporcionará una mejor balanza comercial. Todos estos desarrollos descongelarán la escasez de recursos para otras necesidades urgentes (Arungu Olende, 2007).

Puede reducir en gran medida las emisiones de gases de efecto invernadero, monóxido de carbono y partículas. Los biocombustibles también pueden mejorar el rendimiento del vehículo; de hecho, la lubricidad del biodiesel prolonga la vida útil de los motores a diésel (Arungu Olende, 2007).

Los biocombustibles son renovables y tanto el bioetanol como el biodiesel se queman limpiamente. Otro aspecto relevante es que, dada la infraestructura existente se puede usar para almacenamiento y distribución, ya que son más fáciles de comercializar respecto a otras alternativas (Arungu Olende, 2007).

3.6 Celulosa

Es el componente principal de las paredes celulares de los árboles y otras plantas, una fibra vegetal, similar al cabello humano cuando se mira al microscopio, su longitud y grosor varían según el tipo de árbol o planta (Estrada, 2014).

3.6.1 Estructura

Está formada por enlaces β -glucosídicos (1-4), y es un polímero lineal de almidón helicoidal superior a la amilasa, solía ser Alfa, ahora es Beta, por lo que el enlace o-glicosídico permanece en la hélice protegida, este polisacárido es difícil de hidrolizar (Nilsson, 1947) y está documentada la necesidad de eliminar la lignina para obtener la sustancia celulosa, (Ver figura 3) (Estrada, 2014).

La celulosa tiene una estructura lineal o fibrosa en la que se establecen múltiples enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de diferentes cadenas de glucosa yuxtapuestas, lo que la hace muy resistentes e insolubles al agua. De esta forma, se producen fibras densas las cuales conforman las paredes celulares de las células vegetales, lo que les confiere la rigidez necesaria (Estrada, 2014).

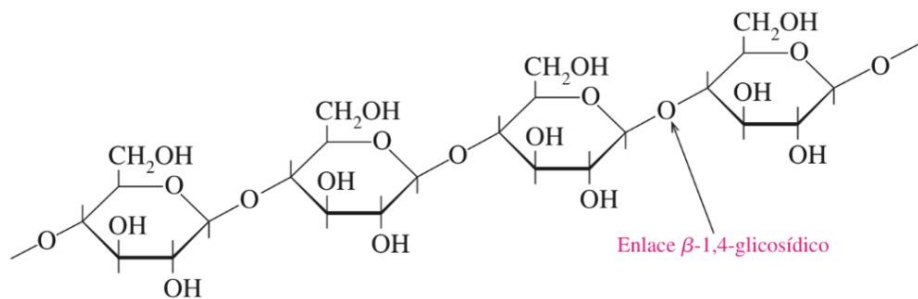


Figura 3. Modelo estructural de la celulosa.

Fuente: (Keller, 2019)

3.6.2 Usos de la celulosa en la industria

El material lignocelulósico ha sido aprovechado por su elevado contenido de celulosa, por medio de lo cual ha dado paso al desarrollo de nuevos estudios en la fabricación de fibras de carbón a partir de lignina, obtención de bioetanol a partir de celulosa, entre otros (Pineda Burgos & Navarrete Rivadeneira, 2017).

La celulosa tiene elementos como carbono, hidrógeno y oxígeno, su fórmula química es $(C_6H_{10}O_5)_n$, donde n es el grado de polimerización, el cual representa la unidad de glucosa en el polímero, es insoluble en agua o en soluciones diluidas en condiciones normales de temperatura, además está rodeada de hemicelulosa y lignina (Torres Cabezas, 2019).

3.6.3 Biomateriales compuestos con fibras de celulosa

La industria agrícola produce subproductos celulósicos altamente fibrosos (como bagazo, cáscara de arroz, pasto, etc.), que no se aprovechan en su totalidad. uno de los métodos actuales de utilización de estos subproductos es como fuente de celulosa, como se utilizan tradicionalmente, pero la última tendencia en las últimas décadas es su uso en biomateriales compuestos (Alvarez Castillo et al., 2012).

Los siguientes pasos para obtener bioetanol a partir de residuos lignocelulósicos es la hidrólisis de estos restos pre tratados. Por esta razón, existen dos métodos de hidrólisis que convierten la celulosa en azúcares reductores directos: la hidrólisis ácida y la hidrólisis enzimática (Alvarez Castillo et al., 2012).

3.6.4 Métodos de extracción de celulosa

(Leonardo G, 2014) resalta que, el proceso de fabricación del papel se trata de un método con escasa historia. Desde el siglo XVIII, la madera se ha considerado un elemento para la obtención de la pulpa. Anteriormente, este se obtenía a partir de fibras vegetales (como el lino).

El proceso de obtención de la pulpa de la celulosa se basa específicamente en tres pasos:

1. Extraer la corteza de la madera agregando agua para ablandarla y facilitar su separación.
La corteza se utiliza a menudo como combustible en las calderas de las fábricas.
2. La madera retiene pequeñas fibras de celulosa, que pueden separarse a través de la trituración o por el vapor. Cuando se utiliza el vapor el tipo de pulpa que se obtiene se suele denominar termo mecánica, y cuando se añade sustancias químicas se denomina quimotermomecánica.

De acuerdo con (Leonardo G, 2014), “la pulpa también se puede fabricar a partir del papel usado, aunque esta pulpa se usa específicamente en la producción de periódicos o papel higiénico”.

El papel producido a partir de la pulpa de celulosa o pasta posee la característica y beneficio de ser reciclado y reutilizado entre cuatro y siete veces, lo que depende en gran medida de las fibras que constituye, es decir, si se encuentra en cada proceso de reciclaje, minimizando la vida del papel (Leonardo G, 2014).

3.6.5 Principales fuentes de extracción.

Como planta que posee la mayor cantidad de celulosa con un porcentaje aproximado del 91.35% es el algodón, luego está el lino con un 82%, le sigue el yute con aproximadamente el 63%, luego paja de cereales con un 50%, luego la caña de maíz con 40% (Suárez Garnizo, 2016).

Por otro lado, (Suárez Garnizo, 2016) menciona también a las plantas maderables como el álamo con un porcentaje del 62.7%, seguido está el pino con 56.9%, el tilo con 53.9% y el haya con un 45.4%

3.6.6 Consumo de celulosa en el mundo

Se consumen aproximadamente 176 millones de toneladas de celulosa, 11 países poseen la mayor concentración de este consumo, como se detalla en la tabla 3.

Tabla 3. Consumo de celulosa en el mundo

RANKING MUNDIAL	PAÍS	CONSUMO	PARTICIPACIÓN
1	EE. UU	52.2	29.6%
2	CHINA	15.6	8.9%
3	JAPÓN	12.7	7.2%
4	CANADÁ	12.3	7.0%
5	FINLANDIA	10.7	6.1%
6	SUECIA	9.5	5.4%
7	ALEMANIA	7.4	4.2%
8	BRASIL	5.8	3.3%
9	RUSIA	5.2	2.9%
10	ITALIA	3.9	2.3%
11	FRANCIA	3.9	2.3%
12	RESTO DEL MUNDO	37.0	20.9%
	TOTAL	176.2	100%

Fuente: (Garea Vásquez, 2017) (Uriel, 2015)

Como se observa en la tabla 3, el país con mayor consumo de celulosa es Estados Unidos con una cantidad de 52.2, seguido de China con 15.6, y los que consumen en menor cantidad son Italia y Francia con 3.9.

De igual manera, según (Zambrano Silva, 2014), entre los principales países productores de celulosa se encuentra EE. UU con una producción de 52.8 %, seguido de Canadá con 24,9% y Francia en menor proporción con 2,3%

3.7 Lignina

La palabra lignina proviene del latín lignum que significa madera. Por lo tanto, las plantas que contienen mucha lignina se las conoce como plantas leñosas (Paz Fong, 2008).

Es un polímero ramificado y aromático, se forma mediante la extracción definitiva del agua de los azúcares. Los polímeros de la lignina se tratan de estructuras transconectadas que poseen un peso molecular de 10.000 uma. Se caracteriza por ser un complejo del grupo aromático (no carbohidrato), que contiene muchos polímeros estructurales (lignina) (Ver figura 4) (Paz Fong, 2008).

El contenido de lignina en la biomasa varía del 10 al 30% dependiendo de la especie vegetal. Después de la celulosa y la hemicelulosa, es el tercer más abundante de la tierra. Se encuentra principalmente en la capa media de la pared celular, y junto con la hemicelulosa forma una matriz que rodea las microfibras de celulosa (Chávez Sifontes & Domine, 2013).

Posee una composición química muy complicada, pero de forma muy básica se pueden distinguir tres tipos de unidades, que se repiten en su estructura ramificada y amorfa, estas unidades son Unidad H (cumaril) la cual resulta del alcohol-cumárico, la unidad G (guaiacil) que nace del alcohol coniferpílico y la unidad S (siringil) que procede del alcohol sinapílico (Ver figura 4) (Paz Fong, 2008).

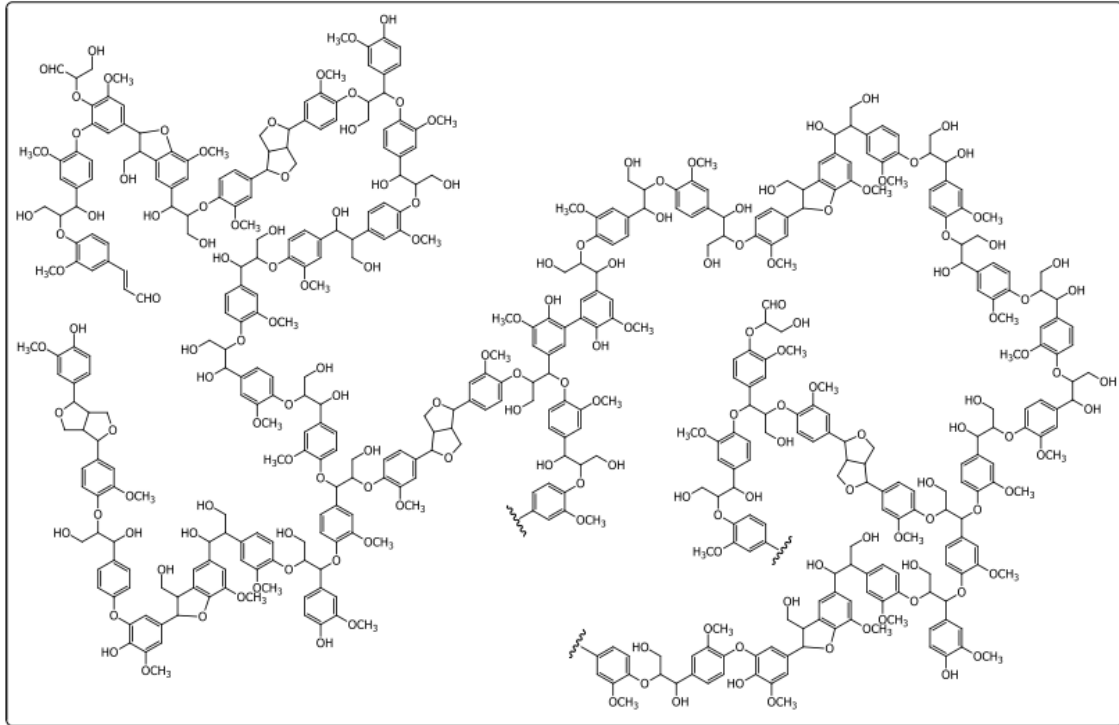


Figura 4. Modelo estructural de la lignina aserrada

Fuente: (Chávez Sifontes & Domine, 2013)

3.7.1 Métodos para deslignificación

Pretratamiento

El autor (Cortes Ortiz, 2014) menciona; “en este caso se usa agua, ya que es líquida y el objetivo del pre tratamiento es esencialmente solubilizar la hemicelulosa, mejorar su contacto con la celulosa e impedir la formación de inhibidores”.

Para impedir la formación de inhibidores, el valor de pH debe mantenerse entre 4 y 7 durante el pre tratamiento. Mantener este rango de pH puede disminuir la formación de monosacáridos y, por lo tanto, también puede reducir la formación de productos de degradación, los mismos que pueden continuar catalizando la hidrólisis de materiales celulósicos en el proceso de pre tratamiento (Cortes Ortiz, 2014).

3.7.1.1 Pre tratamiento ácido

(Cortes Ortiz, 2014) menciona que, “la biomasa lignocelulósica se pretrata con ácido a temperatura ambiente para mejorar la digestibilidad anaeróbica”.

Puede pre tratarse con ácido diluido o ácidos fuertes; la reacción que se da primero durante el pre tratamiento ácido se trata del hidrólisis de hemicelulosa, principalmente xilano, que es relativamente estable en ácido (Cortes Ortiz, 2014).

3.7.2 Hidrólisis

La Hidrólisis consiste en descomponer los carbohidratos complejos en azúcares simples que se utilizarán como sustratos para la fermentación posterior. La celulosa se hidroliza en monosacárido de D-glucosa, y la hemicelulosa se hidroliza en pentosa y hexosa (manosa, glucosa, xilosa, etc.) (Hernández Galindo, 2017).

3.7.2.1 Hidrólisis ácida

Es un proceso químico en el que el ácido convierte la hemicelulosa y la celulosa (cadenas de polisacáridos que forman la biomasa) en monómeros elementales. La hidrólisis ácida de materiales lignocelulósicos ha sido un proceso conocido desde 1819, durante este período, la escasez de petróleo llevó a su uso extensivo al estallar las dos guerras mundiales. Se puede realizar utilizando diferentes tipos de ácidos (como ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, etc.) (Vásquez Ruiz, 2019).

3.7.2.2 Hidrólisis Enzimática

El proceso de hidrólisis proteica, se basa en la ruptura de enlaces peptídicos, lo que da como resultados péptidos más pequeños e incluso aminoácidos libres. Estos enlaces pueden romperse por métodos químicos (usando ácidos o bases) o biológicos (usando enzimas). Las ventajas de esta

hidrólisis de realizarse en condiciones de pH suaves y temperatura para reducir la formación de compuestos indeseables (Almeida Castro, 2018).

Debido a la composición del material lignocelulósico, la hidrólisis enzimática de la biomasa está muy restringida debido a varios factores. Diferentes investigadores han concluido que la cristalinidad de la celulosa es solo uno de ellos. Otros factores son el grado de polimerización, el contenido de humedad, la superficie de contacto efectiva y el contenido de lignina. Para lograr la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica se ha propuesto el retratamiento, que se puede clasificar en: físico, mecánico, térmico, y químico usando ácidos o bases y sus combinaciones (Cortes Ortiz, 2011).

3.7.2.3 Mecanismo de hidrolisis enzimática

La hidrólisis enzimática de la celulosa se realiza mediante una celulasa muy específica. Los productos hidrolizados son principalmente pentosas y hexosas, que pueden producir otras hexosas y pentosas a partir de la hemicelulosa restante. La hidrólisis enzimática se utiliza en condiciones suaves (pH 4,8, temperatura entre 45-50 ° C) y no hay problema de corrosión.

Ciertos géneros de bacterias y hongos pueden producir celulasas para hidrolizar la lignocelulosa y otros materiales. Estos microorganismos pueden funcionar en condiciones aeróbicas o anaeróbicas (Carranza Rodríguez, 2013).

La celulasa suele ser una mezcla de varias enzimas. El proceso de hidrólisis involucra al menos tres tipos de celulasa (Carranza Rodríguez, 2013).

- **Endoglucanasas:** Atacan las regiones internas de baja cristalinidad de las fibras de celulosa para formar cadenas sin enlaces.

- **Glucanasas o celobiohidrolasas:** Degradan las moléculas eliminando las unidades de celobiosa al final de la cadena.
- **β -glucosidasa:** Hidroliza la celobiosa para producir glucosa.

En la actualidad, la hidrólisis enzimática es mejor que la ácida porque se puede llevar a cabo en condiciones de reacción más suaves (pH alrededor de 5 y temperatura inferior a 50°C), y posee un menor consumo de energía y a su vez menor impacto en el medio ambiente (Carranza Rodríguez, 2013).

3.7.2.4 Factores clave en la hidrólisis enzimática

Según (Carranza Rodríguez, 2013) los factores que afectan la hidrólisis enzimática de la celulosa incluyen sustratos, actividad enzimática y condiciones de reacción (temperatura, pH y otros parámetros). Actualmente la investigación se centra en la optimización del proceso y el incremento de la actividad enzimática para mejorar el rendimiento y la velocidad de hidrólisis.

- a) **Sustrato:** La concentración de sustrato es uno de los principales factores que afectan el rendimiento y la tasa inicial de hidrólisis de celulosa. El aumento de la concentración de sustrato aumenta el rendimiento y la velocidad de hidrólisis. Sin embargo, altas concentraciones de sustrato pueden causar inhibición. Para cada sustrato, esto reducirá en gran medida su rendimiento y la tasa de hidrólisis.
- b) **Celulasa:** Aumentar la dosis de celulosa hasta un cierto punto puede mejorar el rendimiento y la velocidad de hidrólisis, pero esto significa que el costo del proceso aumentará. La carga de celulosa varía de 7 a 33 FPU/ g de sustrato, obedeciendo al tipo y concentración del sustrato.

3.7.2.5 Hidrólisis enzimática de la celulosa

En la hidrólisis enzimática, la sacarificación de la celulosa se lleva a cabo enzimáticamente por la celulasa, lo que hará que se rompa la cadena del polímero de celulosa y hemicelulosa, las mismas que han sido previamente modificadas en el pre tratamiento. Se obtiene glucosa, a partir de la celulosa, y de la hemicelulosa se consiguen distintos monosacáridos, como: xilosa, glucosa, arabinosa, galactosa y manosa, etc. La ventaja de la hidrólisis enzimática de la química, es que no hay problema de corrosión en dicha hidrólisis (Perales Arellano, 2015).

El paso más común es combinar la disolución de enzima con las muestras de sustratos lignocelulósicos pre tratado, manteniendo el pH, temperatura y la igualdad de la mezcla durante el proceso. Después de determinar las condiciones óptimas de pH y temperatura, la optimización es muy limitada (Perales Arellano, 2015).

3.7.2.6 Enzimas más utilizadas en la hidrólisis enzimática de celulosa

(Chacón, 2005) en su trabajo de investigación menciona que, Las enzimas celulasas son aquellas producidas por una diversa variedad de bacterias y hongos aeróbicos o anaeróbicos, mesófilos o termófilos, pero solo pocos de ellos pueden producir enzima celulasa extracelular que hidroliza la celulosa.

Con los hongos aeróbicos como: *Trichoderma viride*, *Trichoderma reesei*, *Penicillium pinophilum*, *Sporotrichum pulverulentum*, *Fusarium solani*, *Talaromyces emersonii* y *Trichoderma koningii* se ha logrado obtener complejos celulolíticos que son utilizados en gran parte de los estudios, esto se debe a que presentan un sistema enzimático completo de celulasas que degradan parcial o hasta totalmente la celulosa en celobiosa y glucosa (Chacón, 2005).

De todos estos microorganismos, (Chacón, 2005) nos dice que, la característica principal del hongo *T. reesei* es la efectividad que presenta al momento de la degradación de la celulosa nativa y cristalina con el complejo celulolítico el cual produce y secreta, este presenta tres actividades que son necesarias para hidrolizar la celulosa estas son: (endo- β -1,4-glucanasa, exo- β -1,4-glucanasa y β -1,4-glucosidasa).

Además, la celulasa de *T. reesei* tiene la ventaja de ser estable a los inhibidores químicos, así mismo estable en un reactor agitado a pH 4.8 a 50° C, 48h. Otros microorganismos productores de celulasa incluyen a los hongos termófilos aeróbicos (*Sporotrichum thermophile*, *Thermoascus aurantiacus* y *Humicola insolens*), los hongos mesofílicos anaeróbicos (*Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis*, *Sphaeromonas communis*), las bacterias mesofílicas y termofílicas aeróbicas tales como: (*Cellulomonas* sp., *Cellvibrio* sp., *Microbispora bispora* y *Thermomonospora* sp.), y las bacterias anaeróbicas mesofílicas y termofílicas como: (*Acetivibrio cellulolyticus*, *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Clostridium thermocellum*) (Chacón, 2005).

De todos estos los termofílicos son de gran interés por su la capacidad que tienen para producir enzimas celulolíticas termoestables, estas son estables bajo condiciones severas, aún en niveles de pH altamente ácidos o alcalinos, así como temperaturas de hasta 90 °C. Las enzimas celulolíticas que son producidas por las bacterias del género *Bacillus* presentan básicamente actividad endo- β -1,4-glucanasa y exo- β -1,4- glucanasa, sin embargo, tienen una característica particular, en especial las producidas por *Bacillus subtilis*, esta es la resistencia a ser inhibida por la glucosa o celobiosa (Chacón, 2005).

Hoy en día existen un sin número de preparados enzimáticos comerciales que contienen principalmente actividad celulolítica (endo- β -1,4-glucanasa, exo- β -1,4-glucanasa, β 1,4-

glucosidasa). Los preparados enzimáticos mencionados se obtienen de microorganismos que tienen origen fúngico y bacteriano, que principalmente se originan de microorganismos como *Trichoderma* sp., *Aspergillus Níger* y *Bacillus subtilis* (Chacón, 2005).

Para finalizar, (Chacón, 2005) menciona algunos de estos preparados enzimáticos: Crystalzyme PML-MX de Valley Research Inc., Biocellulase A de Quest Intl., Celluclast 1.5 L de Novo Nordisk, Econase Ce-S de Enzyme Development Co., Cellulase AP30K de Amano Enzyme, Stonenzyme Plus, Zymafilt L-300 y Macerex de Enmex S.A. de C.V., Novozym 342 de Novo Industries, Cellubrix L de Novo Nordisk y Cellulase de Bio-Cat Inc. Todos solubles en agua y en estado líquido, excepto el preparado Cellulase que su presentación es en polvo. Así también, Crystalzyme PML-MX, Macerex y Cellulase son preparados enzimáticos que presentan actividad mixta, es decir, que, contienen actividad celulasa, pectinasa y hemicelulasa (Chacón, 2005).

3.8 Métodos de análisis e identificación de polisacáridos

3.8.1 Métodos instrumentales de análisis

3.8.1.1 Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR)

Se introdujo como una técnica de medición que puede ayudar a registrar los espectros infrarrojos mediante el uso de un interferómetro para guiar la luz a través de él y luego hacia la muestra. Mover el espejo distorsiona la luz en el dispositivo y genera una señal (interferograma) que representa la salida de luz del espejo. Los datos proporcionados por el espectrofotómetro son procesados por la transformada de Fourier y la salida de luz es causada por la longitud de onda infrarroja (Vásquez Ruiz, 2019).

Se utiliza para identificar los componentes de la muestra, considerando que pueden existir desviaciones en el uso de agua y etanol por absorción en el espectro Ir. En este tipo de investigaciones se analiza la interacción entre la radiación infrarroja y la sustancia, en esencia, en la radiación, se considera que una longitud de onda específica es absorbida por moléculas en un

estado de excitación en la misma longitud de onda inicial, cambiando así la vibración total (Vásquez Ruiz, 2019).



Imagen 3. Espectrofotómetro

Fuente: Autores

La base de este proceso se basa en el análisis de infrarrojos (IR) y la corrección de datos mediante transformada de Fourier, que convierte la salida del detector en un espectro cuantificable (FT), en el que la emisión o absorción de energía radiante proviene de la energía electromagnética y la masa de investigación. Las moléculas pueden vibrar en una variedad de frecuencias, que pueden ser capturadas por el dispositivo, y la lentitud de la investigación infrarroja es de entre 10 y 12,500 nm. El sistema maneja interfotometría para explorar información en un haz de IR, Fourier compone espectros cuantificables en función de patrones o “huellas digitales”. Básicamente hay cuatro técnicas o métodos dentro del análisis por FTIR (Vásquez Ruiz, 2019).

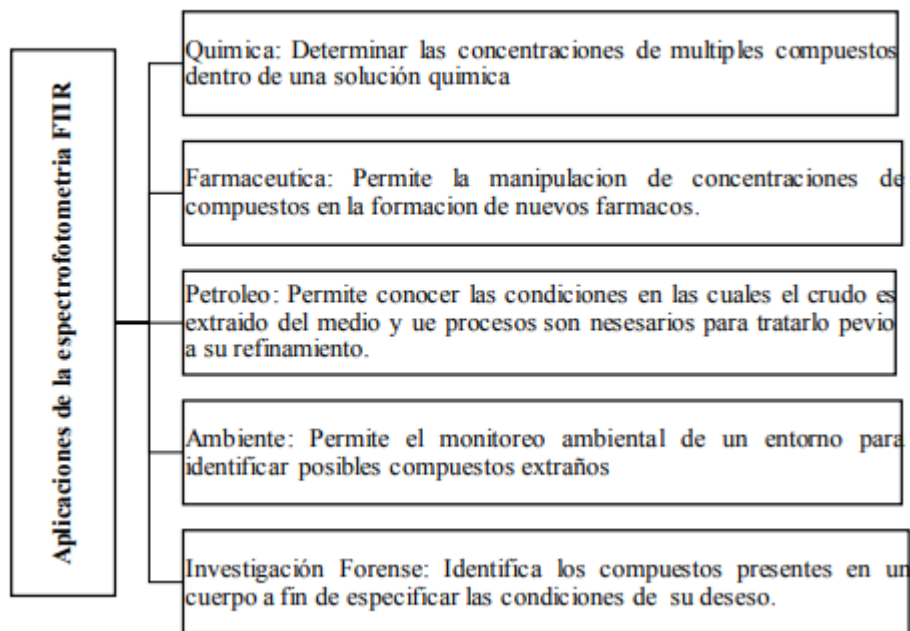


Figura 5. Aplicaciones de la espectrofotometría FTIR

Fuente: (Vásquez Ruiz, 2019)

3.8.1.2 Espectroscopia UV visible

Se trata de una técnica analítica que puede determinar la concentración de compuestos en una solución. Está basado en moléculas que absorben la radiación electromagnética y la cantidad de luz absorbida depende linealmente de la concentración. Para realizar este tipo de medición se utiliza un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y de esta forma medir la cantidad de luz absorbida por la misma (Díaz Abril et al., 2015).

4. CAPÍTULO: MATERIALES Y MÉTODOS

Para el presente trabajo de titulación primero se realizó un pretratamiento a nuestra materia prima. Luego, se realizó un análisis químico proximal de la materia prima para determinar las condiciones y la composición, posteriormente, se procedió a extraer y a identificar el porcentaje de celulosa contenida en el aserrín y papel reciclado. Después se procedió a realizar una hidrólisis ácida y enzimática a diferentes parámetros. Finalmente, se determinó y cuantificó la presencia de glucosa.

Todo lo mencionado se detalla a continuación:

4.1 Proceso de caracterización del aserrín y papel reciclado

4.1.1. Reciclaje manual del aserrín y papel

Para la obtención y caracterización de celulosa, en primer lugar, se procedió a recolectar 6kg de papel de oficina que ya ha sido usado (Ver Imagen 4a), así como también 8kg de aserrín que desechaban algunos talleres de mueblería (Ver imagen 4b), todo esto se llevó a cabo dentro de la ciudad de Cuenca.

Una vez ya recolectado la materia prima se procedió a trocear el papel manualmente en pedazos pequeños y a pasar el aserrín por el molino POLIMIX PX-MFC 90 D, de esta manera el proceso de caracterización se vuelve más eficiente y rápido.



Imagen 4. Reciclaje manual: a) Reciclaje papel; b) Reciclaje aserrín

Fuente: Autoras

4.1.2. Pre tratamiento del papel

El papel que se usó como materia prima fue reciclado de oficina, lo que significa que tiene un porcentaje significativo de tinta, se colocó en un vaso de precipitación de 500mL, 150g de papel reciclado, se procedió a realizar un lavado con 350mL de agua destilada a una temperatura de 120°C con ayuda de una estufa a una agitación constante durante 30min.

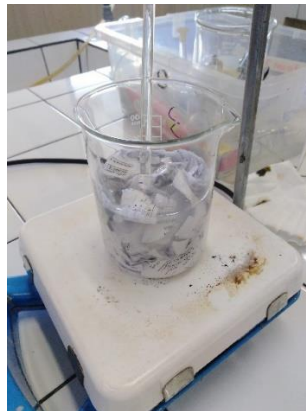


Imagen 5. Pre tratamiento del papel

Fuente: Autoras

4.1.3. Pre tratamiento del aserrín

Para el aserrín fue necesario realizar un pre tratamiento con ácido sulfúrico, se colocó en un vaso precipitación de 500mL, 150g de aserrín y 300mL de ácido sulfúrico al 5%, a una temperatura de 150°C, con ayuda de una estufa a una agitación constante por 30min.



Imagen 6. Pre tratamiento del aserrín

Fuente: Autoras

4.1.4. Análisis proximal del papel

Para el análisis proximal del papel reciclado, tenemos este previamente secado, troceado y tratado, basándonos en las metodologías que están en vigencia.

- Determinación de tinta (Colorimetría)
- Determinación de humedad (ASTM E-871-82)
- Determinación de pH (Norma Técnica NTE INEN 389)
- Determinación de celulosa (TAPPI T17m-55)

4.1.4.1.Determinar tinta en papel

Para determinación de tinta en el papel, se usó el método colorimétrico, con ayuda de un equipo (colorímetro LAMOTTE 1200), este equipo tiene diferentes funciones entre ellas mide el color del agua en unidades UPC.

En una luna de reloj se pesaron 100g de papel previamente troceado, pre tratado (ver punto 4.1.2) y secado, este se añadió a un vaso de precipitación que contenía 500mL de agua destilada se llevó a una estufa a una temperatura de 40°C, a agitación constante por 30min, al finalizar se dejó reposar 15min para que el papel se sedimente.

Luego, se filtró, separando el papel del agua, se tomaron 10mL del agua filtrada y se lo colocó en un vaso de precipitación de 100mL junto con 10mL de agua destilada, esta mezcla se llevó al equipo colorimétrico y se midió el color presente en el agua.

Posteriormente, se volvió a calentar la muestra inicial (100g de papel y 500mL de agua destilada) repitiendo el proceso desde el calentamiento a 40°C, hasta obtener un valor constante de color.

4.1.4.2.Determinación de Humedad

Para la determinación de humedad se basó en el método ASTM E-871-82, método gravimétrico que se determina o hace referencia a la diferencia de pesos del sustrato en peso seco.

En un crisol se pesó 1g de muestra húmeda de papel previamente tratado (Ver punto 4.1.2), se llevó a una estufa de secado por un tiempo mínimo de 4h a una temperatura de 105°C, una vez que haya pasado el tiempo mínimo de 4h, se lleva la muestra a un desecador a 100°C aproximadamente por 30min. Por último, se pesa la muestra final, y este proceso se repite hasta obtener un peso constante.

Se emplea la siguiente ecuación (EC1) para determinar el porcentaje total de humedad (%H) con referencia al material original húmedo.

$$\%H = 100 * \frac{(M2-M3)}{(M1-M3)} \quad \text{EC 1}$$

Donde:

M1 = Peso del recipiente con la muestra húmeda (g)

M2 = Peso del recipiente con muestra seca (g)

M3 = Peso del recipiente (g)

Los datos de medición de humedad en papel se detallan a continuación:

Tabla 4. Datos medidos para la determinación de humedad en papel

Prueba	M1	M2	M3	°C
1	60.25g	59.30g	59.25g	100
2	60.25g	59.28g	59.25g	100
3	60.28g	59.32g	59.28g	100
4	60.27g	59.32g	59.27g	100

Fuente: Autoras

4.1.4.3. Determinación de pH

Para la determinación del pH de la fibra de papel, se basó en la Norma NTE INEN 389.

Se solubilizó y homogeneizó 5g de la muestra con 100mL agua destilada colocándola en un vaso de precipitación de 100ml posteriormente se mantuvo en agitación constante.

Pasado 30min se lo dejó en reposo para la sedimentación del papel. Finalmente, para la determinación de pH se introdujo electrodos de potenciómetro marca Mettler Toledo, Modelo Seven multi en el vaso con la muestra, cuidadosamente para que estos no toquen las paredes del mismo, se procedió a la medición y lectura.

4.1.4.4.Determinación de celulosa en papel

La determinación del contenido de celulosa en papel se basó en el método TAPPI T17m-55, para ello se pesó 1g de la muestra de papel previamente tratado, troceado y secado, se añadió 15mL de ácido acético al 80% y 1.5mL de ácido nítrico al 68%

Posteriormente se agitó la mezcla durante 20min, se filtró y se lavó con etanol, seguido de esto se llevó a un horno a una temperatura de 105°C durante 3h y se procedió a pesarla.

Finalmente, la muestra de papel fue llevada a una mufla a 500°C durante 30min, obteniendo así una especie de pasta seca y grumosa de papel (celulosa) (Ver anexo 4), luego se pesó hasta peso constante.

Para determinar el contenido de celulosa se emplea la ecuación (EC 2):

$$\text{Celulosa (\%)} = \frac{(MS-MC)}{PM} * 100 \quad \text{EC 2}$$

Donde:

MS = Peso de la muestra seca

MC = Peso de la muestra calcinada

PM = Peso inicial de la muestra antes del secado

Los datos medidos en la determinación de celulosa del papel se detallan a continuación:

Tabla 5. Datos medidos para la determinación de celulosa del papel

PRUEBA	PAPEL (g)	MS(g)	MC(g)	PM(g)
1	1	0.981	0.19	1
2	1	0.973	0.16	1
3	1	0.971	0.16	1
4	1	0.983	0.19	1

Fuente: Autoras

4.1.5. Análisis proximal del aserrín

Para el análisis proximal del aserrín, tenemos este previamente secado, triturado y tratado, (luego del punto 4.1.3) y, basándonos en las metodologías que están en vigencia mencionadas anteriormente en el punto 4.1.4 pero en este caso para el aserrín se suman dos procedimientos más como son: determinación de extraíbles, determinación de cenizas y otro método para la determinación de celulosa en aserrín.

- Determinación de humedad (ASTM E-871-82)
- Determinación de pH (Norma Técnica NTE INEN 389)
- Determinación de extraíbles (ANSI/ASTM D1105-56)
- Determinación de lignina (ANSI/ASTM D1106-56)
- Determinación de cenizas (ANSI/ASTM D1102-56)
- Determinación de celulosa (ANSI/ASTM D1103-60)

4.1.5.1.Determinación de humedad en aserrín

Para la determinación de humedad se basó en el método ASTM E-871-82, el mismo procedimiento explicado en el punto 4.1.4.2

Los datos de medición de humedad en aserrín se detallan a continuación:

Tabla 6. Datos medidos para la determinación de humedad en aserrín

Prueba	M1	M2	M3	°C
1	60.25g	59.35g	59.25g	100
2	60.28g	59.40g	59.28g	100
3	60.28g	59.39g	59.28g	100
4	60.27g	59.40g	59.27g	100

Fuente: Autoras

4.1.5.2.Determinación de pH en aserrín

Para la determinación de pH del aserrín, se basó en la Norma NTE INEN 389, el mismo procedimiento explicado en el punto 4.1.4.3.

4.1.5.3.Determinación de extraíbles en aserrín

Para la determinación de extraíbles en aserrín se basó en el método ANSI/ASTM D1105-56, para ello se usó 7.5 g de la muestra de madera previamente tratada (punto 4.1.3), tamizada, seca y con humedad determinada.

Se usó un sistema de extracción Soxhlet con condensador a reflujo, luego se realizó una extracción con etanol durante 8h. Se apagó el equipo y se esperó a que se enfriará. Se secó el contenido (libre de extraíbles) por 48 horas a temperatura ambiente.

Luego, se transfirió la muestra a una caja de petri previamente tarada y se pesó, se dejó secar en una estufa a $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ durante 4 horas.

Finalmente, se sacó la muestra y se transfirió a una desecadora, esperando 15 min, la muestra se pesó y secó hasta peso constante.

Para determinar el porcentaje de extraíbles se emplea la ecuación (EC 3):

$$\% \textit{Extraíbles} = \frac{7.5 - PM}{7.5} * 100 \quad \textit{EC 3}$$

Donde:

PM = Peso de la muestra libre de extraíbles

4.1.5.4. Determinación de lignina en aserrín

Para la determinación del contenido de lignina en aserrín se basó en el método TAPPI T 22-OS-64.

Se colocó 1g de muestra de aserrín libre de extraíbles (punto 4.1.5.3) y 15mL de ácido sulfúrico al 72% en un vaso de precipitación de 100mL, se llevó la muestra a un calentador eléctrico a baño maría a una temperatura de 30°C y agitación constante. Después se transfirió la muestra a un matraz con 400mL de agua destilada.

Seguidamente se hirvió a reflujo por 4h, para luego filtrar la muestra. El sólido que se quedó en el filtro se enjuagó con 100mL de agua destilada caliente.

Finalmente, el sólido se secó en una estufa a 100°C hasta peso constante.

Para determinar el porcentaje de lignina se emplea la siguiente ecuación (EC 4):

$$\% \textit{Lignina} = (PFS - PF) * 100 \quad \textit{EC 4}$$

Donde:

PFS = Peso del filtro con sustrato seco

PF = Peso del filtro

Los datos obtenidos se detallan a continuación:

Tabla 7. Datos medidos para la determinación de lignina en aserrín

PRUEBA	ASERRÍN (g)	PFS(g)	PF(g)
<i>1</i>	2	1.21	0.95
<i>2</i>	2	1.19	0.94
<i>3</i>	2	1.19	0.94
<i>4</i>	2	1.18	0.93

Fuente: Autoras

4.1.5.5. Determinación de cenizas en aserrín

Para determinación del contenido de cenizas en aserrín se basó en el método ANSI/ASTM D1102-56, para ello se pesó 1g de aserrín previamente tratado, tamizado y secado a un crisol, que luego fue llevado a una mufla a 100°C y posteriormente se fue aumentando hasta llegar a 210°C se lo dejó ahí por aproximadamente 1h.

Pasado ese tiempo se procedió a revisar la muestra, de tal modo que la muestra sea solamente ceniza, (color grisáceo blancuzco), como la muestra aún no estaba totalmente calcinada se procedió a aumentar la temperatura en la mufla, llegando a 300°C por 1h.

Se realizó 2 procedimientos más a 400°C y 500°C por 1h.

Finalmente, se llevó la muestra a un desecador por 15min y luego fue pesada, se repitió este último procedimiento hasta peso constante.

Para determinar el porcentaje de cenizas se emplea siguiente ecuación (EC 5): .

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P1 - P2}{P - P2} * 100 \quad \text{EC 5}$$

Donde:

P1 = Pcrisol + cenizas

P2 = Pcrisol

P = Pcrisol + aserrín

A continuación, se detallan los valores obtenidos en el proceso de incineración:

Tabla 8. Datos medidos para la determinación de cenizas en aserrín

Pruebas	°C	Tiempo(h)	P (g)	P1(g)	P2(g)
1	210	1h	60	59.26	59.24
2	300	1h	60,25	59,28	59,25
3	400	1h	60.79	59.29	59.28
4	500	1h	60.78	59.86	59.25

Fuente: Autoras

4.1.5.6.Determinación de celulosa en aserrín

Para determinar el contenido de celulosa se basó en el método ANSI/ASTM D1103-60, para ello se pesó 2g de aserrín y se colocó en un vaso de precipitación de 100mL, se añadió a este 10mL de Hidróxido de Sodio (NaOH) al 17.5%, se agitó y se dejó reposar por 2min, se volvió a agitar y nuevamente se dejó reposar por 3min.

Se agregó nuevamente 5mL de NaOH al 17.5%, de nuevo se agitó y esta vez se dejó reposar por 5min, se volvió a repetir este paso una vez más.

Posteriormente, se agregó nuevamente 5mL de NaOH al 17.5% se volvió a agitar y dejó reposar por 30min a baño María a $20^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, después de los 30min se agregó 30mL de agua destilada, se agitó y se dejó reposar esta vez por 1h.

Pasada la hora se procedió a filtrar al vacío con ayuda de una bomba de vacío, un embudo buchner y papel filtro previamente tarado, seguidamente, se lavó la muestra solida con una mezcla que contenía una solución de 33mL de agua destilada y 25mL de NaOH al 17.5%, posteriormente se volvió a lavar, pero esta vez solo con 30mL de agua destilada y se dejó de aplicar al vacío.

Nuevamente, se realizaron dos lavados de la muestra sólida; uno con 15mL de una solución de ácido acético al 10% y después de 3min se aplicó al vacío, y el segundo con 50mL de agua destilada aplicando vacío.

Finalmente, se colocó la muestra en una caja Petri y se la llevó a una estufa a una temperatura de $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ durante 2h, después de las 2h se transfirió a un desecador durante 15min, se repitió el secado hasta peso constante.

Para determinar el contenido de celulosa se emplea la siguiente ecuación (EC 6)

$$\text{Celulosa (\%)} = \frac{(PT+PL)*PML-PB}{PMT} * 100 \quad \text{EC 6}$$

Donde:

PB = Peso bruto de la muestra

PT = Peso del papel filtro

PL = Peso de lignina en 1g de aserrín

PML = Peso de aserrín libre de extraíbles (base de 7.5g)

PMT = Peso de aserrín antes de la extracción (7.5g)

Tabla 9. Datos medidos para la determinación de celulosa en aserrín

MUESTRA	PB	PT	PL	PML
1	2	0.89	0.19	6.9
2	2	0.91	0.19	6.8
3	2	0.91	0.18	6.8
4	2	0.90	0.19	6.8

Fuente: Autoras

4.2. Proceso de transformación de celulosa a glucosa a partir del papel y aserrín

Una vez que se haya obtenido el porcentaje de celulosa en el papel y aserrín reciclados se procede a convertir esa celulosa obtenida en el punto (4.1.4.4 determinación de celulosa en papel y 4.1.5.6 determinación de celulosa en aserrín) en glucosa, esto se lo realizó por medio de una hidrólisis ácida utilizando ácido sulfúrico (H₂SO₄) y una hidrólisis enzimática usando la enzima alpha celulosa.

Al finalizar el proceso de hidrólisis se realizó la determinación de azúcares reductores, mediante la prueba fehling.

4.2.1. Hidrólisis Ácida

Para realizar la hidrólisis ácida y poder cuantificar los valores obtenidos se realizaron 8 pruebas para 3 diferentes grupos de parámetros, esto con la finalidad de determinar con qué parámetros se obtiene valores aptos de glucosa.

Se usó 1g de papel previamente troceado y pasado por el proceso del punto; 4.1.4.4 determinación de celulosa en papel, y 1g de aserrín previamente tamizado y pasado por el proceso del punto; 4.1.5.6 determinación de celulosa en aserrín.



Imagen 7. Material utilizado en la hidrólisis ácida
Fuente: Autoras

Posteriormente, se colocó la materia prima en un vaso de precipitación de 100ml y se procedió a realizar las pruebas respectivas con 10mL de Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) a diferentes concentraciones, así como el tiempo, la temperatura, y cantidad de materia prima como se detalla en la tabla 10.

Tabla 10. Datos para realizar la hidrólisis ácida

<i>VARIABLE</i>	<i>VALOR</i>	<i>UNIDAD</i>
<i>H₂SO₄</i>	30,40,50,60,70,80,90,96	%
<i>TEMPERATURA</i>	30,40,50,60,70,80,90,100	°C
<i>TIEMPO</i>	10,15,20,25,30,35,40,45	min

Fuente: Autoras



Imagen 8. Realización de hidrólisis ácida

Fuente: Autoras

4.2.2. Prueba Fehling

Para la prueba Fehling, en primer lugar, se la realizó con una muestra patrón, para comparar resultados, en este caso nuestra muestra patrón fue el almidón de azúcar, para ello, se tomó 1g de almidón y se lo mezcló en 1mL de agua destilada. A continuación, se procedió a colocar esta mezcla en un tubo de ensayo y a su vez 10 gotas de reactivo Fehling A y 10 gotas de reactivo Fehling B, el resultado de esta mezcla fue un líquido de color azul oscuro como se puede observar en la Imagen 9a.

Luego, se procedió a calentar el tubo a baño maría con ayuda de un calentador eléctrico, si la muestra después de minutos se tornaba rojo ladrillo (Ver Imagen 9b), la reacción sería positiva pero si en cambio permanecía azul o se tornaba azul verdoso la reacción sería negativa (Ver imagen 12a)

Una vez realizada la prueba fehling con la muestra patrón, ahora sí se procede a realizarla para las muestras hidrolizadas previamente de aserrín y papel.

Para ello, al finalizar cada ensayo de hidrólisis ácida se le dejó enfriar de 20 a 25min, se filtró la muestra y al hidrolizado se le realizó el mismo procedimiento que con la muestra patrón; 1mL del hidrolizado más 10 gotas de reactivo A y B, luego calentar la mezcla a baño maría hasta obtener los colores respectivamente que nos digan si existe o no glucosa comparándolos con el resultado de presencia de glucosa de la muestra patrón.

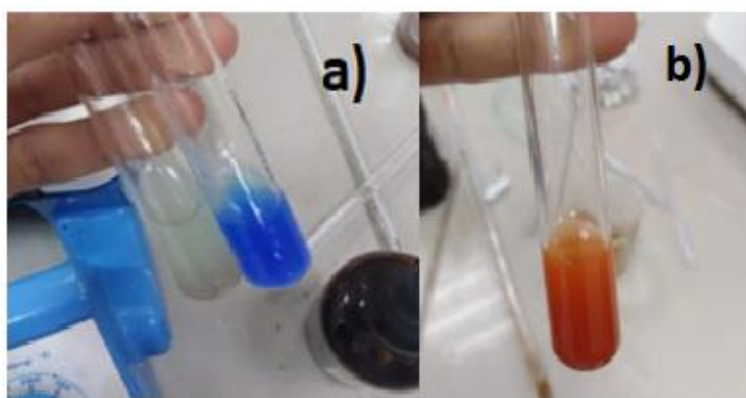


Imagen 9. Prueba Fehling: a) muestra con reactivo A y B antes de baño María. b) resultado final de muestra patrón; almidón de yuca.

Fuente: Autoras

4.2.3. Hidrólisis Enzimática

Para realizar la hidrólisis enzimática nos basamos en la metodología de (Carranza Rodríguez, 2013), tanto para el aserrín como para el papel reciclado, se realizaron 6 pruebas, en cada una varía el tiempo, temperatura y concentración de enzima, sin embargo, cada prueba se repitió 7 veces para obtener una media ponderada.

La enzima alpha celulosa fue pedida al laboratorio certificado MEDIBAC ubicado en la ciudad de Guayaquil-Ecuador.

La determinación de su actividad enzimática se realizó mediante el procedimiento NREL, TP-510-42628, el cual se describe a continuación:

a. Preparación del reactivo DNS

10,6 g de ácido dinitrosalicílico

19,8 g de hidróxido de Sodio (NaOH)

16 ml de agua destilada

b. Preparación del buffer de citrato de Sodio

Las diluciones se realizaron en un buffer de citrato con pH 4.8, para lo cual se mezcló:

210g de ácido cítrico mono hidratado

750mL de agua desionizada o agua peptona

Se añade a la muestra anterior de 50 a 60 g de NaOH, poco a poco hasta llegar a un pH de 4.3, esto se va leyendo con ayuda del potenciómetro.

c. Preparación de tubos experimentales de enzima

Se colocó la tira de papel filtro enrollado en un tubo Eppendorf de 50 mL.

Se añadió 1 mL 0.05M de buffer de citrato de sodio, con un pH 4.8 al tubo de ensayo, verificando que la tira se sature.

Se calentó hasta 50°C en baño María.

d. Preparación de blancos y controles

Blanco: 1.5 mL de buffer de citrato de sodio.

Control de enzima: 1 mL de buffer de citrato de sodio + 315uL de dilución de enzima (se preparó por separado un control por cada dilución de enzima).

Control de sustrato: 1.5mL de buffer de citrato de sodio + 1g de muestra aserrín o papel + 20mL de agua destilada.

4.2.3.1. Proceso de hidrólisis enzimática

Como primer punto se pesó 1g de papel previamente troceado y pasado por el proceso del punto 4.1.4.4 (determinación de celulosa en papel) y 1g de aserrín previamente tamizado y pasado por el proceso del punto 4.1.5.6 (determinación de celulosa en aserrín).

Se usó 2 matraces erlenmeyer de 250mL, en el uno se colocó el 1g de papel y en el otro el 1g de aserrín, a cada uno se le añadió 20mL de buffer de citrato de sodio preparado anteriormente.

Se llevaron las 6 muestras colocadas en cada matraz a un agitador rotatorio, con ayuda de una micropipeta se fue colocando la carga enzimática; se realizaron 6 pruebas a diferentes concentraciones de carga enzimática, tiempo y temperatura (Ver tabla 11), cada prueba se repitió 7 veces para obtener una media estándar.

Seguidamente se hizo un control de sustrato, es decir una muestra muy a parte de las que se realiza para la hidrólisis enzimática, esto nos ayuda a corroborar que nuestra muestra, así como la enzima reaccionan favorablemente con el medio, dicho control contenía en un matraz Erlenmeyer de 250mL; 1.5mL de buffer de citrato de sodio preparado anteriormente, agua destilada hasta completar 100mL y 1g de la muestra (Se deben tener dos controles uno para aserrín y otro para papel). Así mismo se realizó un control de enzima, es decir; en un matraz de 250mL se colocó 1mL de buffer de citrato de sodio y 315 μ L de la enzima.

Los controles se los coloca junto con las muestras a hidrolizar en el agitador rotatorio, mediante estos podemos observar cómo trabaja la enzima celulosa ultra 10.

Para finalizar se dejó reaccionar las muestras en el agitador a 120 rpm a diferentes parámetros

(Ver tabla 11)



Imagen 10. Proceso de hidrolisis enzimática

Fuente: Autoras

Para cada prueba se usaron los siguientes parámetros:

Tabla 11. Datos para realizar la hidrolisis enzimática

PRUEBA	TEMPERATURA (°C)	TIEMPO (h)	CONCENTRACIÓN DE ENZIMA (μL)
1	50	72	315
2	50	96	315
3	45	72	315
4	55	72	400
5	45	96	400
6	50	48	400

Fuente: Autoras

4.3. Cuantificación de glucosa obtenida

Una vez realizadas las hidrólisis, se procedió a cuantificar la glucosa presente con ayuda del espectrofotómetro UV Visible del laboratorio, realizando con anterioridad una prueba DNS.

4.3.1. Obtención de la curva de calibración usando glucosa como estándar

Para la obtención de la curva de calibración, nos basamos en la metodología de (Fernandez, 2012)

Se utilizó una solución patrón de glucosa (1g\100mL). En la tabla 12 se puede observar las cantidades necesarias de volumen de solución de celulosa, agua destilada y solución DNS necesarias para realizar 6 soluciones y el blanco (lo cual es la referencia de 0 para tomar la absorbancia en el espectrofotómetro), para proceder con la toma de datos en el mismo.

* DNS: se pesó 0.0625g de Tartrato de Sodio, 1.25g DNS, 1.25g de Hidróxido de Sodio, se mezclaron estos tres compuestos en un balón de 100mL y se aforó con agua destilada, agitando hasta tener una mezcla homogénea.

Tabla 12. Datos para obtener la curva de calibración

Dilución	Blanco	R 1	R2	R 3	R 4	R 5	R6
Volumen de solución (ml)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2
Volumen de agua (ml)	1,2	1,0	0,8	0,6	0,4	0,2	0
Volumen DNS (ml)	4	4	4	4	4	4	4
Volumen total (ml)	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2

Fuente: (Fernandez, 2012)

A cada solución se le agrega 8mL de agua destilada al final.

Para realizar la curva de calibración es de mucha necesidad el conocer las concentraciones de azúcar presente en cada solución luego de haber realizado la solución con el agua destilada. Esta concentración se la realizó mediante la siguiente ecuación:

$$V_1 C_1 = V_2 C_2 \quad EC 6$$

Despejando de la misma la C_2 , se obtiene:

$$C_2 = \frac{V_1 * C_1}{V_2} \quad EC 7$$

$$C_2 = \frac{0,2 \text{ ml} * 1 \text{ g}/100\text{ml}}{13,2 \text{ ml}}$$

$$C_2 = 0,01515 \text{ g}/100\text{m}$$

De los datos colocados en la ecuación 7 se sabe que C_1 es la concentración de la solución patrón estándar (1g/100mL), V_1 es el volumen de la solución de la prueba número 1 colocado en la tabla 13 es decir 0,2 ml y el volumen final es decir V_2 que es 13,2 ml, que es volumen obtenido después de agregar los 8 ml de agua en todas las soluciones.

Este proceso se repite hasta conseguir las concentraciones de azúcar de las 5 soluciones a estudiar, los mismos que se encuentran registrados en la tabla 13:

Tabla 13. Concentración de azúcar de las cinco soluciones

Dilución	Blanco	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Prueba 4	Prueba 5	Prueba 6
Concentración (g/l)	0	0,01515	0,02962	0,04444	0,05925	0,07407	0,09090

Fuente: (Fernandez, 2012)

Una vez preparada dicha solución se procede a medir la absorbancia en el espectrofotómetro y obtenemos la tabla 14, la cual indica las absorbancias medidas en el espectro, tomando como 0 el blanco es decir la solución sin concentración de glucosa.

Tabla 14. Absorbancia de las cinco soluciones

Dilución	Blanco	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Prueba 4	Prueba 5	Prueba 6
Absorbancia (Abs)	0	0,06656	0,0916701	0,123796	0,154440	0,177170	0,204622

Fuente: (Fernandez, 2012)

4.3.2 Grafica de la curva de Calibración

Con los resultados obtenidos se procede a construir la curva de calibración, la cual relaciona las concentraciones de las distintas soluciones y a su vez la absorbancia medida en cada una de ellas.

Tabla 15. Datos para construir la curva de calibración

No. Solución	Concentración	Absorbancia
Blanco	0	0
1	0,01515	0,0665673
2	0,02962	0,0916701
3	0,04444	0,123796
4	0,05925	0,154440
5	0,07407	0,177178
6	0,09090	0,204622

Fuente: (Fernandez, 2012)

Para el estudio de esta muestra es de mucha necesidad realizar una dilución ya que los polisacáridos se encuentran muy concentrados y por ende se obtendrían resultados que no se ajustan a la curva de calibración. Para ello se toman las soluciones anteriormente preparadas y a estas se les realiza las siguientes diluciones:

1:5 por 1 ml de muestra, se agregan 4 mL de agua

1:10 por 1 ml de muestra, se agregan 9 mL de agua

1:12 por 1 ml de muestra, se agregan 11 mL de agua

1:15 por 1 ml de muestra, se agregan 15 mL de agua.

Se hace el mismo proceso que con las soluciones anteriores y se mide la absorbancia en el espectrofotómetro, usando el mismo blanco de las soluciones anteriores. De estos datos se obtiene la tabla 16 que muestra, las absorbancias tomadas para la muestra:

Tabla 16. Datos de absorancia para la muestra

No. De muestra	Dilución	Absorbancia
1	1 5	0,332738
2	1 10	0,386478
3	1 12	0,31605
4	1 15	0,314577

Fuente: (Fernandez, 2012)

Con la tabla 15 se obtiene la gráfica de la curva de calibración de acuerdo con los datos tomados durante el desarrollo de nuestro proyecto y también se encuentra la ecuación de la recta.

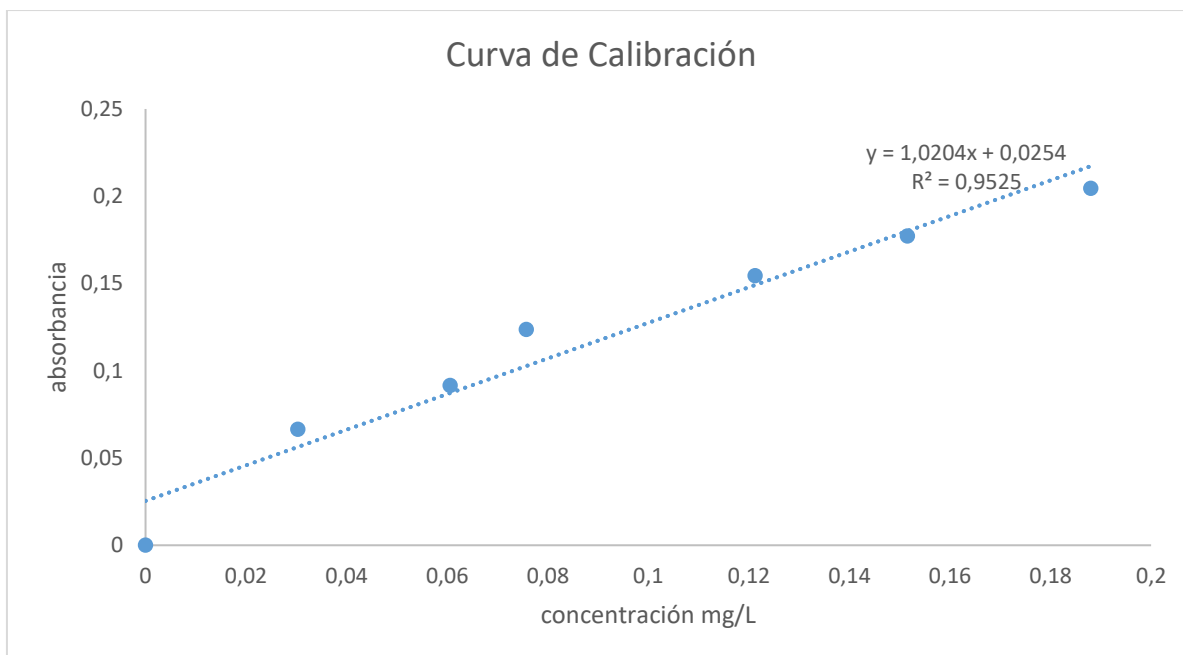


Imagen 11. Curva de calibración

Fuente: Autoras

4.3.3 Preparación DNS para las muestras hidrolizadas ácida y enzimáticamente

Una vez que se obtiene la gráfica, se procede a realizar una mezcla DNS para las muestras de hidrolizado obtenidas, para ello en un tubo de ensayo procedimos a colocar 1mL del hidrolizado, 1mL del preparado DNS y 2mL de agua destilada, y así con todas las muestras, las llevamos a una plancha calentadora y se calentó a baño María a unos 30°C por 10min, posteriormente, dejamos reposar y enfriar por otros 10min.

4.3.4 Cuantificación de glucosa con ayuda del espectrofotómetro UV visible

Las muestras fueron colocadas y corridas en el espectrofotómetro UV visible, obteniendo así la concentración de azúcares reductores en unidades de ppm, estas fueron transformadas a mg/l, la cantidad de azúcares presente en papel y aserrín equivale para 1g de la muestra

Las concentraciones que nos da el UV visible son pertenecientes a azúcares reductores, para determinar solo glucosa, realizamos el mismo procedimiento del punto 4.3.2 Grafica de la curva de calibración, pero esta vez con las muestras preparadas del hidrolizado con DNS (Ver punto 4.3.3 Preparación DNS para las muestras hidrolizadas ácida y enzimáticamente), de igual manera graficamos y encontramos la ecuación de la recta, despejamos “X”, siendo “Y” la absorbancia de la muestra dado por el espectro Uv visible y el resultado final es lo que se hace referencia a glucosa en mg/L para 1 g de muestra.

5 CAPÍTULO: RESULTADOS

5.1 Resultados del análisis proximal del papel reciclado

5.1.1. Determinación de tinta en papel

Con ayuda del colorímetro se determinó la concentración de tinta presente en 100g de papel de oficina, obteniendo los siguientes resultados, dispuestos en la tabla 17.

Tabla 17. Resultados obtenidos de la cantidad de tinta en papel

# Prueba	Agua con tinta (ml)	Agua destilada añadida (ml)	Tiempo (min)	Color (UPC)
0	10	10	30min	515
1	10	10	30min	564
2	10	10	30min	624
3	10	10	30min	784
4	10	10	30min	830
5	10	10	30min	864
6	10	10	30min	925
7	10	10	30min	966
8	10	10	30min	1010
9	10	10	30min	1010
10	10	10	30min	1010

Fuente: Autoras

Como se puede observar en la tabla 17, se midió en el colorímetro hasta concentración constante, la cual nos dio como resultado que en 100g de papel reciclado de oficina existen aproximadamente 1010 UPC de color.

5.1.2. Determinación de humedad en papel

Se realizaron 4 pruebas para determinar del porcentaje de humedad que contenía el papel de oficina reciclado, con ayuda de la Ec.1 se determinó que el porcentaje promedio es igual a 4.25% de humedad contenida en el papel, como se puede observar en la tabla 18

5.1.3. Determinación de pH en papel

Para determinar el pH del papel reciclado se procedió a realizar 4 lecturas, las cuales nos dieron un promedio del 7,2% de pH que presenta el papel reciclado tal y como se puede observar en la tabla 18

5.1.4. Determinación de celulosa en papel

Se determinó el porcentaje de celulosa con ayuda de la Ec 2, obteniendo un promedio de 80% de celulosa para el papel reciclado tal y como se muestra en la tabla 18.

Tabla 18. Resultados obtenidos del porcentaje de celulosa de papel

PARÁMETRO	VALOR	UNIDAD
<i>Tinta</i>	1010	%
<i>Humedad</i>	4.25	%
<i>Ph</i>	7.2	%
<i>Celulosa</i>	80	%

Fuente: Autoras

Como se puede observar en la tabla 18 se midió en el colorímetro el porcentaje de tinta obteniendo un valor de 1010UPC, es decir un porcentaje equivalente al papel que se usa después de ser imprimido y reciclado, la humedad del papel se obtuvo mediante la Ec 1 obteniendo un valor de 4,25 % dentro de los estándares de humedad que van de 4% a 6% según algunos fabricantes,

para el pH se utilizó el potenciómetro en el cual realizamos 4 lecturas obteniendo un promedio de 7,2 % es decir ligeramente alcalino y finalmente con ayuda de la Ec.2 se determinó el porcentaje de celulosa en papel obteniendo un valor de 80% muy significativo ya que el papel se fabrica directamente con pasta de celulosa pura.

5.2. Resultados del análisis proximal del aserrín

5.2.1. Determinación de humedad en aserrín

Para determinar el porcentaje de humedad se realizaron 4 pruebas usando la Ec 1, dándonos como resultado un promedio de 11.5% de humedad en aserrín, como se puede observar en la tabla 19.

5.2.2. Determinación de pH en aserrín

Para determinar el pH en el aserrín se procedió a realizar 4 lecturas, dándonos un promedio total de 5,7 de pH que presenta el aserrín, como se puede observar en la tabla 19.

5.2.3. Determinación de extraíbles en aserrín

Para la determinación de extraíbles se realizaron 4 pruebas y ejecutando la Ec 3, nos dio como resultado un promedio de 9% de extraíbles, como se puede observar en la tabla 19.

5.2.4. Determinación de lignina en aserrín

Ejecutando la Ec 4 determinamos el porcentaje de lignina contenido en el aserrín, dándonos un promedio de 25%, como se puede observar en la tabla 19.

5.2.5. Determinación de cenizas en aserrín

Se realizaron 4 pruebas y ejecutando la Ec 5 determinamos el porcentaje de cenizas totales, dándonos un promedio de 2%, como se puede observar en la tabla 19.

5.2.6. Determinación de celulosa en aserrín

Se realizaron 4 pruebas para determinar el porcentaje de celulosa y ejecutando la Ec 6, nos dio como resultado un promedio de 37,25% de celulosa presente en el aserrín, como se puede observar en la tabla 19.

Tabla 19. Resultados obtenidos del porcentaje de celulosa de aserrín

PARÁMETRO	VALOR	UNIDAD
<i>Humedad</i>	11.5	%
<i>Ph</i>	5,7	%
<i>Extraíbles</i>	9	%
<i>Lignina</i>	25	%
<i>Cenizas</i>	2	%
<i>Celulosa</i>	37,25	%

Fuente: Autoras

Como se puede observar en la tabla 19, en este caso para el aserrín se midió más parámetros que están relacionados con la composición de este, como se observa con ayuda de la Ec.1 se determinó el porcentaje de la humedad del aserrín, obteniendo un valor de 11,5 % dentro de los estándares de humedad aptos para aserrín que van de 10% a 15%, para el pH se utilizó el potenciómetro en el cual realizamos 4 lecturas obteniendo un promedio de 5,7% es decir ligeramente ácido, por otro lado, también se determinó el material extraíble con ayuda de la Ec.3, obteniendo un porcentaje de 9% es decir que su porcentaje de materiales orgánicos e inorgánicos no estructurales es bajo, el porcentaje de lignina se determinó mediante la Ec.4, obteniendo un porcentaje igual a 25% esto hace que el material no tenga afectación por algún tratamiento químico, ya que se encuentra en mayor porcentaje que por ejemplo un bagazo de caña o cascarilla de arroz; con ayuda de la Ec.5 se determinó el porcentaje de cenizas en aserrín, obteniendo un porcentaje de 2%, es decir que el contenido de sustancias inorgánicas es realmente bajo, finalmente tenemos el porcentaje de

celulosa en papel medido mediante la Ec.6, obteniendo un valor de 37.25% realmente un porcentaje bajo, considerando que para la madera se tiene alrededor de un 50%, sin embargo, hay que tener presente que, el aserrín es el residuo de la madera en el proceso de serrado, sumado a esto que existen partes del árbol donde existen menos y en otras más presencia de celulosa.

5.3. Resultados del FTIR de celulosa

El Análisis por espectroscopia infrarroja (FTIR) permitió caracterizar la estructura química de la muestra de celulosa mediante la identificación de los grupos funcionales presentes.

En la Figura 6 se puede apreciar el espectro infrarrojo de celulosa estándar que usaremos para hacer una comparación con los espectros obtenidos de nuestras muestras.

En la tabla 20 se puede observar las bandas de absorción características, la región de 1700 a 800 cm^{-1} están relacionadas con la estructura de celulosa (Lopez Martinez, 2018).

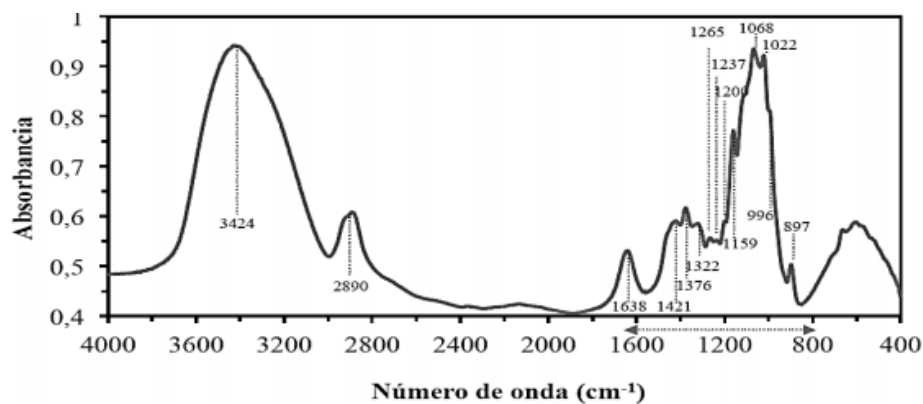


Figura 6. Espectro infrarrojo de celulosa estándar

Fuente: (Lopez Martinez, 2018)

Tabla 20. Bandas de absorción características de celulosa

NÚMERO DE ONDA (CM-1)	ASIGNACIÓN
3424	Tensión OH
2890	Tensión CH
1638	HOH agua absorbida
1421	Deformación CH2
1376	Flexión CH
1322	Aleteo CH2
1159	Tensión asimétrica COH
1068	Tensión CO
1022	Tensión COC

Fuente: (Lopez Martinez, 2018)

5.3.1. FTIR de celulosa en aserrín

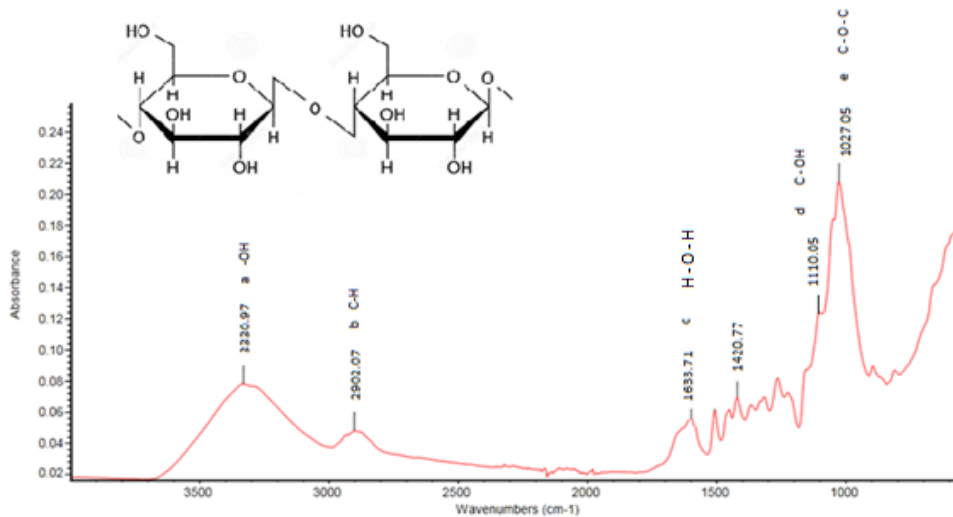


Figura 7. FTIR de la muestra de celulosa de aserrín

Fuente: Autoras

Se puede apreciar en la figura 7 una intensidad significativa en 3330.97 cm^{-1} esta es referente a la vibración por tensión y estiramiento del grupo hidroxilo $-\text{OH}$, el siguiente pico que se observa es a 2902.07 cm^{-1} característico del estiramiento del enlace C-H, el que le sigue es a 1633.71 cm^{-1} en este pico se observa la banda H-O-H en 1420.77 está la deformación CH_2 , posteriormente en el pico 1110.05 hay una tensión asimétrica y vibraciones del enlace C-OH así como en el pico 1027.05 vibraciones del enlace COC pertenecientes al anillo β -glucopiranososa.

5.3.2 Comparación de las curvas FTIR de celulosa estándar y celulosa en aserrín

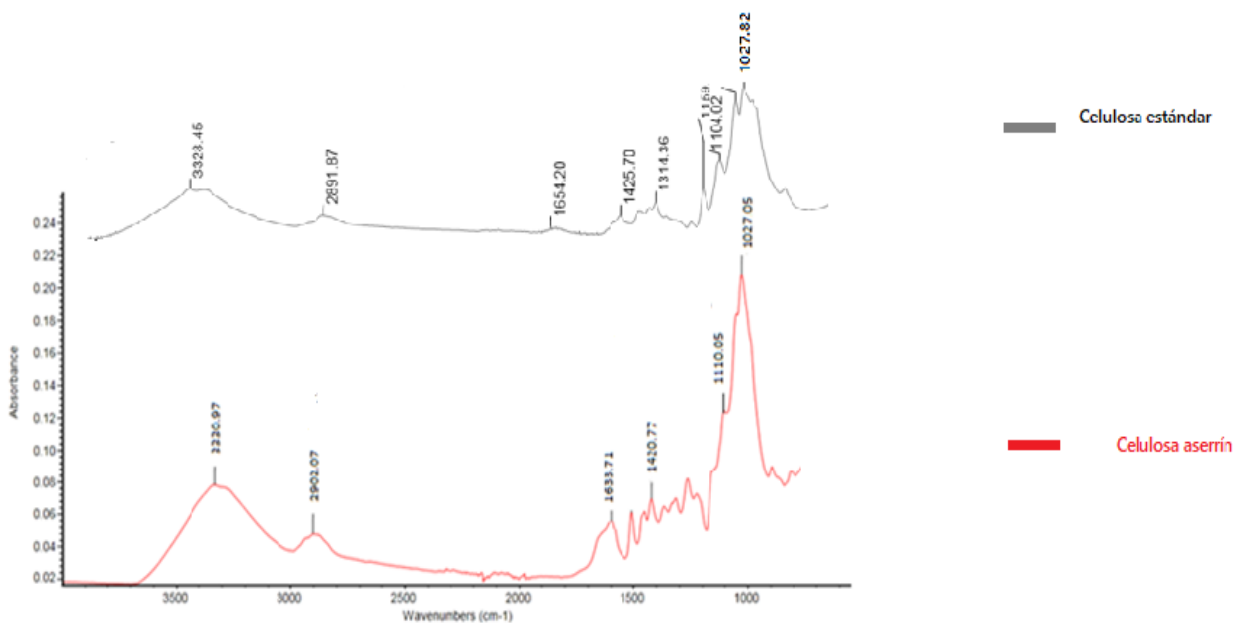


Figura 8. Comparación de curvas FTIR de celulosa estándar vs celulosa aserrín

Fuente: Autoras

En la figura 8. Se puede apreciar la curva FTIR de celulosa estándar y la curva FTIR de celulosa en aserrín, apreciando claramente como los picos de la última coinciden con la estándar, al igual que las intensidades son muy similares y se encuentran dentro de los rangos de concentración de celulosa y la similitud es del 80%.

5.3.3 FTIR de celulosa en papel

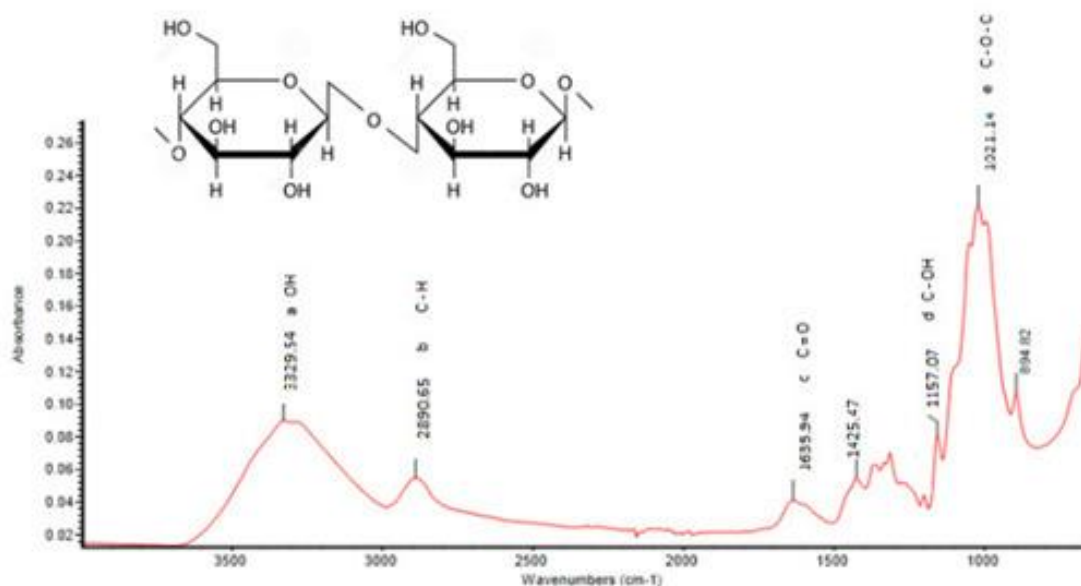


Figura 9. FTIR de celulosa en papel

Fuente: Autoras

Se puede apreciar en la figura 9 una intensidad significativa en 3329.54 cm⁻¹ esta es referente a la vibración por tensión y estiramiento del grupo hidroxilo –OH, el siguiente pico que se observa es a 2890.65 cm⁻¹ característico del estiramiento del enlace C-H, el que le sigue es a 1635.94 cm⁻¹ en este pico se observa la banda H-O-H agua absorbida, en 1425.47 está la deformación CH₂, posteriormente en el pico 1157.07 hay una tensión asimétrica y vibraciones del enlace C-OH así como en el pico 1021.14 vibraciones del enlace COC pertenecientes al anillo β-glucopiranososa.

5.3.4 Comparación de las curvas FTIR de celulosa estándar y celulosa en papel

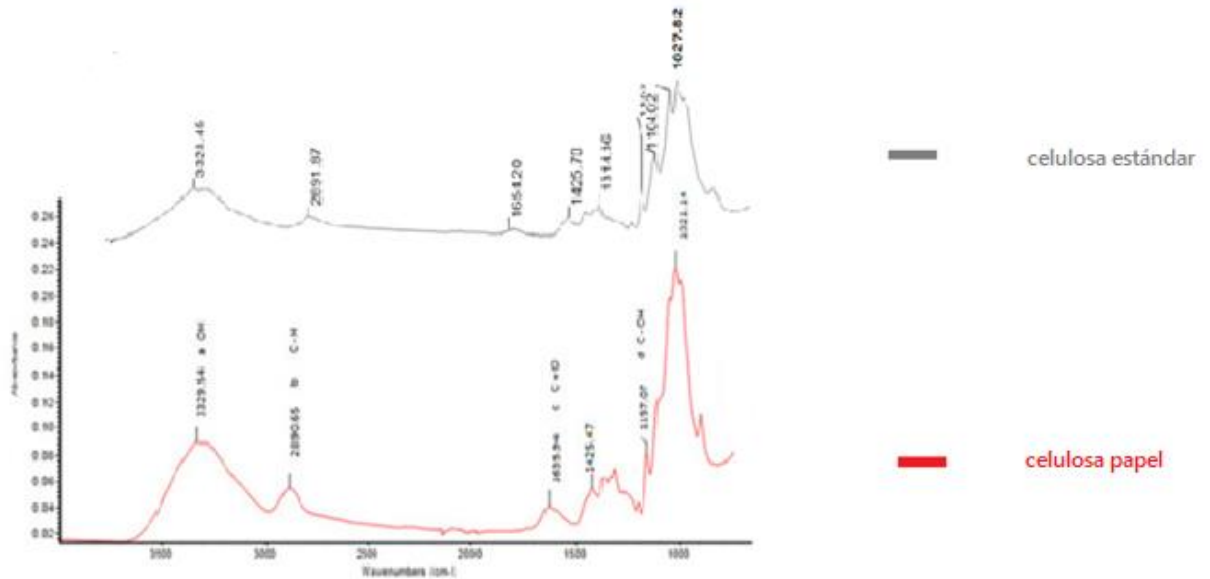


Figura 10. Comparación de curvas FTIR de celulosa estándar vs celulosa papel

Fuente: Autoras

En la figura 10. Se puede apreciar la curva FTIR de celulosa estándar y la curva FTIR de celulosa en aserrín, apreciando claramente como los picos de la última coinciden con la estándar, al igual que las intensidades son muy similares y se encuentran dentro de los rangos de concentración de celulosa y la similitud es del 90%.

5.4 Resultados de la hidrólisis ácida y enzimática

5.4.1 Hidrólisis ácida – Prueba Fehling

Una vez realizadas las pruebas correspondientes a hidrólisis ácida con ácido sulfúrico, se obtienen los resultados de la prueba fehling para determinar la presencia de azúcares reductores.

En este caso tuvimos resultados positivos comparándolo con el resultado de la muestra patrón el color rojo ladrillo es igual (Ver imagen 12b), así como negativos (Ver imagen 12a).

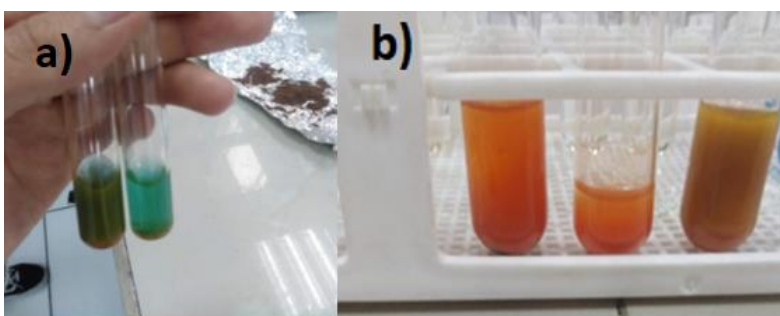


Imagen 12. Resultados de la prueba fehling: a) Prueba negativa b) Prueba positiva

Fuente: Autoras

En la imagen 12a, se puede observar los resultados de la prueba fehling, en este caso el resultado es negativo, es decir, no existe presencia de azúcares reductores, siendo el resultado de la izquierda del aserrín a 10min, 100°C y 60% H₂SO₄, y a la derecha del papel a 10min, 100°C y 60% H₂SO₄. Por otro lado, se observa en la imagen 12b, el resultado positivo, es decir, existe presencia de azúcares reductores de la prueba fehling siendo la de la izquierda el resultado del papel a 15min, 80°C y 50% H₂SO₄, el del medio es el resultado del papel a 15min, 100°C y 30% H₂SO₄, y a la derecha el resultado del aserrín a 15min, 70°C y 60% H₂SO₄. A continuación, los resultados de la hidrólisis ácida tanto del papel como de aserrín son comparados con la hidrólisis de la muestra estándar en este caso, almidón de yuca. (Ver tablas 21,22 y 23)

Tabla 21. Resultados obtenidos prueba de fehling concentración cte (60% H₂SO₄)

TIEMPO(MIN)	TEMPERATURA (°C)	PRUEBA FEHLING (POSITIVO/NEGATIVO)		
		Aserrín	Papel	Almidón de yucca (estándar)
10	100	Negativo	Negativo	Negativo
15	90	Negativo	Negativo	Positivo
20	80	Positivo	Positivo	Positivo
25	70	Negativo	Positivo	Positivo
30	60	Positivo	Positivo	Positivo
35	50	Positivo	Positivo	Positivo
40	40	Positivo	Positivo	Positivo
45	30	Positivo	Positivo	Positivo

Fuente: Autoras

En la tabla 21 se puede observar, la similitud de resultados en la prueba fehling, sin embargo, en el caso de la muestra estándar solo a temperatura de 100°C, un tiempo de reacción de 10min y con una concentración de H₂SO₄ al 60% el resultado fue negativo, es decir, no existió presencia de azúcares reductores, esto se debe a la alta concentración de ácido trabajando a altas temperaturas.

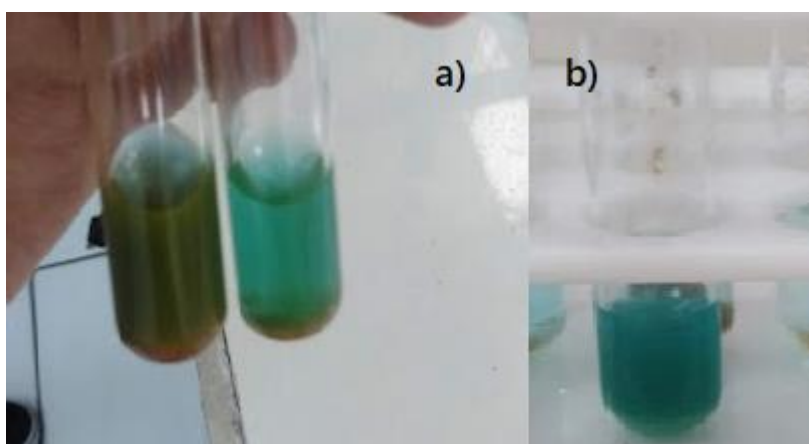


Imagen 13. Resultados de la prueba fehling: a) Prueba negativa papel y aserrín b) Prueba negativa muestra estándar de almidón de yucca

En la imagen 13 podemos observar claramente un ejemplo del resultado de la primera prueba fehling de la tabla 21, siendo así la imagen 13a el resultado negativo del proceso de hidrólisis ácida del papel y aserrín a condiciones de 60% de concentración de H₂SO₄, tiempo de reacción de 10min y temperatura a 100°C, por otro lado, en la imagen 13b se observa el resultado negativo de la prueba fehling con la muestra estándar (almidón de yuca) a las mismas condiciones.

Tabla 22. Resultados obtenidos prueba de fehling tiempo cte (15 min)

TEMPERATURA (°C)	H ₂ SO ₄ (%)	PRUEBA FEHLING (POSITIVO/NEGATIVO)		
		Aserrín	Papel	Almidón de yuca (estándar)
30	96	Positivo	Positivo	Positivo
40	90	Positivo	Positivo	Positivo
50	80	Positivo	Positivo	Positivo
60	70	Positivo	Positivo	Positivo
70	60	Positivo	Positivo	Positivo
80	50	Positivo	Positivo	Positivo
90	40	Positivo	Positivo	Positivo
100	30	Positivo	Positivo	Positivo

Fuente: Autoras

En la tabla 22 se puede observar, la similitud de resultados en la prueba fehling, tanto del aserrín y papel como de la muestra estándar, todas las pruebas realizadas a un tiempo constante de 15min, a concentraciones altas cuando se trabaja a temperaturas bajas, los resultados fueron positivos.

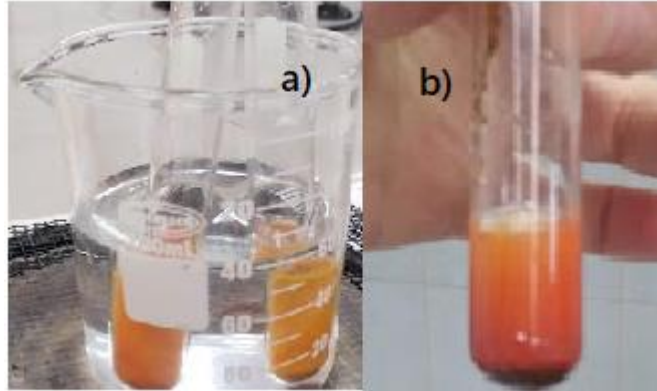


Imagen 14. Resultados de la prueba fehling: a) Prueba positiva papel y aserrín b) Prueba positiva muestra estándar de almidón de yuca

En la imagen 14 podemos observar claramente un ejemplo del resultado de la primera prueba fehling de la tabla 22, siendo así la imagen 14a el resultado positivo del proceso de hidrólisis ácida del papel y aserrín a condiciones de 96% de concentración de H₂SO₄, tiempo de reacción de 15min y temperatura a 30°C, por otro lado, en la imagen 14b se observa el resultado también positivo de la prueba fehling pero de la muestra estándar (almidón de yuca) a las mismas condiciones.

Tabla 23. Resultados obtenidos prueba de fehling temperatura cte(90°C)

TIEMPO (MIN)	H ₂ SO ₄ (%)	PRUEBA FEHLING (POSITIVO/NEGATIVO)		
		Aserrín	Papel	Almidón de yuca (estándar)
10	96	Positivo	Positivo	Positivo
15	90	Positivo	Positivo	Positivo
20	80	Positivo	Positivo	Positivo
25	70	Positivo	Positivo	Positivo
30	60	Positivo	Positivo	Positivo
35	50	Positivo	Positivo	Positivo
40	40	Positivo	Positivo	Positivo
45	30	Positivo	Positivo	Positivo

Fuente: Autoras

En la tabla 23 se puede observar, la similitud de resultados en la prueba fehling, tanto del aserrín y papel como de la muestra estándar, todas las pruebas realizadas a una temperatura constante de 90°C, a tiempos de reacción altos cuando se trabaja con concentraciones bajas, todos los resultados fueron positivos.

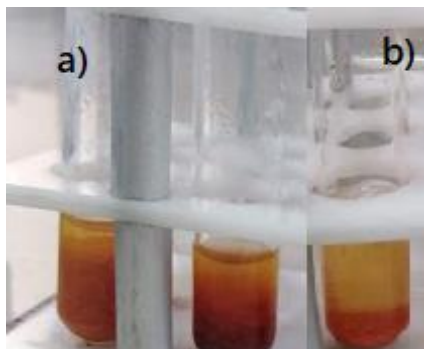


Imagen 15. Resultados de la prueba fehling: a) Prueba positiva papel y aserrín b) Prueba positiva muestra estándar de almidón de yuca

En la imagen 15 podemos observar claramente un ejemplo del resultado de la primera prueba fehling de la tabla 23, siendo así la imagen 15a el resultado positivo del proceso de hidrólisis ácida del papel y aserrín a condiciones de a 90°C, 96% de concentración de H₂SO₄, tiempo de reacción de 10min, por otro lado, en la imagen 15b se observa el resultado también positivo de la prueba fehling pero de la muestra estándar (almidón de yuca) a las mismas condiciones.

5.5 Hidrólisis enzimática – Prueba Fehling

Una vez realizadas las pruebas correspondientes a hidrólisis enzimática con ayuda de la enzima alpha celulosa, se obtienen los resultados de la prueba fehling para determinar la presencia de azúcares reductores, como se puede observar en la tabla 24.

Tabla 24. Resultados hidrólisis enzimática-prueba fehling

NÚMERO DE PRUEBA	TEMPERATURA (°C)	TIEMPO (H)	ENZIMA (UL)	PRUEBA FEHLING (POSITIVO/NEGATIVO)	
				Aserrín	Papel
1	50	72	315	Positivo	Positivo
2	50	96	315	Positivo	Positivo
3	45	72	315	Positivo	Positivo
4	55	72	400	Positivo	Positivo
5	45	96	400	Positivo	Positivo
6	50	48	400	Positivo	Positivo

Fuente: Autoras

Como se puede observar en la tabla 24 realizamos 6 pruebas de fehling tanto de papel como de aserrín, a diferente temperatura, tiempo, con una concentración constante de enzima, alcanzando resultados positivos en todas las pruebas, es decir que existió la presencia de azucars reductores en todas ellas.

5.6 Resultados FTIR de glucosa obtenida en las hidrólisis ácida y enzimática

Glucosa estándar

En su espectro de infrarrojo las bandas en 3400 y 1650 cm^{-1} vienen de la molécula del agua, mientras que las bandas a la derecha del espectro están asociadas con las moléculas de los azucars presentes, incluyendo la banda intensa que aparece a 1050 cm^{-1} para glucosa (Ver figura 11) (Cortez Mondragón, 2017).

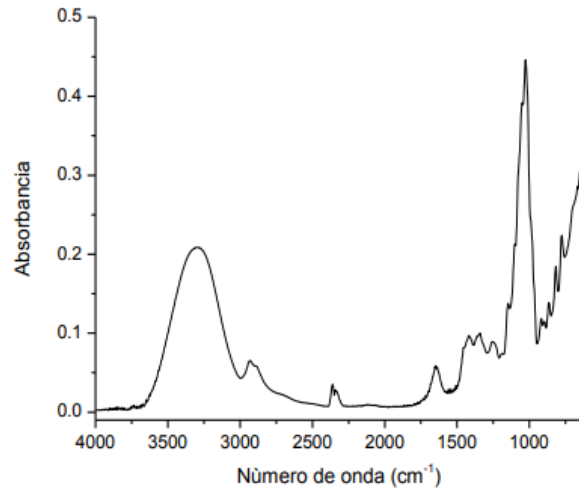


Figura 11. FTIR glucosa obtenida hidrólisis ácida y enzimática
Fuente: (Cortez Mondragón, 2017)

5.6.1 FTIR de glucosa obtenido por hidrólisis ácida del papel

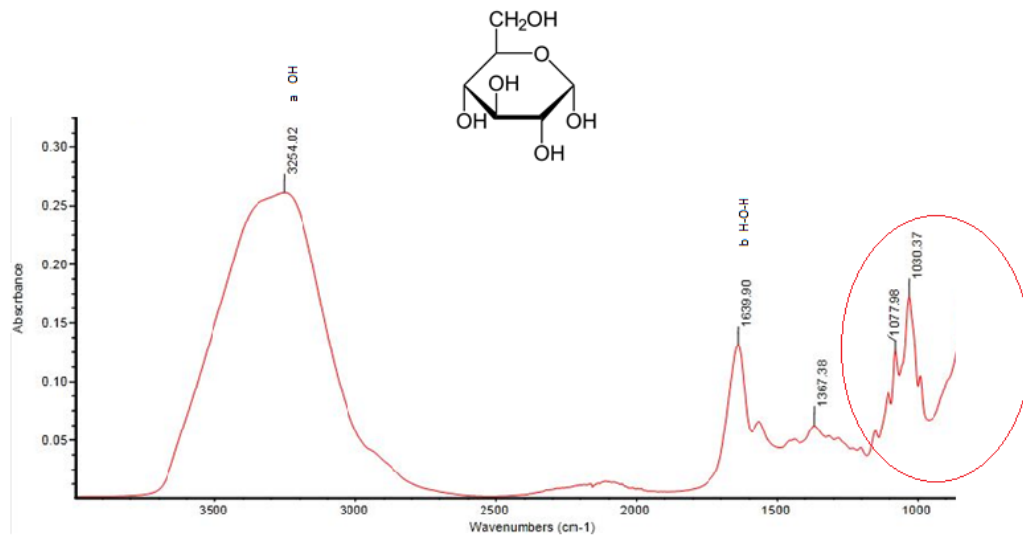


Figura 12. FTIR glucosa obtenida por hidrólisis ácida del papel

Fuente: Autoras

Se puede observar en la figura 12 un pico intenso en 3254.02cm^{-1} , este hace referencia al grupo hidroxilo OH, es decir presencia de agua, el pico que se observa en 1636.90cm^{-1} proviene del enlace H-O-H que es el agua absorbida. Entre 1400 y 1200 cm^{-1} se distinguen los picos de

absorción. El pico que se ubica en 1367.38cm^{-1} hace referencia al movimiento de flexión CH, el pico alrededor de 1200cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento del enlace CO en el grupo COH y al estiramiento del enlace C-C en la estructura de fructuosa y glucosa, el pico más intenso ubicado en 1030.37cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento del enlace C-O en el grupo C-OH y al estiramiento del enlace C-C en la estructura de glucosa.

5.6.2 Comparación de curvas FTIR de glucosa estándar y glucosa obtenida por hidrólisis ácida del papel

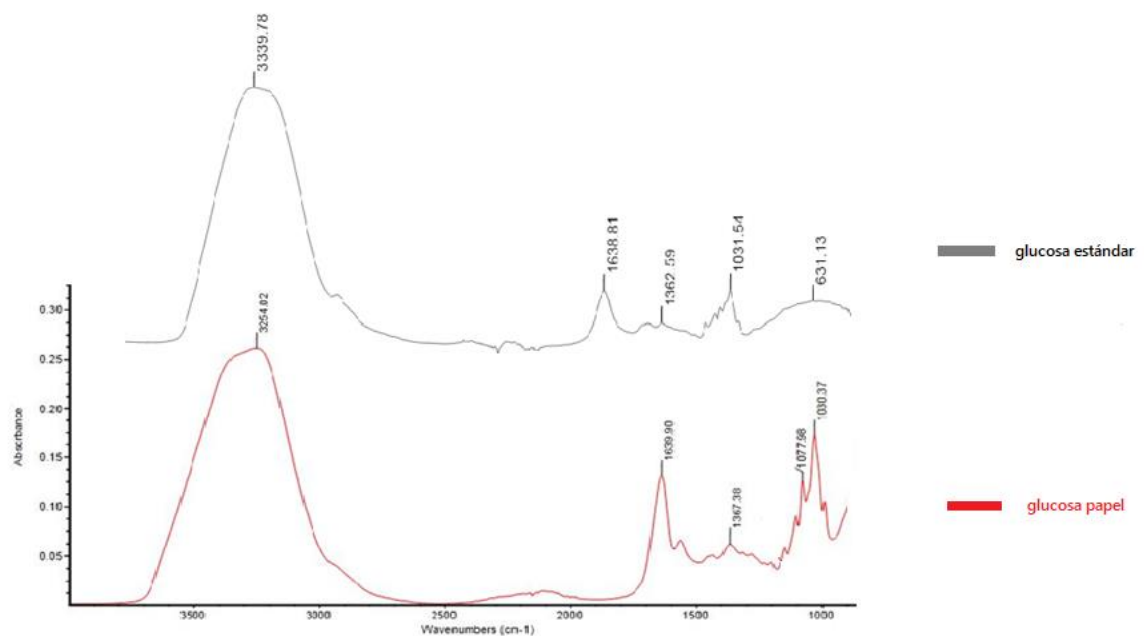


Figura 13. Comparación de curvas FTIR de glucosa estándar vs glucosa obtenida por hidrólisis ácida del papel

Fuente: Autoras

En la figura 13, se puede apreciar la curva FTIR de glucosa estándar y la curva FTIR de glucosa obtenida por la hidrólisis ácida del papel, apreciando claramente como los picos de las dos curvas se parecen significativamente, al igual que las intensidades son muy similares y se encuentran dentro de los rangos de concentración de glucosa y la similitud es del 80.25%.

5.6.3 FTIR de glucosa obtenida por hidrolisis ácida del aserrín

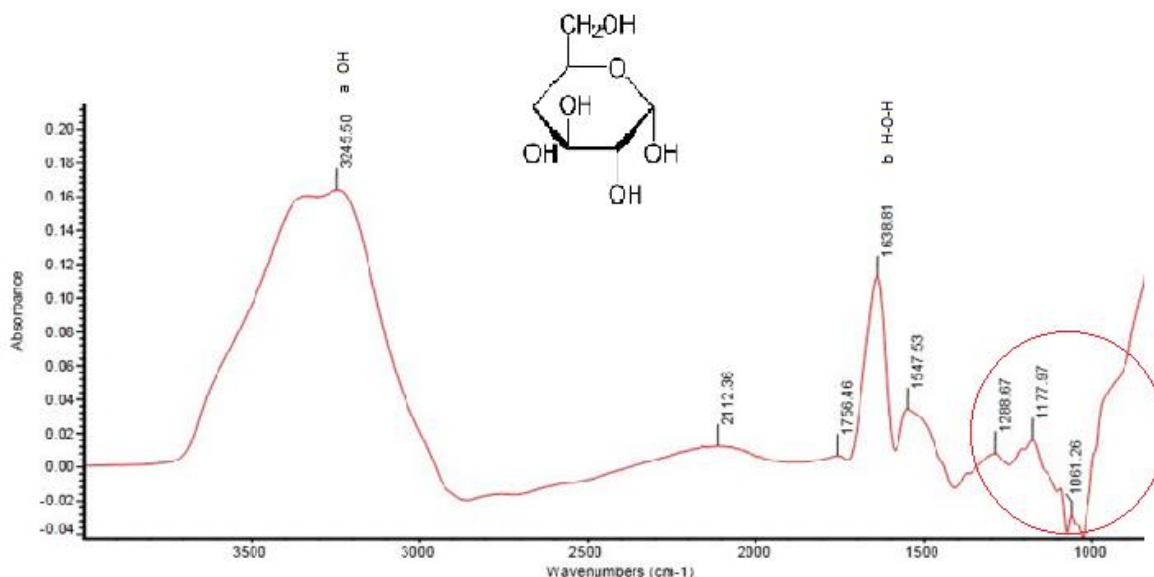


Figura 14. FTIR glucosa obtenida hidrólisis ácida del aserrín

Fuente: Autoras

Se puede observar en la figura 14 un pico intenso en 3245.50cm⁻¹, este hace referencia al grupo hidroxilo OH, es decir presencia de agua, el pico que se observa en1638.81cm⁻¹ proviene del enlace H-O-H que es el agua absorbida. Entre 1400 y 1200 cm⁻¹ se distinguen los picos de absorción, el pico alrededor de 1288.67cm⁻¹ corresponde a la vibración de estiramiento del enlace CO en el grupo COH y al estiramiento del enlace C-C en la estructura de fructuosa y glucosa, el pico ubicado en 1051.26cm⁻¹ corresponde a la vibración de estiramiento del enlace C-O en el grupo C-OH y al estiramiento del enlace C-C en la estructura de glucosa.

5.6.4 Comparación de curvas FTIR de glucosa estándar y glucosa obtenida por hidrólisis ácida del aserrín

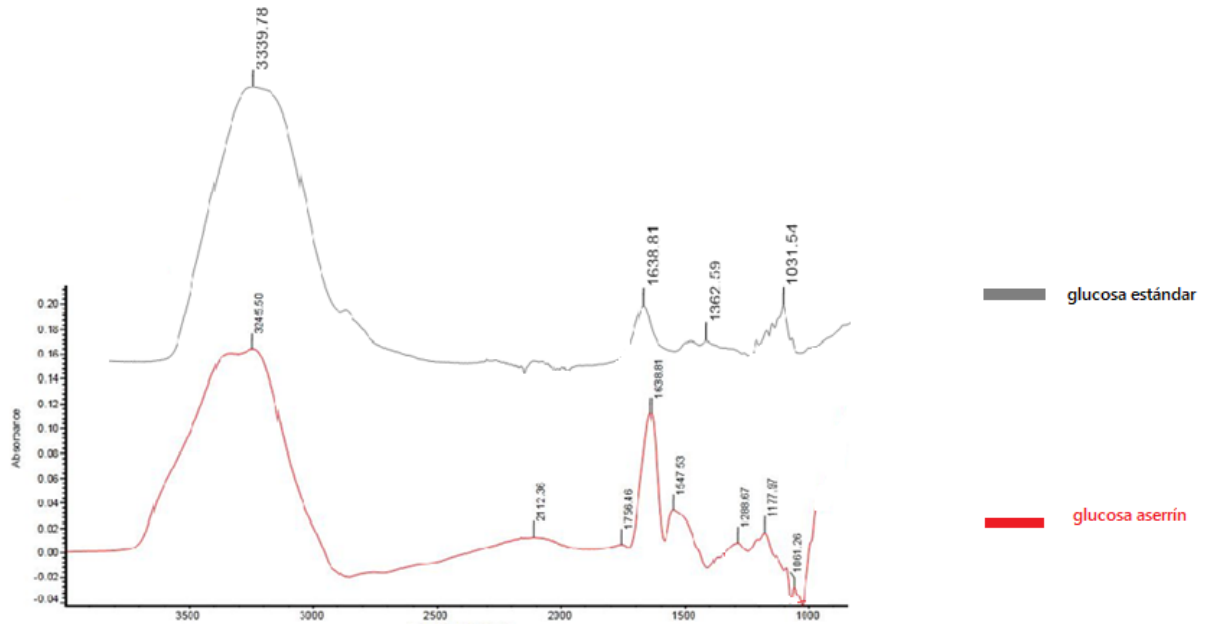


Figura 15. Comparación de curvas FTIR de glucosa estándar vs glucosa obtenida por hidrólisis ácida del aserrín

Fuente: Autoras

En la figura 15, se puede apreciar la curva FTIR de glucosa estándar y la curva FTIR de glucosa obtenida por la hidrólisis ácida del aserrín, apreciando claramente como los picos de las dos curvas se parecen significativamente, al igual que las intensidades son muy similares y se encuentran dentro de los rangos de concentración de glucosa y la similitud es del 60%.

5.6.5 FTIR de glucosa obtenida por hidrólisis enzimática del papel

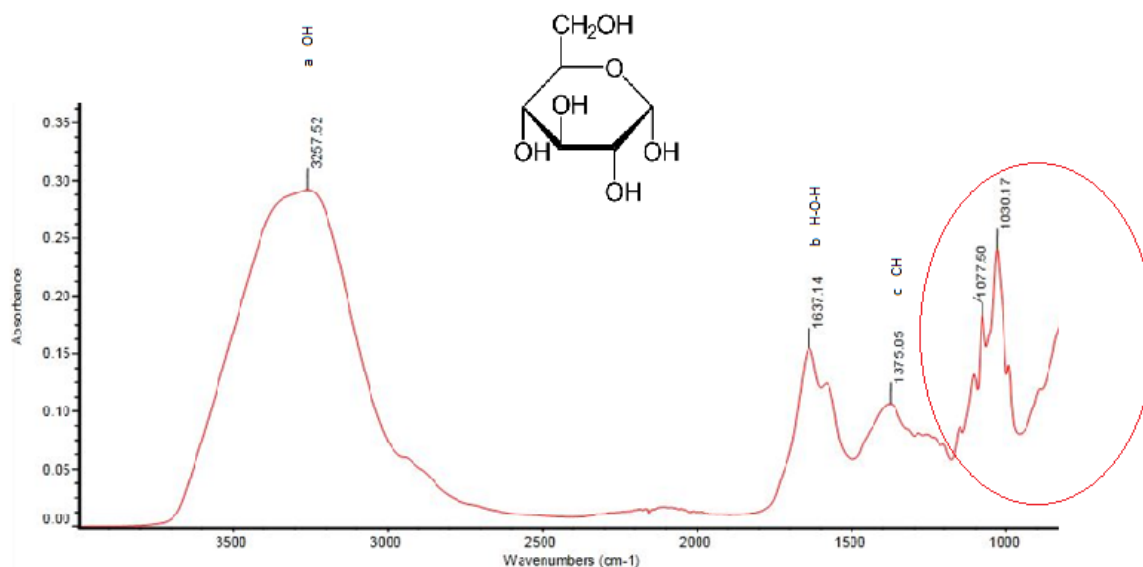


Figura 16. FTIR glucosa obtenida hidrólisis enzimática del papel

Fuente: Autoras

Se puede observar en la figura 16 un pico intenso en 3257.52cm⁻¹, este hace referencia al grupo hidroxilo OH, es decir presencia de agua, el pico que se observa en 1637.14cm⁻¹ proviene del enlace H-O-H que es el agua absorbida. Entre 1400 y 1200 cm⁻¹ se distinguen los picos de absorción. El pico que se ubica en 1375.05cm⁻¹ hace referencia al movimiento de flexión CH, el pico alrededor de 1200cm⁻¹ corresponde a la vibración de estiramiento del enlace CO en el grupo COH y al estiramiento del enlace C-C en la estructura de fructuosa y glucosa, el pico intenso ubicado en 1077.50 y 1030.17cm⁻¹ corresponde a la vibración de estiramiento del enlace C-O en el grupo C-OH y al estiramiento del enlace C-C en la estructura de glucosa.

5.6.7 FTIR de glucosa obtenida por hidrólisis enzimática del aserrín

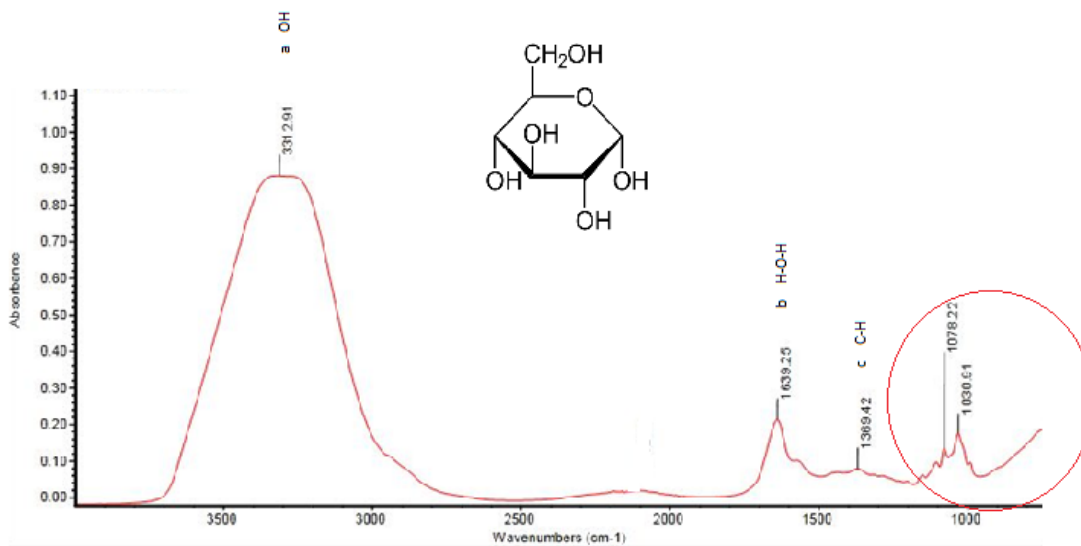


Figura 18. FTIR glucosa obtenida hidrólisis enzimática del aserrín

Fuente: Autoras

Se puede observar en la figura 18 un pico intenso en 3312.91cm⁻¹, este hace referencia al grupo hidroxilo OH, es decir presencia de agua, el pico que se observa en 1639.25cm⁻¹ proviene del enlace H-O-H que es el agua absorbida. Entre 1400 y 1200 cm⁻¹ se distinguen los picos de absorción. El pico que se ubica en 1369.42cm⁻¹ hace referencia al movimiento de flexión CH, el pico alrededor de 1200cm⁻¹ corresponde a la vibración de estiramiento del enlace CO en el grupo COH y al estiramiento del enlace C-C en la estructura de fructuosa y glucosa, el pico intenso ubicado en 1078.22 y 1030.01cm⁻¹ corresponde a la vibración de estiramiento del enlace C-O en el grupo C-OH y al estiramiento del enlace C-C en la estructura de glucosa.

5.6.8 Comparación de curvas FTIR de glucosa estándar y glucosa obtenida por hidrólisis enzimática del aserrín

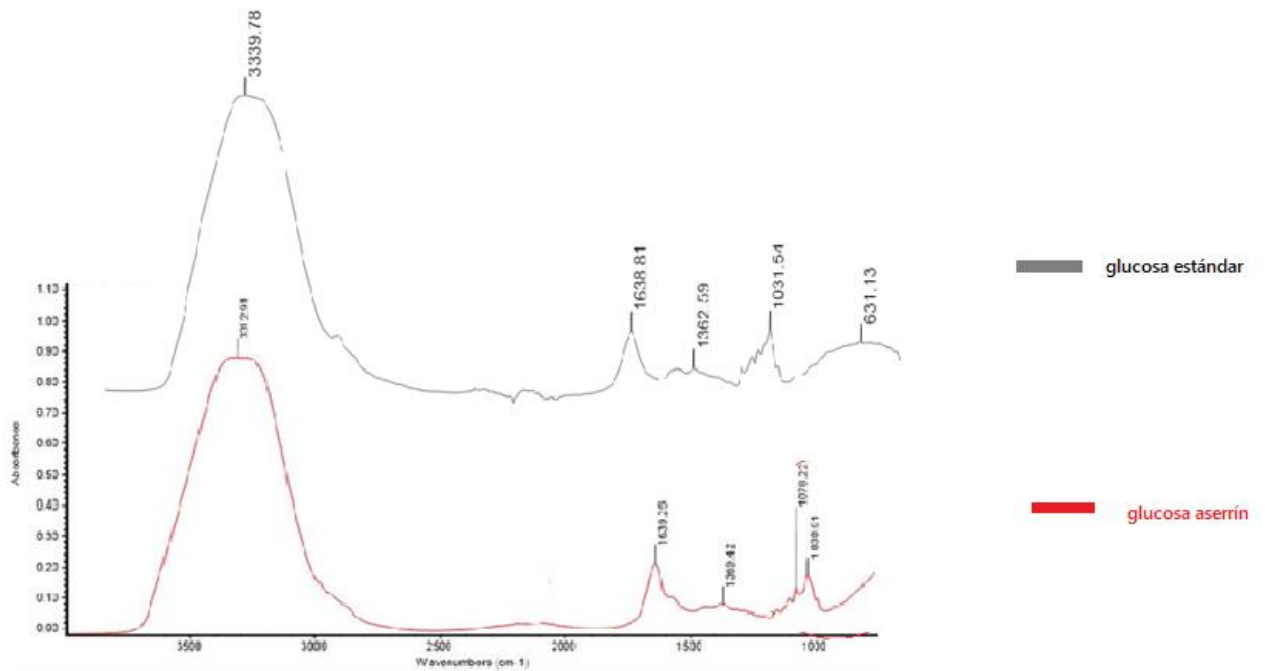


Figura 19. Comparación de curvas FTIR de glucosa estándar vs glucosa obtenida por hidrólisis enzimática del aserrín

Fuente: Autoras

En la figura 19. se puede apreciar la curva FTIR de glucosa estándar y la curva FTIR de glucosa obtenida por la hidrólisis enzimática del aserrín, apreciando claramente como los picos de las dos curvas se parecen significativamente, al igual que las intensidades son muy similares y se encuentran dentro de los rangos de concentración de glucosa y la similitud es del 70%.

5.7 Resultados de la cuantificación de glucosa a partir del reactivo DNS y su curva de calibración, con ayuda del espectrofotómetro UV visible.

5.7.1 Cuantificación de glucosa por Hidrólisis ácida

Tabla 25. Resultados obtenidos concentración cte(60% H2SO4)

TIEMPO(MIN)	•C	CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA (mg/l)	
		Aserrín	Papel
10	100	0,000	0,000
15	90	0,000	0,000
20	80	0,000	0,095
25	70	0,038	0,098
30	60	0,039	0,102
35	50	0,040	0,103
40	40	0,040	0,104
45	30	0,040	0,104

Fuente: Autoras

En la tabla 25 se puede observar que, en el proceso de hidrólisis ácida para papel y aserrín con un 60% de concentración de H2SO4, a una temperatura de 100°C y un tiempo de reacción de 10min, así como con un 60% de concentración de H2SO4, a una temperatura de 90°C y un tiempo de reacción de 15min, y solo para aserrín a una concentración de 60% de H2SO4, a una temperatura de 80°C y un tiempo de reacción de 15min no se obtiene concentraciones de glucosa ya que en la prueba fehling (Ver tabla 21) no se obtuvo presencia de azúcares reductores a estas condiciones, esto se puede deber a que, el ácido sulfúrico trabaja efectivamente a altas concentraciones y bajas temperaturas pero no a temperaturas elevadas teniendo concentraciones altas como en este caso, y mucho menos en el aserrín que se tiene baja concentración de celulosa.

Por otro lado, se puede observar una menor concentración de glucosa en aserrín, siendo la mayor concentración igual a 0.040mg/L, a comparación del papel cuya concentración mayor fue 0.104mg/, es decir, una diferencia del 0.064mg/L. Esto se debe a que el aserrín está compuesto por

lignina, hemicelulosa y celulosa, en este caso se determinó solo la glucosa del 37.25% perteneciente a celulosa en aserrín (Ver tabla 19), por lo tanto, la lignina que está presente en el aserrín dificulta la actividad del ácido sobre la celulosa, dando como resultado una conversión muy pobre o mínima de celulosa a glucosa. Sin embargo, esto no sucede con el papel, que en su tratamiento de conversión de madera a pulpa de celulosa se le elimina por completo lignina y hemicelulosa.

Tabla 26. Resultados obtenidos tiempo cte(15 min)

°C	% H ₂ SO ₄	CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA (mg/l)	
		Aserrín	Papel
30	96	0,032	0,099
40	90	0,030	0,098
50	80	0,033	0,102
60	70	0,035	0,109
70	60	0,037	0,115
80	50	0,039	0,118
90	40	0,041	0,120
100	30	0,043	0,120

Fuente: Autoras

Como se puede observar en la tabla 26, se obtiene mayor concentración de glucosa en papel, a concentración y temperatura variable y tiempo constante de 15 minutos, obteniendo la concentración más alta de 0.120mg/L, a comparación del aserrín cuya concentración más alta fue del 0.043mg/L. De igual manera se recalca que, esto se debe a que el aserrín está compuesto por lignina, hemicelulosa y celulosa, por lo tanto, la lignina que está presente en el aserrín dificulta la actividad del ácido sobre la celulosa, dando como resultado una conversión muy pobre o mínima de celulosa a glucosa.

Tabla 27. Resultados obtenidos temperatura cte(90°C)

TIEMPO (MIN)	% H₂SO₄	CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA (mg/l)	
		Aserrín	Papel
10	96	0,033	0,098
15	90	0,035	0,106
20	80	0,036	0,110
25	70	0,035	0,113
30	60	0,035	0,116
35	50	0,036	0,116
40	40	0,036	0,120
45	30	0,036	0,123

Fuente: Autoras

Como se puede observar en la tabla 27, se obtiene mayor concentración de glucosa en papel, a concentración y tiempo variable y temperatura constante de 90°C, obteniendo así una concentración mayor de 0.123mg/L al contrario del aserrín que se obtuvo una concentración mayor igual a 0.036mg/L. De igual manera esto se debe a lo anteriormente mencionado en las tablas 25 y 26.

5.7.2 Cuantificación de glucosa por Hidrólisis enzimática

Para la cuantificación de glucosa obtenida después de una hidrólisis enzimática y prueba DNS se obtuvo los siguientes promedios.

Tabla 28. Resultados obtenidos cuantificación de glucosa hidrólisis enzimática

NÚMERO DE PRUEBA	TEMPERATURA (°C)	TIEMPO (H)	ENZIMA (UL)	CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA (MG/L)	
				Aserrín	Papel
1	50	72	315	0.048	0.138
2	50	96	315	0.058	0.156
3	45	72	315	0.054	0.149
4	55	72	400	0.057	0.155
5	45	96	400	0.049	0.110
6	50	48	400	0.055	0.146

Fuente: Autoras

En la tabla 28 se puede observar que la concentración de la enzima alpha celulosa no influye en la concentración de glucosa obtenida, por otro lado, se aprecia significativamente que las concentraciones de glucosa son más altas en papel que en aserrín.

5.8 Análisis estadístico de la cuantificación de glucosa de acuerdo a los factores temperatura, tiempo y concentración de H₂SO₄

El análisis estadístico se lo realizó con la ayuda del software MiniTab considerando las variables de temperatura, tiempo de acción y el % de concentración de H₂SO₄, así como la concentración de la enzima celulosa ultra 10, a través de los procesos de hidrólisis ácida y enzimática tanto del papel y aserrín.

5.8.1 ANOVA de dos factores: Interacción de la Temperatura vs Tipo de Material, % de Glucosa en Hidrólisis Ácida

Para el análisis Anova se propuso las siguientes hipótesis.

- **Hipótesis nula:** No existe interacción de los niveles de Temperatura sobre la glucosa obtenida
- **Hipótesis alternativa:** Existe interacción de los niveles de Temperatura sobre la glucosa obtenida.

Tabla 29. Datos hidrólisis ácida temperatura vs tipo de material, % de glucosa

Nivel de significancia	$\alpha = 0,05$				
Factores	2	Papel – Aserrín			
	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Material	2	0,001462	0,000106	0,09	0,936
Glucosa	7	0,001442	0,000206	0,09	0,998
Error	2	0,018273	0,002284		
Total	11	0,019715			
	$S=0,0477$	$R\text{-cuad.} = 92,66 \%$	$R\text{-cuad. (ajustado)}= 82,40 \%$		

Fuente: Autoras

*GL Total: está determinado por el número de observaciones en la muestra – 1.

*SC Ajust: Las sumas ajustadas de los cuadrados.

*MC Ajust: Los cuadrados medios ajustados consideran los grados de libertad, estos miden que tanta variación explica un modelo.

*Valor F: Es el estadístico de prueba usado para determinar si un grupo de términos está asociado con la respuesta.

*Valor p: Es una probabilidad que mide la evidencia en contra de la hipótesis nula. Las probabilidades más bajas proporcionan una evidencia más fuerte en contra de la hipótesis nula.

*Si el valor p, es menor que α , se concluye a favor de la prueba de hipótesis alternativa y si es mayor que α se concluye a favor de la hipótesis nula.

Como se puede observar en la tabla 29, el valor p obtenido es igual a 0,99 es decir mayor al nivel de significancia que es 0,05 por lo tanto, se acepta la hipótesis nula que nos dice que, no existe interacción de la temperatura en los procesos de hidrolisis ácida, es decir que la temperatura no es un factor de influencia que determine la cantidad de glucosa en el papel y aserrín.

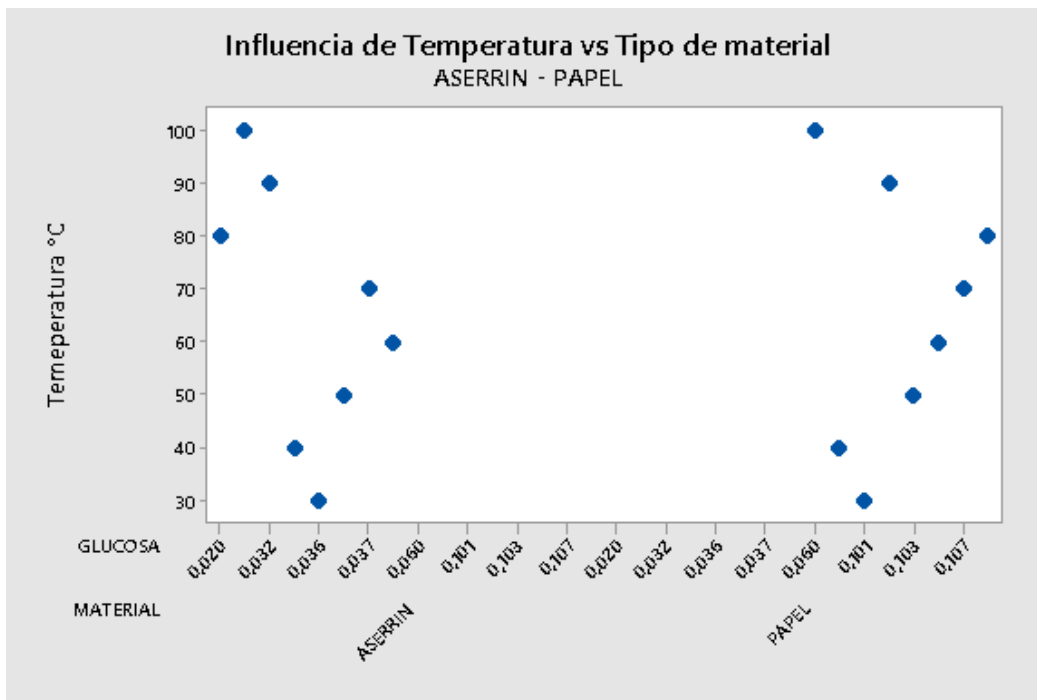


Figura 20. Influencia de Temperatura vs tipo de material (aserrín-papel)

Fuente: Autoras

Se puede observar en la figura 20 claramente que, tanto para el aserrín como para el papel, a altas temperaturas existe concentraciones altas de glucosa y a bajas temperaturas se tiene concentraciones bajas de glucosa, sin embargo, también se tiene que a altas temperaturas existen concentraciones bajas de glucosa y al contrario también, por lo que se demuestra que la temperatura no influye directamente en las concentraciones de glucosa. Por otro lado, también se puede observar que, existe mayor concentración de glucosa en papel que en aserrín, esto se debe a que en el primero se obtuvo mayor porcentaje de celulosa a comparación del aserrín.

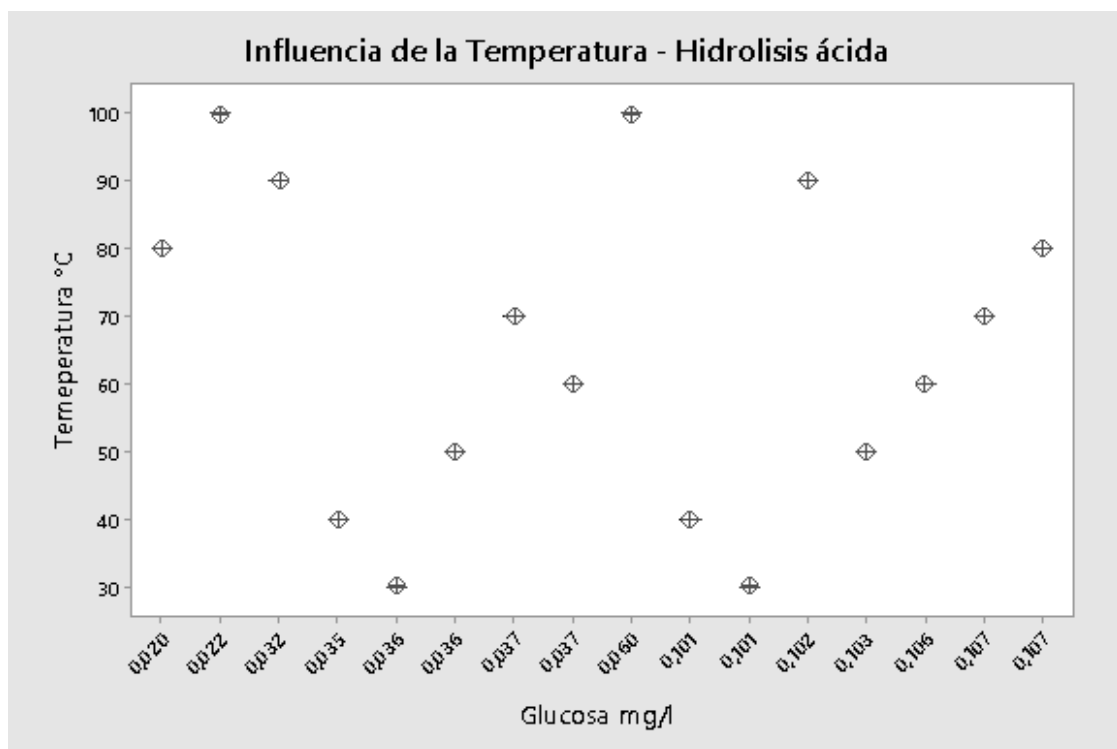


Figura 21. Influencia de Temperatura hidrólisis ácida

Fuente: Autoras

Por este lado se puede apreciar de manera más clara en la figura 21 que, independientemente del tipo de material y la concentración de ácido, la temperatura no es un factor que influya en el proceso de hidrólisis ácida para obtener glucosa, ya que se observa como a temperaturas altas y

bajas, se obtienen concentraciones tanto altas como bajas . Por ejemplo, a una temperatura de 90°C, se obtuvo una menor concentración promedio de glucosa igual a 0.032mg/L pero también una concentración promedio mayor igual a 0.102mg/L. Y, a una temperatura menor de 30°C, se obtuvo una concentración promedio de glucosa menor igual a 0.036mg/L, así como una concentración promedio mayor de 0.101mg/L.

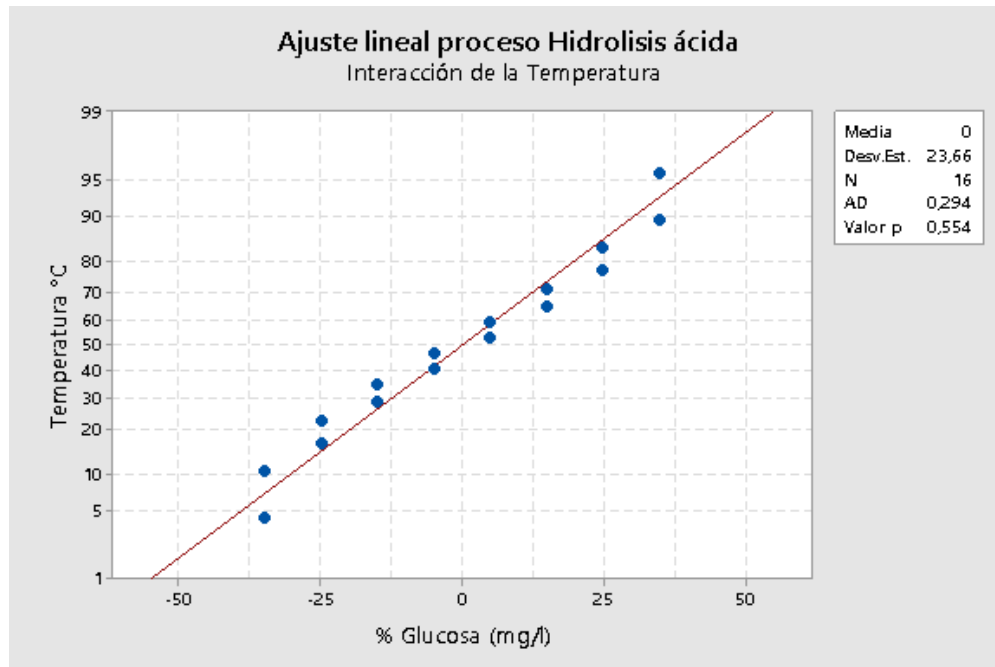


Figura 22. Ajuste lineal proceso hidrólisis ácida

Fuente: Autoras

En la figura 22, podemos concluir que el porcentaje de rendimiento de la glucosa en el proceso de hidrólisis ácida aumenta al aumentar la temperatura, independientemente de los factores tales como: tiempo de reacción, concentración de H₂SO₄, el ajuste lineal que se observa en la figura 21 determina que la concentración del H₂SO₄ en función de la temperatura es un factor favorable para la producción de glucosa.

5.8.2 ANOVA de dos factores: Interacción de la Temperatura vs Tipo de Material, % de Glucosa en Hidrólisis Enzimática.

- **Hipótesis nula:** No existe interacción de los niveles de Temperatura sobre la glucosa obtenida
- **Hipótesis alternativa:** Existe interacción de los niveles de Temperatura sobre la glucosa obtenida.

Tabla 30. Datos hidrólisis enzimática temperatura vs tipo de material, % glucosa

Nivel de significancia	$\alpha = 0,05$				
	Factores		Papel – Aserrín		
	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Material	2	0,000232	0,000116	2,10	0,323
Glucosa	1	0,012058	0,012058	218,34	0,005
Error	2	0,000110	0,000055		
Total	5	0,012400			
$S=0,0477$		$R\text{-cuad.} = 92,66 \%$		$R\text{-cuad. (ajustado)}= 82,40 \%$	

Fuente: Autoras

Como se puede observar en la tabla 30, es lo mismo que con la hidrólisis ácida, el valor p es igual a $0.323 > 0.05$ que es el valor de significancia, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula, es decir, en el proceso de hidrólisis enzimática tampoco interacciona la temperatura, no es un factor de influencia para la obtención de concentración de glucosa.

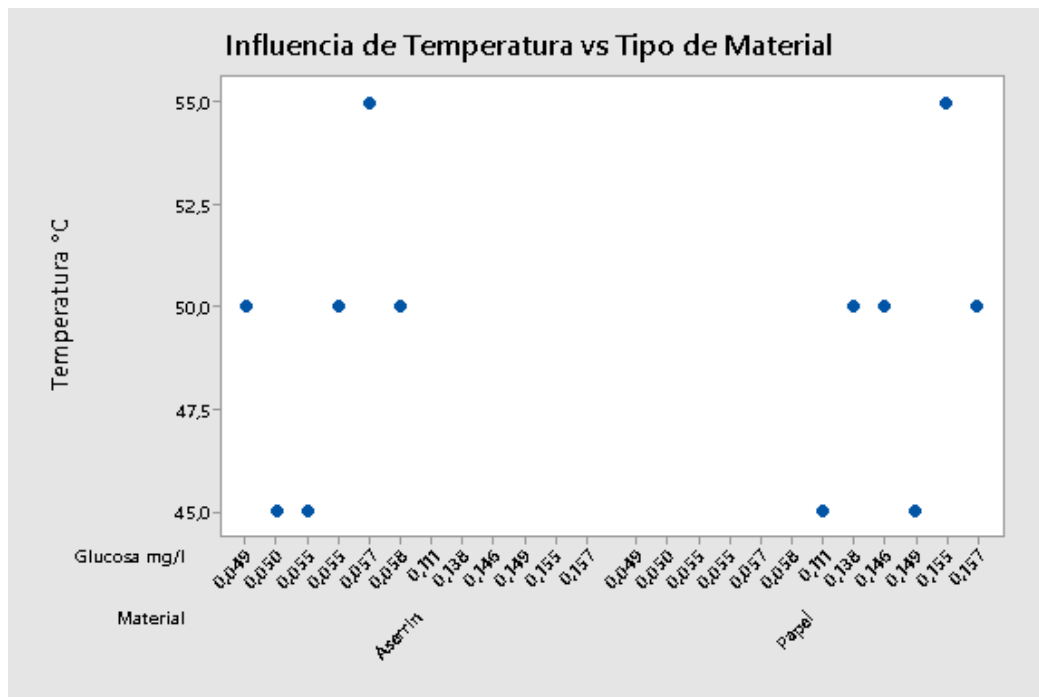


Figura 23. Influencia de temperatura Vs. Tipo de Material

Fuente: Autoras

Como se puede observar en la figura 23, tanto para aserrín como para papel, a altas y bajas temperaturas existe mayor y menor concentración de glucosa. Por ejemplo, a temperaturas de 50°C para papel se tiene una baja concentración de glucosa igual a 0.138mg/L y una mas alta concentracion de 0.157mg/L, sin embargo no es una diferencia significativa, pero, por otro lado a la misma temperatura de 50°C para aserrín se tienen una baja concentración de 0.049mg/L y una mas alta de 0.058mg/L.

En los dos procesos de hidrolisis tanto acida y enzimática no hay una interacción significativa de la temperatura, sin embargo, en ambos procesos se obtiene mayor cantidad de glucosa en el papel.

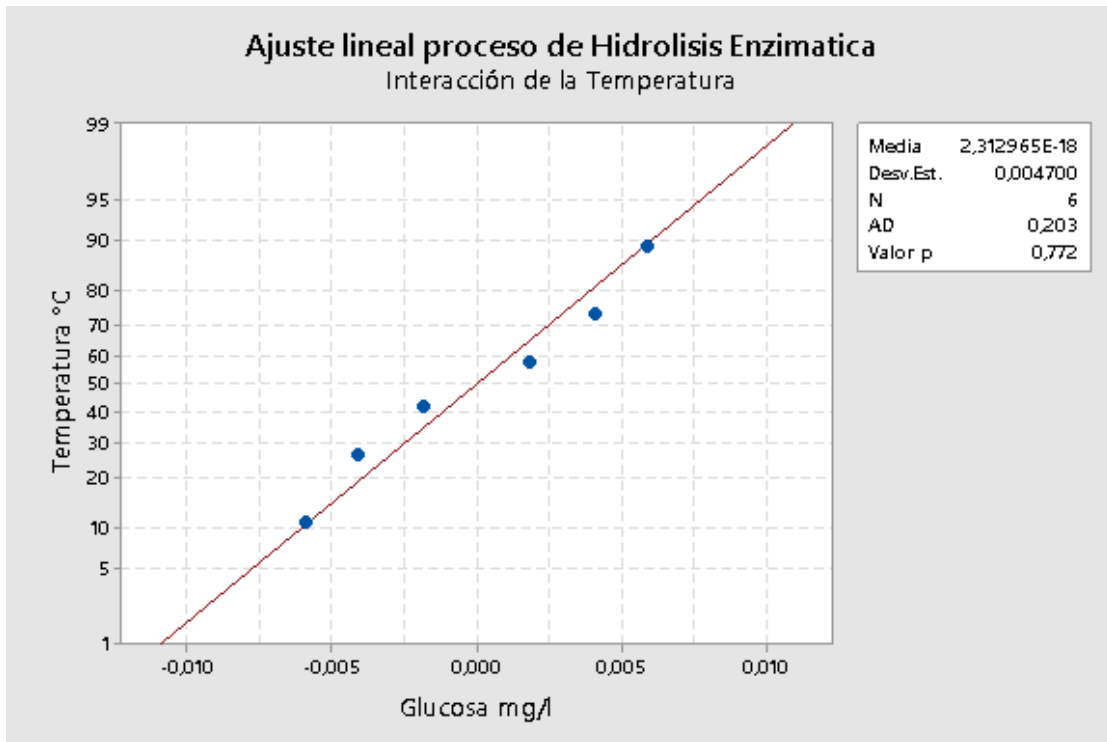


Figura 24. Ajuste lineal proceso hidrólisis enzimática

Fuente: Autoras

En la figura 24, podemos concluir que el porcentaje de rendimiento de la glucosa en el proceso de hidrólisis enzimática aumenta al aumentar la temperatura, independientemente de los factores tales como: tiempo de reacción, concentración de H₂SO₄, el ajuste lineal que se observa en la figura 23 determina que la concentración del H₂SO₄ en función de la temperatura es un factor favorable para la producción de glucosa.

5.8.3 ANOVA de dos factores: Interacción del Tiempo vs Tipo de Material, % de Glucosa.

- **Hipótesis nula:** no existe interacción del tiempo de disolución.
- **Hipótesis alternativa:** si existe interacción del tiempo de disolución.

Tabla 31. Datos de tiempo vs tipo de material, % glucosa

TABLA DE DATOS HIDROLISIS ACIDA
Tiempo vs Tipo de Material, % de Glucosa.

<i>Nivel de significancia</i>	$\alpha = 0,05$				
<i>Factores</i>	2	Papel – Aserrín			
	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
<i>HIDROLISIS</i>	1	0,004600	0,004600	21,64	0,000
<i>MATERIAL</i>	1	0,026785	0,026785	126,02	0,000
<i>Hidrólisis*Material</i>	1	0,000443	0,000443	2,09	0,166
<i>Error</i>	18	0,003826	0,000213		
<i>Total</i>	21	0,038797			
	<i>S=0,014</i>		<i>R-cuad. = 90,14 %</i>		<i>R-cuad. (ajustado)=88,49%</i>

Fuente: Autoras

De acuerdo al valor p cuyo valor es igual a $0.00 < 0.05$ que es el valor de significancia, se afirma la hipótesis alternativa que el tiempo de disolución si es un factor de influencia para la obtención de glucosa tanto en el papel y aserrín.

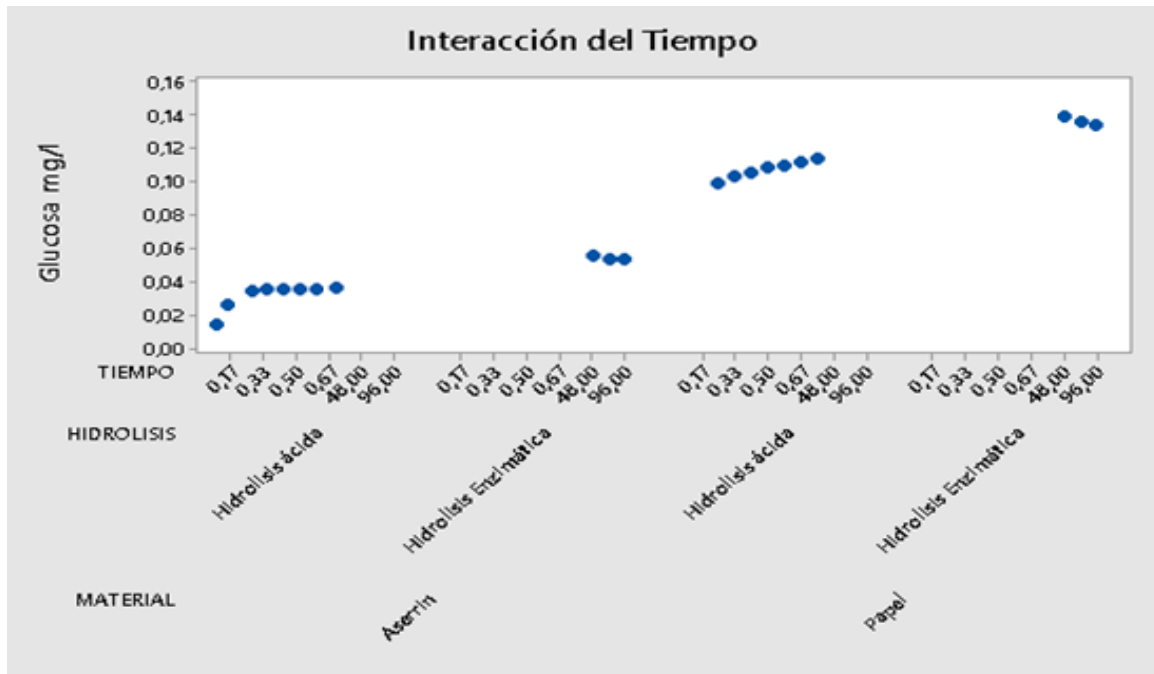


Figura 25. Interacción del tiempo

Fuente: Autoras

En la figura 25 se puede observar en el proceso de hidrolisis ácida del papel se obtuvo mayor cantidad de glucosa a mayor tiempo, es decir a 0.68h se obtuvo una concentración de glucosa igual a 0.12mg/L, al contrario, a un tiempo menor de 0.18h se obtuvo concentración de glucosa baja igual 0.09mg/L. Por otro lado, en el proceso de hidrólisis ácida de aserrín a un tiempo mayor de 0.68h se obtuvo una concentración de glucosa igual a 0.04mg/L, al contrario, a un tiempo menor de 0.18h se obtuvo una concentración de glucosa más baja igual a 0.038mg/L, sin embargo, no es una diferencia significativa.

Mientras que en el proceso de hidrolisis enzimática observamos solo 3 puntos en la figura 25, de 6 puntos tanto para aserrín como para papel, esto se debe a que 3 pruebas tuvieron el mismo parámetro (tiempo) de las otras 3, en este caso para este tipo de hidrólisis se obtiene menor cantidad

de glucosa a mayor tiempo. Sin embargo, cabe mencionar que en el proceso de hidrólisis ácida el tiempo de reacción es menor que el tiempo de reacción de la enzimática.

Dándonos así que, en el proceso de hidrólisis enzimática para papel a un tiempo mayor igual a 96h se obtuvo una concentración baja de 0.12mg/L, y a un tiempo menor de 48h se obtuvo una concentración más alta de glucosa igual a 0.14mg/L. Por otro lado, en el proceso de hidrólisis enzimática para aserrín a un tiempo mayor igual a 96h se obtuvo una concentración baja de 0.55mg/L, y a un tiempo menor de 48h se obtuvo una concentración más alta de glucosa igual a 0.58mg/L.

5.8.4 ANOVA de dos factores: Interacción de la Concentración de H₂SO₄ vs Tipo de Material, % de Glucosa en Hidrólisis ácida

- **Hipótesis nula:** Existe interacción de la concentración de H₂SO₄ en la reacción.
- **Hipótesis alternativa:** No existe interacción de la concentración de H₂SO₄ en la reacción.

Tabla 32. Datos hidrólisis ácida concentración vs tipo de material, % glucosa

<i>Nivel de significancia</i>	$\alpha = 0,05$				
<i>Factores</i>	2	Papel-Aserrín			
	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
<i>CONCENTRACIÓN</i>	7	0,000791	0,000113	1,97	0,195
<i>MATERIAL</i>	1	0,020743	0,020743	362,42	0,000
<i>Error</i>	7	0,000401	0,000057		
<i>Total</i>	15	0,021935			

$S=0,007$

$R\text{-cuad.} = 98,17\%$

$R\text{-cuad. (ajustado)}=96,09\%$

Fuente: autoras

De acuerdo al valor $p > 0.05$ obtenido se toma la hipótesis nula, la cual afirma que existe una interacción de la concentración de H_2SO_4 en la cuantificación de glucosa en la reacción de hidrolisis ácida.

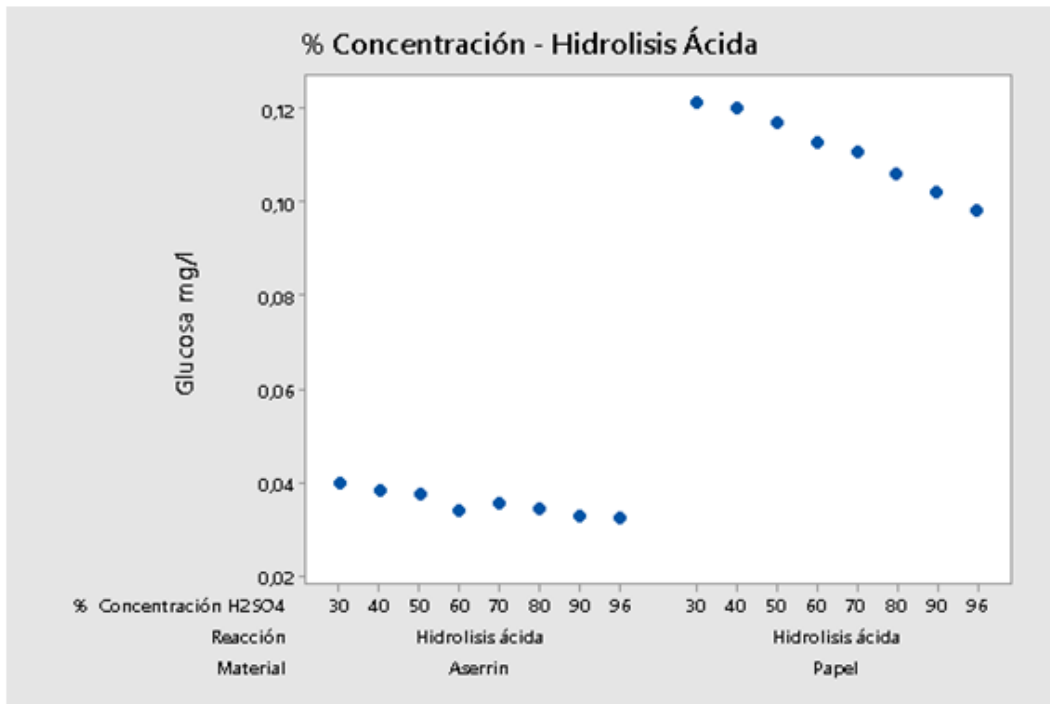


Figura 26. Interacción de la concentración de H_2SO_4

Fuente: Autoras

En la figura 26, se puede observar que, en ambos procesos a mayor concentración de H_2SO_4 menor cantidad de glucosa, actuando eficazmente con el papel ya que se obtiene mayor cantidad de glucosa que con el aserrín. Por ejemplo, a una concentración de 96% de H_2SO_4 en papel se obtiene 0,099 mg/l mientras que para el aserrín con la misma concentración se obtiene 0,032 mg/l.

**5.8.5 ANOVA de dos factores: Interacción de la Concentración de enzima
celulosa ultra 10 vs Tipo de Material, % de Glucosa en Hidrólisis
Enzimática**

- **Hipótesis nula:** Existe interacción de la concentración de enzima en la reacción.
- **Hipótesis alternativa:** No existe interacción de la concentración de enzima en la reacción.

Tabla 33. Datos hidrólisis concentración (ul) vs tipo de material, % glucosa

<i>Nivel de significancia</i>	$\alpha = 0,05$				
<i>Factores</i>	2	Papel -Aserrín			
	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
<i>CONCENTRACIÓN</i>	1	0,007902	0,007902	279,65	0,004
<i>Error</i>	2	0,000057	0,000028		
<i>Total</i>	3	0,007959			
<i>S=0,005</i>		R-cuad. = 99,29 %		R-cuad. (ajustado)=98,93%	

Fuente: Autoras

De acuerdo al valor $p < 0.05$, se toma la hipótesis alternativa, es decir, no existe interacción de la concentración de enzima.

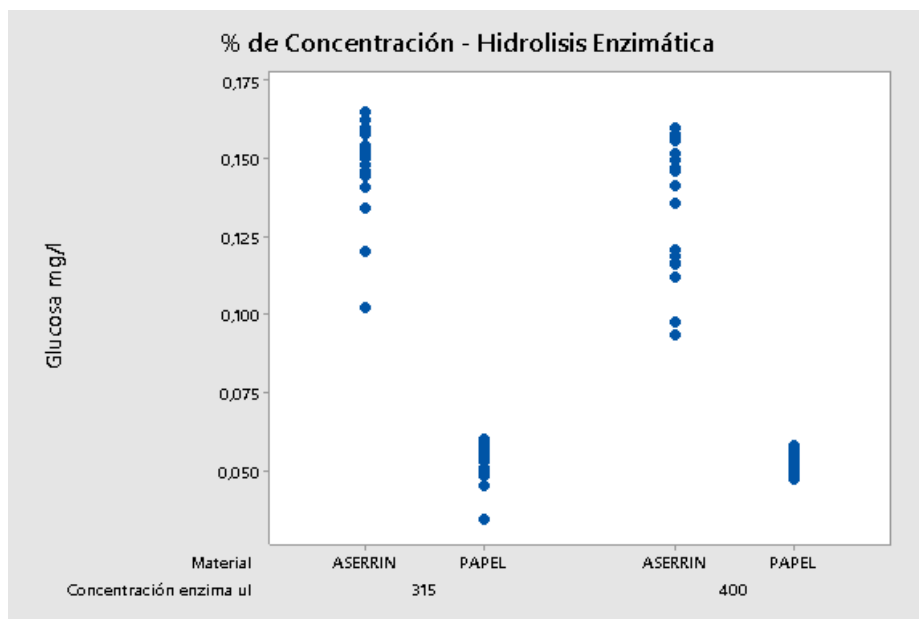


Figura 27. % de Concentración- Hidrólisis enzimática

Fuente: Autoras

Se observa en la figura 27 que, tanto para el papel como para el aserrín a concentraciones de 315uL y 400uL se tienen cantidades de glucosa muy similares. Por ejemplo, en la hidrólisis enzimática de papel con 400uL de enzima se obtuvo concentraciones de glucosa iguales a 0.146mg/L y 0.155mg/L y con 315uL de enzima valores iguales a 0.149mg/L y 0.056mg/L, por otro lado, en la hidrólisis enzimática del aserrín con 400uL de enzima se obtuvo concentraciones de glucosa iguales a 0.55mg/L y 0.49mg/L y con 315uL de enzima se obtuvo valores iguales a 0.054mg/L y 0.048mg/L.

5.8.6 ANOVA de un factor: Interacción del Tipo de Material vs Concentración de glucosa en Hidrólisis ácida

- **Hipótesis nula:** No existe interacción del tipo de material
- **Hipótesis alternativa:** Existe interacción del tipo de material

Tabla 34. Datos hidrólisis concentración vs tipo de material, % glucosa

Nivel de significancia $\alpha = 0,05$

Factores	Papel – Aserrín					
	2	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Glucosa	1	0,020743	0,020743	243,73	0,000	
Error	14	0,001191	0,000085			
Total	15	0,021935				

$S=0,009$ **R-cuad.** = 94,57% **R-cuad. (ajustado)**=94

Fuente: Autores

Se puede apreciar en la tabla 34 que, el valor de $p < 0.05$, por lo tanto, se toma la hipótesis alternativa, es decir que el tipo de material si interviene en la concentración de glucosa obtenida.

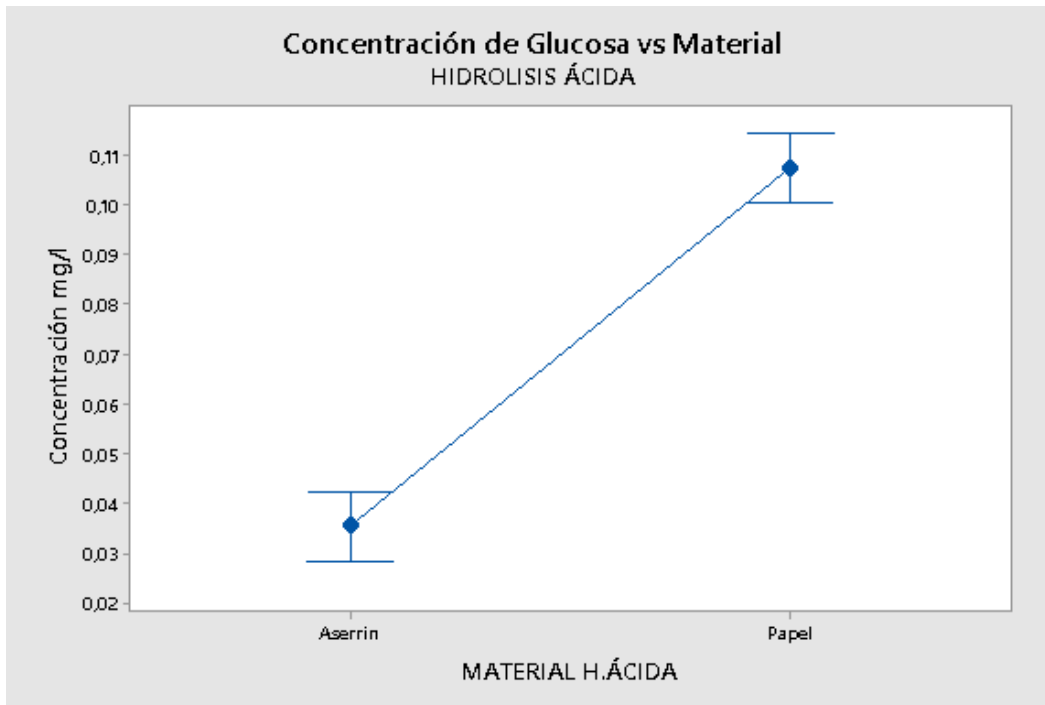


Figura 28. Concentración de glucosa vs material-hidrólisis ácida

Fuente: Autoras

Se puede observar en la figura 28, que para la hidrólisis ácida se obtuvo un promedio de 0.105 mg/L de glucosa con papel, en cambio con aserrín se obtuvo un promedio de 0.035 mg/L, una diferencia significativa, entonces tenemos que, para el caso de la hidrólisis ácida el material más factible y con mejores resultados es el papel.

5.8.7 ANOVA de un factor: Interacción del Tipo de Material vs Concentración de glucosa en Hidrólisis enzimática

- **Hipótesis nula:** No existe interacción del tipo de material
- **Hipótesis alternativa:** Existe interacción del tipo de material

Tabla 35. Datos hidrólisis concentración vs tipo de material, % glucosa

Nivel de significancia $\alpha = 0,05$

Factores	Papel – Aserrín				
	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Glucosa	1	0,007902	0,007902	279,65	0,004
Error	2	0,000057	0,000028		
Total	3	0,007959			
<i>S</i> =0,005	R-cuad. = 99,29 %		R-cuad. (ajustado) =97,16%		

Fuente: Autoras

Como se observa en la tabla 35, el valor de $p < 0.05$, por lo tanto, se toma la hipótesis alternativa, es decir que el tipo de material si interviene en la concentración de glucosa obtenida.

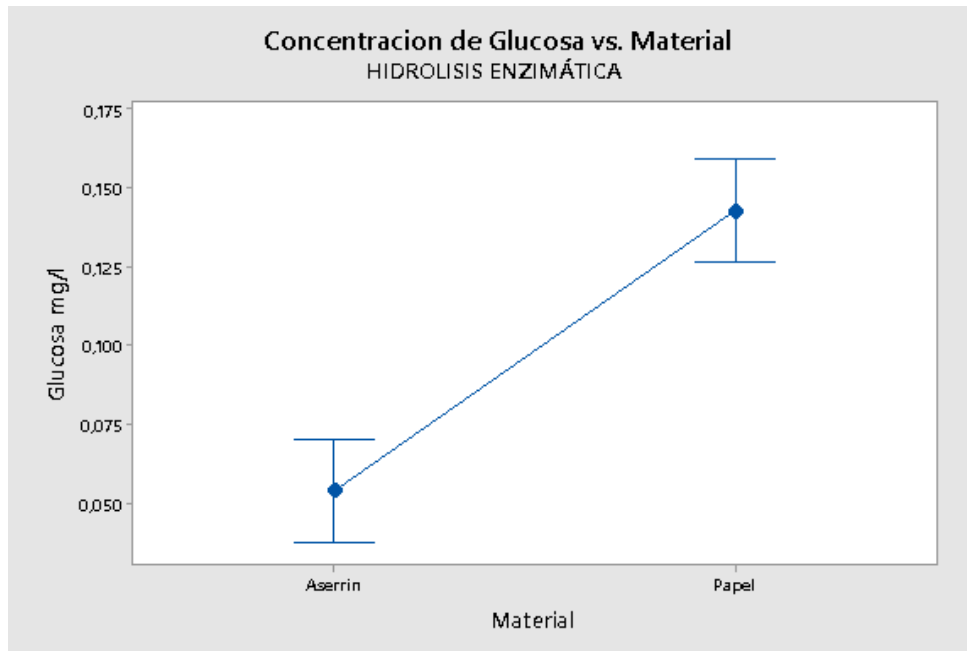


Figura 29. Concentración de glucosa vs material- hidrólisis enzimática

Fuente: Autoras

Se puede apreciar en la figura 29 que, para la hidrólisis enzimática se obtuvo un promedio de 0.150 mg/L de glucosa con papel, en cambio con aserrín se obtuvo un promedio de 0.050, una diferencia significativa, entonces tenemos que, para el caso de la hidrólisis enzimática el material más factible y con mejores resultados es el papel.

5.8.8 ANOVA de un factor: Interacción del Tipo de proceso vs Concentración de glucosa

- **Hipótesis nula:** Existe interacción de la cantidad de concentración
- **Hipótesis alternativa:** No existe interacción de la cantidad de concentración

Tabla 36. Datos hidrólisis concentración vs tipo de material, % glucosa

Nivel de significancia $\alpha = 0,05$

Factores	2	Papel – Aserrín			
	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Glucosa	1	0,002296	0,002296	1,38	0,255
Error	18	0,029894	0,001661		
Total	19	0,032190			

$S=0,04$ **R-cuad.** = 7,13% **R-cuad. (ajustado)**=1,97%

Fuente: Autores

Como se observa en la tabla 36 el valor de $p > 0.05$, por lo tanto, se toma la hipótesis nula es decir que, el tipo de proceso (hidrólisis ácida, hidrólisis enzimática) si interacciona en la concentración de glucosa obtenida.

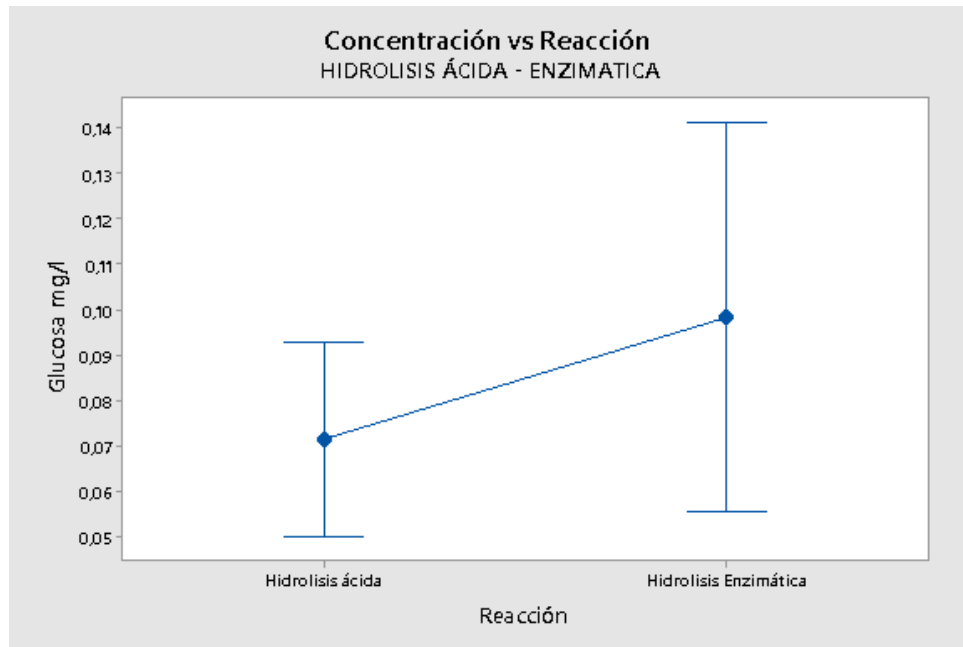


Figura 30. Concentración vs reacción- hidrólisis ácida- enzimática

Fuente: Autoras

En la figura 30 se puede apreciar que, se obtuvo mayores concentraciones de glucosa en el proceso de hidrólisis enzimática, llegando a promedios aproximadamente de 0.10mg/L de glucosa a comparación de la hidrólisis ácida que se obtuvo promedios aproximados de 0.07mg/L, estos resultados independientemente del tipo de material utilizado. Lo que significa que el proceso de hidrólisis enzimática es más viable que el de hidrólisis ácida.

6 CAPÍTULO: DISCUSIÓN

El uso de materiales orgánicos para la obtención de biocombustibles o bioalcoholes es hoy en día un tema muy estudiado, y de gran relevancia como alternativa del uso de materiales fósiles para generar el menor impacto posible al medio ambiente, sin embargo, los usos de estos materiales compiten por el espacio y recursos naturales que se necesita para obtenerlos.

Por ello la importancia y el interés de buscar otras fuentes como es el papel y el aserrín que hoy en día el tema de reciclaje está siendo de suma importancia para combatir el impacto ambiental en el que se vive hoy en día.

Lo anteriormente mencionado tiene relación con lo que sostienen (Belanche Lázaro & Perez Arauzo, 1993) quienes afirman que, el principal componente de los residuos forestales como son el aserrín, viruta, así como de residuos de la industria del papel es la celulosa, a pesar de que aún hay preferencia muchas veces por los productos derivados del petróleo se mantiene el interés por su fuente renovable de materia prima y energía.

En la caracterización del papel se obtuvo un pH de 7.2, esto coincide con lo propuesto por la normativa ISO 6588 y el autor (Araujo, 2011) que mencionan que, el valor del pH de un extracto debe estar en el rango de 7,2 a 10,0, por otro lado (Sanz Tejedor, n.d.) afirma que después de pasar por tratamientos largos para la fabricación de papel blanco de oficina, este al final presenta rendimientos de celulosa del 80 a 90%, en nuestro caso obtuvimos un porcentaje de celulosa del 80% en papel, en cambio (Viavattine, 2017) menciona los rangos de humedad, y nos dice que por lo general el papel que se produce contiene un porcentaje de humedad absoluta entre 4% y 6% demostrando así que nuestro análisis esta correcto ya que se obtuvo un porcentaje de humedad del 4.25%.

De igual manera en cambio para el aserrín se tienen valores tales para humedad del 11.5%, pH igual a 5.7%, extraíbles de 9%, lignina de 25%, cenizas de 2% y celulosa del 37.25%, comparando con lo estudiado y mencionado por (Carranza Rodríguez, 2013) son datos de muy alta similitud ya que en su estudio tuvo resultados de humedad igual a 12%, un pH de 5.2%, extraíbles de 10%, lignina de 28%, cenizas de 1.25% y celulosa de 43%, por otro lado, menciona que los datos pueden variar entre una muestra y otra debido a razones como por ejemplo la edad del árbol, condiciones donde está desarrollado, y lo más importante la parte del árbol de donde se extrae la madera, ya que la corteza normalmente suele contener más lignina y menos celulosa que otras partes.

El espectro al analizar celulosa que se pudo observar posee picos de frecuencia muy parecidos al que menciona (Contreras et al., 2010) quien nos dice que los espectros característicos de celulosa, son los que se ubican bandas de vibraciones de enlaces (2918, 2851, 1427 y 1315 cm^{-1}), C-H (1360 y 1280 cm^{-1}), C-O (1054 y 1030 cm^{-1}), C-O-C (1160 cm^{-1}) y O-H (banda ancha entre 3600 y 3200 cm^{-1} , así como bandas en 1335 y 1205 cm^{-1}). A 898 cm^{-1} se tiene la vibración del grupo del carbono anomérico de carbohidrato, C1-H, y en 1635 cm^{-1} la banda correspondiente a agua adsorbida, estos picos nos ayudaron a confirmar que el espectro pertenece a celulosa, obteniendo así un porcentaje de similitud del 90% en papel y 80% en aserrín.

Al realizar ANOVA se obtuvo que, en la hidrólisis ácida los parámetros que influyen en la reacción son; el tiempo de reacción y la concentración del ácido, (Carranza Rodríguez, 2013) determinó que al usar un tratamiento con ácido diluido sobre el bagazo de caña, se lograba que exista un aumento de la concentración de celulosa desde un 38% a un 59%, en este caso tenemos que tener en cuenta que nuestro material es el aserrín por ello puede variar en un mínimo porcentaje en nuestro caso se tuvo similitudes de 60%.

(Granados Bustos & Garnica Ramírez, 2018) en su estudio con papel periódico mencionan que, luego de haber realizado la hidrólisis ácida y la prueba DNS, la concentración de glucosa encontrada estuvo en los rangos de 0.074mg/L a 0.396mg/L, para 2g de muestra de igual manera hay que tener en cuenta que el papel periódico tuvo que ser tratado para minimizar en su totalidad la lignina, cosa que no sucede con el papel blanco de oficina que su tratamiento a parte del blanqueamiento también implica la eliminación de lignina, sin embargo se tuvieron datos similares con rangos que van desde los 0.095mg/L hasta los 0.123mg/L para 1g de muestra.

El Anova en el caso de la hidrólisis enzimática nos dice que el único parámetro que afecta en la concentración de glucosa es el tiempo de acción, no se han encontrado trabajos de investigación que estén dedicados precisamente a la conversión de glucosa a partir de celulosa obtenida del papel de oficina reciclado y aserrín trabajados con la enzima trabajada, alpha celulosa, pero (Carranza Rodríguez, 2013) en su investigación experimental hizo uso de la enzima Celluzyme dándole como resultado rangos desde los 0.11mg/L a 0.85mg/L, con tiempo de reacción de 50h a 72h, comparándolo en nuestro estudio las concentraciones estarían dentro de este rango.

Finalmente, el espectro que se observó al analizar glucosa concuerda con lo descrito en el estudio experimental de (Suárez Zapico, 2013) quien menciona que los picos característicos que permiten distinguir mejor la presencia de mayor o menor glucosa, fructuosa y sacarosa están entre los números de ondas desde los 950 a 1400 cm^{-1} . Las bandas que van desde 900 y 1152 cm^{-1} son la de los enlaces O-C-H, C-C-H y C-O-H, de tal manera que para la glucosa se debe fijar en los números de ondas entre 1034 y 1080 cm^{-1} , obteniendo similitudes de 80.25% para papel y 60% para aserrín con el proceso de hidrólisis ácida, y un porcentaje de similitud del 82.56% para papel y de 70% para aserrín con el proceso de hidrólisis enzimática.

7 CAPÍTULO: CONCLUSIONES

- Es indispensable un pre tratamiento al papel con agua de 100°C a 150°C para eliminar la mayor cantidad posible de tinta presente.
- Así mismo es indispensable un pre tratamiento al aserrín con ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 5% a 150°C.
- Para eliminar la mayor cantidad de lignina presente en el aserrín antes del proceso de conversión de celulosa a glucosa, es de suma importancia un pretratamiento con agua a temperaturas altas de 100°C a 150°C.
- El triturado y tamizado para ambas materias primas ayuda que el proceso de hidrólisis sea más rápido y eficiente, y de igual manera se vuelve más fácil de manipular.
- Del análisis proximal realizado al papel se obtuvo datos de pH igual a un promedio de 7.2%, humedad de 4.25% y celulosa del 80%, estables comparando con otros autores.
- Del análisis proximal realizado al aserrín se obtuvo valores tales para humedad del 11.5%, pH igual a 5.7%, extraíbles de 9%, lignina de 25%, cenizas de 2% y celulosa del 37.25%, todos los datos comparados con otros estudios y autores.
- Al momento de determinar el porcentaje de celulosa en las dos materias primas, con los resultados obtenidos se concluye que el papel es el material que contiene más celulosa ya que se obtuvo porcentajes del 80% vs el del aserrín del 37.25%, esto se debe a que en el proceso de fabricación de este, inyectan pasta de celulosa pura sumado a que realizan un tratamiento para la eliminación total de lignina con reactivos controlados, en cambio el aserrín se presenta en su forma más pura de madera, por otro lado depende mucho de que parte del árbol ha sido tomada la muestra de aserrín.

- En el proceso de hidrólisis ácida para ambos casos no se determinó la presencia de azúcares reductores, por ello se obtuvo valores de 0mg/L de glucosa cuando existía concentraciones altas del ácido (H_2SO_4), y a temperaturas bajas.
- Para la cuantificación de glucosa con ayuda de la prueba DNS, es de suma importancia llevar a baño María por 15min los tubos de ensayo con el preparado ya que se demostró que el reactivo DNS reacciona más eficientemente con la muestra de celulosa.
- En el aserrín la concentración de glucosa está distribuida para celulosa, hemicelulosa y un porcentaje mínimo de lignina por ende fue necesario, encontrar la concentración de glucosa solo para los 37.25% de celulosa que contenía la muestra de aserrín pre tratada algo que no pasa con el papel ya que este solo contiene celulosa en su estado más puro.
- En el estadístico ANOVA se puso concluir que la temperatura tanto para el proceso de hidrólisis ácida como enzimática no es relevante, ya que a temperaturas altas se tiene valores similares que a temperaturas bajas. Sin embargo, los parámetros que si interaccionan es la concentración de ácido y el tiempo de reacción, dando, así como resultado que a menor concentración y a mayor tiempo existe más concentración de glucosa.
- El estadístico ANOVA determinó por otro lado que la concentración de enzima alpha celulosa no interviene en el proceso de hidrólisis enzimática, ya que tanto para el papel como para el aserrín a concentraciones de 315ul y 400ul se tienen cantidades de glucosa muy similares, no existe una diferencia significativa, por otro lado, el tiempo sí, al contrario de la hidrólisis ácida, en esta a mayor tiempo menor concentración de glucosa.
- También se concluyó que el tipo de material si interviene en la concentración de glucosa obtenida, para la hidrólisis ácida se obtuvo un promedio de 0.105 mg/L de glucosa con

papel, en cambio con aserrín se obtuvo un promedio de 0.035 mg/L, una diferencia significativa, entonces tenemos que, para el caso de esta hidrólisis el material más factible y con mejores resultados fue el papel.

- Finalmente se realizó el estadístico ANOVA hidrólisis enzimática vs hidrólisis ácida, concluyendo así que, el proceso de hidrólisis enzimática, es mucho más eficiente, ya que se tiene promedios aproximadamente de 0.10mg/L de glucosa a comparación de la hidrólisis ácida que se obtuvo promedios aproximados de 0.07mg/L, estos resultados independientemente del tipo de material utilizado.
- Para concluir se obtuvo que, para la hidrólisis ácida las mejores condiciones fueron Temperatura igual a 90°C, concentración de ácido de 30% y a un tiempo de 0.75h para papel y, Temperatura igual a 100°C, concentración de ácido de 30% y a un tiempo de 0.25h para aserrín. Por otro lado, para la hidrólisis enzimática los parámetros más eficientes fueron: Temperatura de 50°C, concentración de enzima de 315uL y a un tiempo de 96h para papel y aserrín.

8 CAPITULO: BIBLIOGRAFÍA

Dominguez. (2011). Obtenido de

<https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/1528/46455179pdf.pdf;jsessionid=A67F1F15CF90A479780293A10719BA7D.jvm1?sequence=1>

Fernandez, X. B. (12 de 12 de 2012). slideshare. Obtenido de

<https://es.slideshare.net/xilberferbeltranfernandez/asistente-para-organigrama>

Keller, S. (Abril de 2019). Por Qué el Papel Prospera En un Mundo Digital. Obtenido de

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.acs.org%2Fcontent%2Fdam%2Facsorg%2Feducation%2Fresources%2Fhighschool%2Fchemmatters%2Fspanishtranslations%2Fcm-april2019-celebrate-paper-spanish.pdf&sig=AOvVaw1hoxtByqU1AXEvVl2vwkKw&ust=16206792908320>

Rodríguez, I. A. (10 de 2013). Centro de investigación en materiales avanzados S.C. . Obtenido de

<file:///C:/Users/COMPUTEM/Downloads/tesis-azucena-carranza.pdf>

Sánchez, C. P. (2017). Optimización de los residuos de cascarilla de arroz mediante pretratamiento por hidrólisis ácida para la obtención de azúcares reductores”. Obtenido de

<https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/26247/1/TRABAJO%20DE%20TITULACI%C3%93N.pdf>

Tovar, I. F. (11 de 2008). Instituto potosino de investigación científica y tecnológica, A. C.

Obtenido de

<https://ipicyt.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1010/624/3/TMIPICYTG8M42008.pdf>

Aguiar, C., Carrillo, F., Díaz, S., Parreño, J., & Vallejo, L. (2014). *Reacción de fehling*.
<https://sites.google.com/site/laboratoriosbioquimica/bioquimica-i/carbohidratos/reaccion-de-fehling>

Alcalá Galiano Morell, D., Cujilema Quitio, M., León Revelo, G., Baryolo González, L., & Sánchez Ramos, L. (2018). Producción enzimática de biodiesel con biomasa lignocelulósica. *Scielo*, 38. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852018000100011

Almeida Castro, A. C. (2018). *Obtención de aminoácidos libres a partir de quinua orgánica (Chenopodium quinoa) por hidrólisis y su aplicación en un suplemento alimenticio [UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO]*.
https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/28232/1/04_T.AL.pdf

Alvarez Castillo, A., Salgado Delgado, R., García Hernández¹, E., Domínguez, M. ., Granandos Baeza, J. ., Aguirre Cruz, A., Carmona García, R., Morales Cepeda, A., Herrera Franco, P. J., Licea Claverie, A., & Mendoza Martínez, A. . (2012). *Aprovechamiento integral de los materiales lignocelulósicos*. ehu.eus/reviberpol/pdf/SEPT12/alvarez.pdf

Araujo, J. F. (2011). REQUERIMIENTOS ESTABLECIDOS POR LAS NORMAS ISO PARA PAPELES PERMANENTES. *Redalyc.Org*.
<https://www.redalyc.org/pdf/2630/263030843005.pdf>

Arqhys Arquitectura. (2012). *Propiedades del papel*. <https://www.arqhys.com/arquitectura/papel-propiedades.html>

Arungu Olende, S. (2007). *Biocombustibles: beneficios y riesgos del tercer mundo*.
<https://www.scidev.net/america-latina/opinions/biocombustibles-beneficios-y-riesgos-del->

tercer-m/

Belanche Lázaro, L., & Perez Arauzo, J. (1993). *Aprovechamiento de residuos de la industria de conservas vegetales. Hidrólisis enzimática.* file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Dialnet-AprovechamientoDeResiduosDeLaIndustriaDeConservasV-110293 (1).pdf

Carranza Rodríguez, A. (2013). *Obtención de glucosa a partir de aserrín de encino pre Tratado con reactivos alcalinos, seguido por hidrólisis Enzimática.* Centro de investigación en materiales avanzados S.C.

Chacón, O. (2005). PREPARATIVOS DE CELULASAS COMERCIALES Y APLICACIONES EN PROCESOS EXTRACTIVOS. *Universidad y Ciencia*, 21, 111–113. <http://ri.ujat.mx/bitstream/20.500.12107/1363/1/-337-273-A.pdf>

Chávez Sifontes, M., & Domine, M. E. (2013). *Lignina, estructura y aplicaciones: métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial.* <https://www.redalyc.org/pdf/3236/323629266003.pdf>

Contreras, Q., J. H., Trujillo, P., A. H., Arias, G., Pérez, C., L. J., & Delgado, E. (2010). ESPECTROSCOPIA ATR-FTIR DE CELULOSA: ASPECTO INSTRUMENTAL Y TRATAMIENTO MATEMÁTICO DE ESPECTROS. *E-Gnosis*, 8, 1–14. <https://www.redalyc.org/pdf/730/73013006008.pdf>

Cortes Ortiz, W. G. (2011). *Materiales lignocelulosicos como fuente de biocombustibles y productos químicos.*

Cortes Ortiz, W. G. (2014). *Tratamientos Aplicables a Materiales Lignocelulósicos para la Obtención de Etanol y Productos Químicos.*

Cortez Mondragón, P. (2017). *ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO PARA TODOS.*

https://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion_5a43b7c09fdc1.pdf

Díaz Abril, N., Ruiz Bárcena, J. A., Reyes Fernández, E., Cejudo Galván, A., Novo Jorrín, J., Peinado Peinado, J., Meléndez Valdés, F. T., & Fiñana Túnez, I. (2015). *Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*.

Efeverde. (2020). *La contaminación por combustibles fósiles causa 4,5 millones de muertes al año*.

<https://www.efeverde.com/noticias/contaminacion-combustibles-fosiles-muertes/>

Equihua Sánchez, M. (2013). “*Obtención de etanol por sacarificación y fermentación simultáneas a partir de la biomasa lignocelulósica de tallos de sorgo dulce* [Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.]

https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/695/1/PCER_M_Tesis_2013_Mintzirani_Equihua_Sánchez.pdf

Estrada, C. C. (2014). *Celulosa*. http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Seminario-Celulosa_27101.pdf

FAO. (2008). *Efectos de los biocombustibles en el medio ambiente* (pp. 63–64). FAO.

<http://www.fao.org/3/i0100s/i0100s05.pdf>

Garea Vásquez, A. (2017). *ESTUDIO DE LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE DIFERENTES TIPOS DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA. MATRIZ DE REACCIONES Y OPTIMIZACIÓN* [UNIVERSIDAD DE CANTABRIA].

<https://repositorio.unican.es/xmlui/bitstream/handle/10902/12178/RAF.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Garzón Pinto, M. J. (2014). *DIAGNÓSTICO DEL FUNCIONAMIENTO DE LAS RECICLADORAS DE PAPEL Y CARTÓN DE QUITO PARA PROPONER*

RECOMENDACIONES ADMINISTRATIVAS Y COMERCIALES PARA MEJORAR SU COMPETITIVIDAD [PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR].

[http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/8506/Trabajo Titulación.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/8506/Trabajo_Titulación.pdf?sequence=1&isAllowed=y) de

Gerena Baron, F. M. (2013). *OBTENCIÓN DE JARABES AZUCARADOS A PARTIR DE LA HIDRÓLISIS QUÍMICA DE RESIDUOS DE CÁSCARAS DE NARANJA (Citrus sinensis l var valencia) Y PAPA (Solanum tuberosum) variedad Diacol Capiro (R-12) PARA SER EMPLEADOS COMO EDULCORANTES EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTO* [UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA “UNAD” ESCUELA DE CIENCIAS BASICAS TECNOLOGÍA E INGENIERIA DUITAMA].
<https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/1528/46455179pdf.pdf;jsessionid=A67F1F15CF90A479780293A10719BA7D.jvm1?sequence=1>

Glucoup. (2019). *Historia de glucosa*. <https://glucoup.com/historia-de-la-glucosa/#:~:text=En químico francés Jean Baptiste,glycos”%2C que significa dulce.>

González García, Y., Meza Contreras, J. C., Anzaldo Hernández, J., & Sanjuán Dueñas, R. (2015). *Obtención de azúcares fermentables desde residuos de cartón para cultivar levaduras de interés biotecnológico*. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322015000200007

González Velandia, K. D., Rey, D. D., Amado Caballero, P. A., & González Martínez, C. (2016). *VALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE RESIDUOS SÓLIDOS ORGÁNICOS A EMPLEARSE EN LA ELABORACIÓN DE PAPEL*. *Luna Azul*, 43. <http://www.scielo.org.co/pdf/luaz/n43/n43a21.pdf>

Granados Bustos, L. I., & Garnica Ramírez, A. C. (2018). *Hidrólisis batch de residuos de papel periódico para la producción de azúcares reductores por medio de agua subcrítica* [Universidad de La Salle Ciencia Unisalle].

https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1747&context=ing_ambiental_sanitaria

Hernández Galindo, C. (2017). *Obtención de Bioetanol a partir de Hidrolizados de residuos de fruta*. Universidad de Oviedo.

Intermón, O. (2019). *Reciclaje del Papel. ¿Por Qué Es Importante El Reciclaje de Papel?* <https://blog.oxfamintermon.org/por-que-es-importante-el-reciclaje-de-papel/>

Jaramillo Orellana, V. S. (2018). *Diseño de mobiliario sustentable modular aplicando desechos de aserrín y papel*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Leonardo G. (2014). *Proceso de obtención de la pulpa de celulosa*. <https://www.leonardogr.com/es/blog/conozca-el-proceso-de-obtencion-de-la-pulpa-de-celulosa>

Lopez Martinez, A. (2018). *Compositos elaborados con resina de reciclaje y fibras de desecho: propiedades mecánicas y evaluación de la constante dieléctrica* [Universidad Autónoma Del Estado De México]. http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/79916/2018_angel_tesis_MAESTRIA_29ene18.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Marcano, E., Padilla, A., & Calderón, D. (2010). *Obtención de azúcares a partir de celulosa kraft mediante hidrólisis con ácido sulfúrico diluido*.

<http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/32307/articulo3.pdf?sequence=2&isAllowed=y>

Materiales Lignocelulósicos. (2015).

<https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/8503/Fundamentos-5.pdf?sequence=4&isAllowed=y>

Moriana, L. (2018). *Qué son los biocombustibles, ventajas y desventajas*. Ecología Verde.

<https://www.ecologiaverde.com/que-son-los-biocombustibles-ventajas-y-desventajas-1364.html#:~:text=La ventaja de los biocombustibles,la atmósfera mediante su combustión.>

Núñez, C. E. (2008). *Química de la madera* (pp. 52–56). <http://www.cenunez.com.ar/archivos/69-PulpayPapellSextaParte.pdf>

OK DIARIO. (2019). *Biocombustible: ¿Qué es y cuáles son? Ventajas y desventajas*.

<https://okdiario.com/curiosidades/biocombustible-que-cuales-son-ventajas-desventajas-3575975>

Paz Fong, F. J. (2008). *Determinación de la composición química de la madera obtenida del primer clareo en árboles de melina (gmelina arborea roxb.), de una plantación proveniente del departamento de izabal* [Universidad de San Carlos de Guatemala].

http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1090_Q.pdf

Perales Arellano, C. (2015). *Obtención de bioetanol a partir de materiales lignocelulósicos sometidos a hidrólisis enzimática*. Universidad Veracruzana.

Pineda Burgos, A. M., & Navarrete Rivadeneira, J. J. (2017). *Obtención de celulosa micro cristalina a partir de la fibra de estopa de coco* [Universidad de Guayaquil].

<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/18805/1/trabajo de grado cd.pdf>

Polímeros, T. en. (2017). *La celulosa*. <https://todoenpolimeros.com/2017/12/27/la-celulosa>

Quihue Cabezas, J. G. (2014). *Obtención de fibras a partir de raquis de plátano para la producción*

de pulpa de papel [Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga].

<http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/1039/Tesis>

[Q478_Qui.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/1039/Tesis/Q478_Qui.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Raffino, M. E. (2020). *Celulosa*.

S.L.U., P. Q., & Company, an I. (2017). *Reactivo de Fehling*.

https://www.itwreagents.com/download_file/ce_ivd_instructions/CEIVD08/es/CEIVD08_es.pdf

Salinas Callejas, E., & Gasca Quezada, V. (2009). *Los Biocombustibles*.

<https://www.redalyc.org/pdf/325/32512739009.pdf>

Sanz Tejedor, A. (n.d.). *Tecnología de la celulosa. La industria papelera*.

<https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-03.php>

Suárez Garnizo, E. M. (2016). *Obtención de pulpa de papel a partir de residuos de la naranja común y limón ponderoso* [universidad central del ecuador].

<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6856/1/T-UCE-0017-0014-2016.pdf>

Suárez Zapico, S. (2013). *Determinación simultánea de mono y disacáridos en zumos de frutas mediante técnicas espectroscópicas*. Universidad de Oviedo.

Torres Cabezas, M. A. (2019). *Obtención de celulosa a partir de la cáscara de cacao ecuatoriano (Theobroma cacao L.) mediante hidrólisis térmica para la elaboración de pulpa de papel* [Universidad Central del Ecuador].

<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/19765/1/T-UCE-0017-IQU-059.pdf>

Trejo Zamudio, D., & García Trejo, Juan Fernando Gutiérrez Antonio, C. (2019). *Conversión de*

residuos a biocombustibles. *Ciencia*, 70.

https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/70_1/PDF/ResiduosBiocombustibles.pdf

Uriel, O. (2015). *Recursos forestales, obtencion de celulosa, produccion de papel*.

<https://es.slideshare.net/omaruriel/recursos-forestales-obtencion-de-celulosa-produccion-de-papel>

Valdez Vasquez, I. (2017). *Bio butanol, un carburante de segunda generación*. 18–20.

<https://petroquimex.com/PDF/MayJun17/Biobutanol-Valdez-Vazquez.pdf>

Vásquez Ruiz, S. (2019). *Obtención de bioetanol a partir de biomasa lignocelulósica presente en*

la cascarilla del arroz para ser utilizada en equipos motorizados [Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17633/4/UPS-CT008382.pdf>

Viavattine, J. (2017). *Métodos de impresión y humedad del papel*.

[https://productos.docuimpresion.com/portfolio/sabes-lo-suficiente-la-medicion-la-humedad-del-papel/#:~:text=Por lo general%2C los fabricantes,puede absorber o liberar humedad.](https://productos.docuimpresion.com/portfolio/sabes-lo-suficiente-la-medicion-la-humedad-del-papel/#:~:text=Por%20lo%20general%2C%20los%20fabricantes,puede%20absorber%20o%20liberar%20humedad.)

Zambrano Silva, Y. (2014). *Industria del Papel*.

<https://es.slideshare.net/yormanzambrano/industria-del-papel-32406433>

9 ANEXOS

Anexo 1. Reciclaje manual papel y aserrín



Imagen 16. a) Papel; b) aserrín reciclado sin tratar

Fuente: Autoras

Anexo 2. Trituración de la materia prima



Imagen 17. Trituración de aserrín

Fuente: Autoras



Imagen 18. Aserrín ya triturado y tamizado

Fuente: Autoras

Anexo 3. Muestras de aserrín y papel antes y después del proceso de pre tratamiento



Imagen 19. Muestras de aserrín y papel en proceso de tratamiento

Fuente: Autoras



Imagen 20. Muestra de aserrín pre tratada con ácido sulfúrico

Fuente: Autoras



Imagen 21. Muestra de papel pre tratada con agua caliente

Fuente: Autoras

Anexo 4. Celulosa obtenida papel y aserrín



Imagen 22. Muestra de celulosa obtenida de papel y aserrín.

Anexo 5. Hidrolizados ácidos y enzimáticos

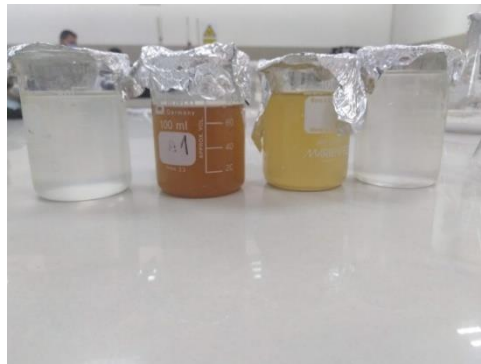


Imagen 23. Muestras de hidrolizado ácido y enzimático

Fuente: Autoras



Imagen 24. Prueba fehling positiva de hidrolizado ácido de papel

Fuente: Autoras



Imagen 25. Prueba de fehling positiva de hidrolizado enzimático de aserrín

Fuente: Autoras

Anexo 6. Proceso hidrólisis enzimática



Imagen 26. Auto clavar materiales para realizar hidrolisis enzimática

Fuente: Autoras

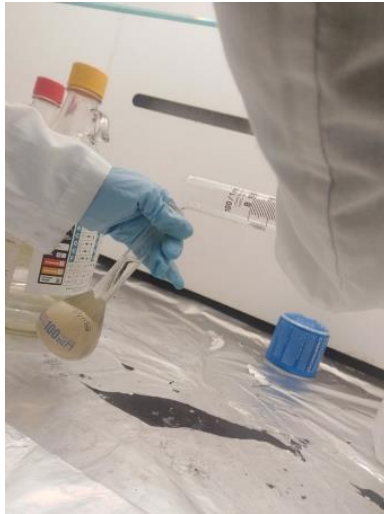


Imagen 27. Preparación del buffer de citrato para hidrólisis enzimática

Fuente: Autoras



Imagen 28. Enzima alpha celulosa utilizada en el proceso de hidrólisis enzimática

Fuente: Autoras

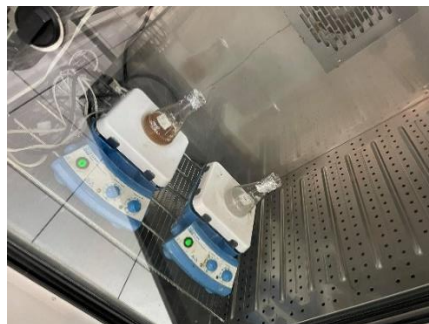


Imagen 29. Proceso hidrólisis enzimática aserrín – papel y aserrín en binder

Fuente: Autoras

Anexo 7. Diagrama de flujo del análisis proximal de la materia prima

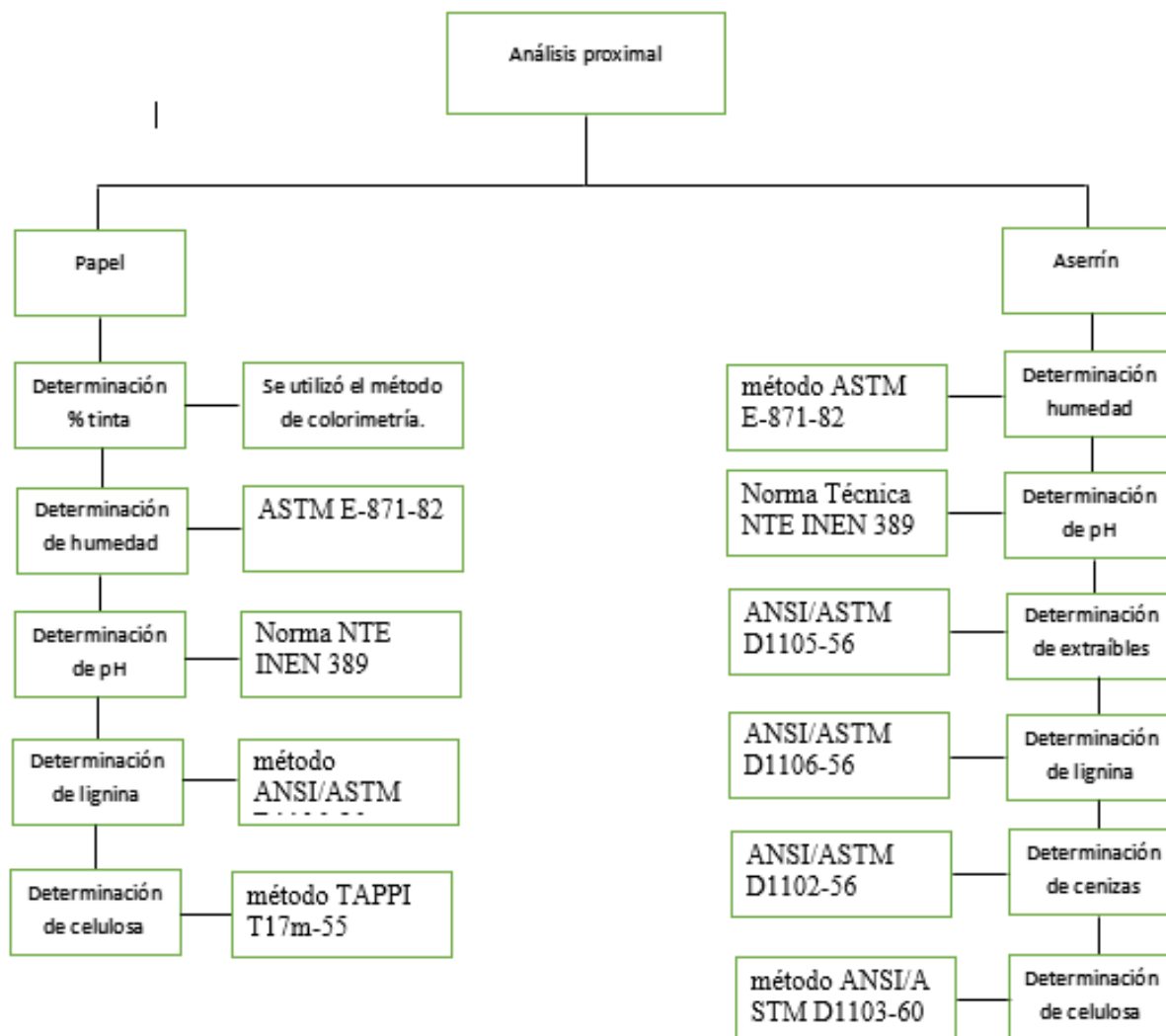


Figura 31. Diagrama de flujo del análisis proximal

Fuente: Autoras

Anexo 8. Reportes de porcentaje de similitud entre celulosa obtenida en el estudio con celulosa estándar.

Spectrum Search Results

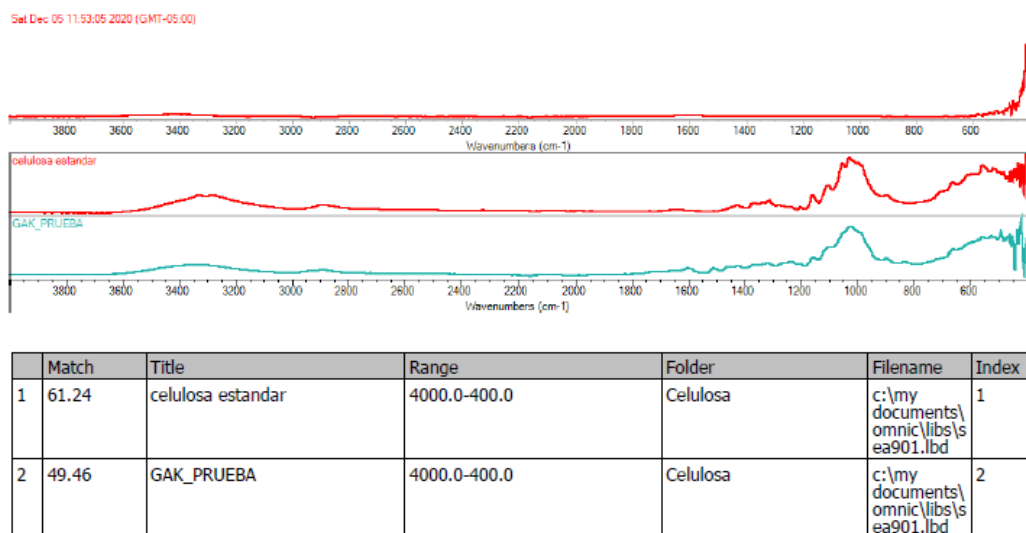


Figura 32. Porcentaje de similitud entre celulosa de aserrín y celulosa estándar

Fuente: Autoras

Spectrum Search Results

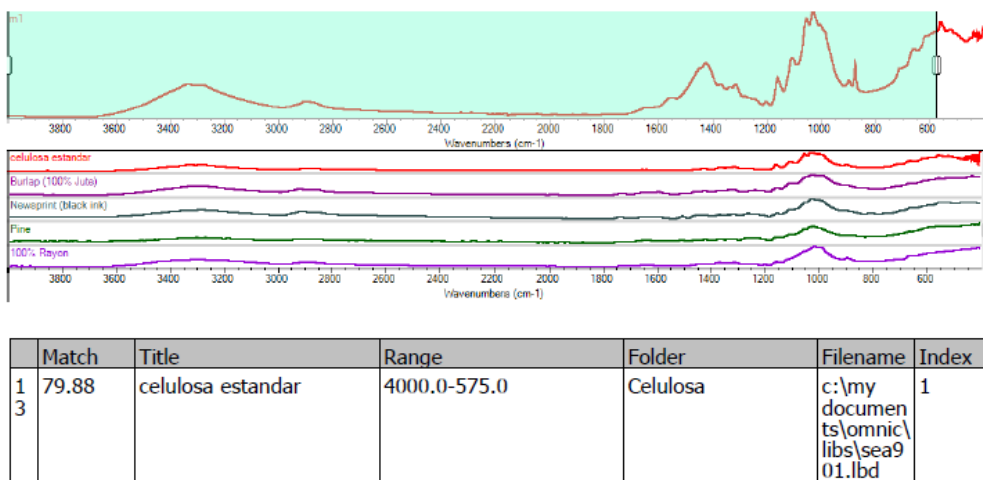


Figura 33. Porcentaje de similitud entre celulosa de papel y celulosa estándar

Fuente: Autoras

Spectrum Search Results

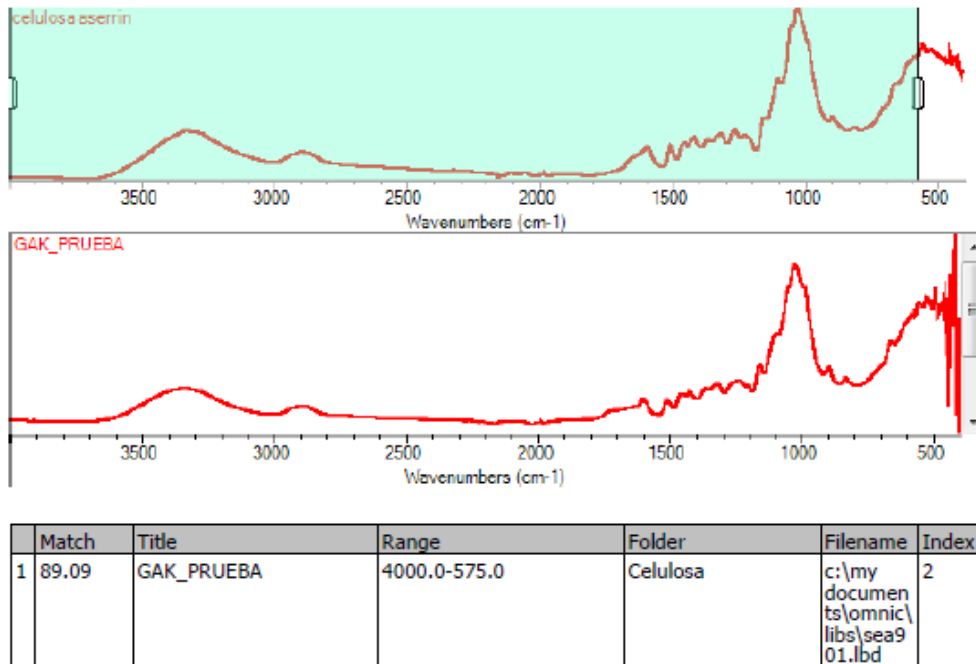


Figura 34. Porcentaje de similitud entre celulosa de papel y celulosa estándar

Fuente: Autoras

Spectrum Search Results

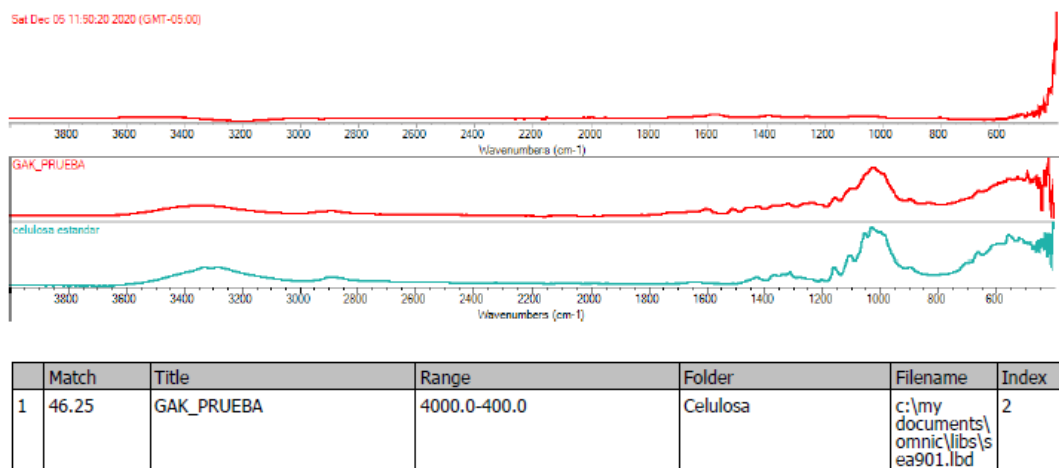


Figura 35. Porcentaje de similitud entre celulosa de aserrín y celulosa estándar

Fuente: Autoras

Anexo 9. Reportes de porcentaje de similitud entre glucosa obtenida en el estudio con glucosa estándar.

Spectrum Search Results

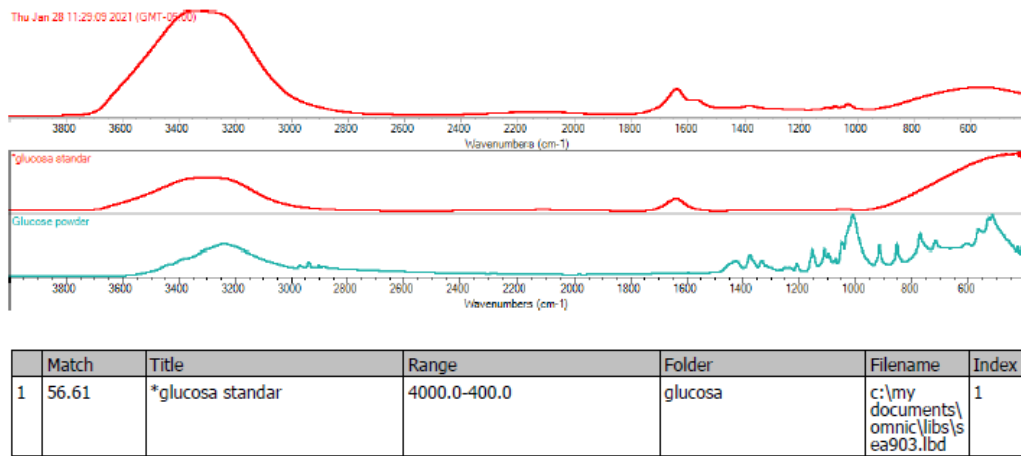


Figura 36. Porcentaje de similitud entre glucosa de aserrín y glucosa estándar

Fuente: Autoras

Spectrum Search Results

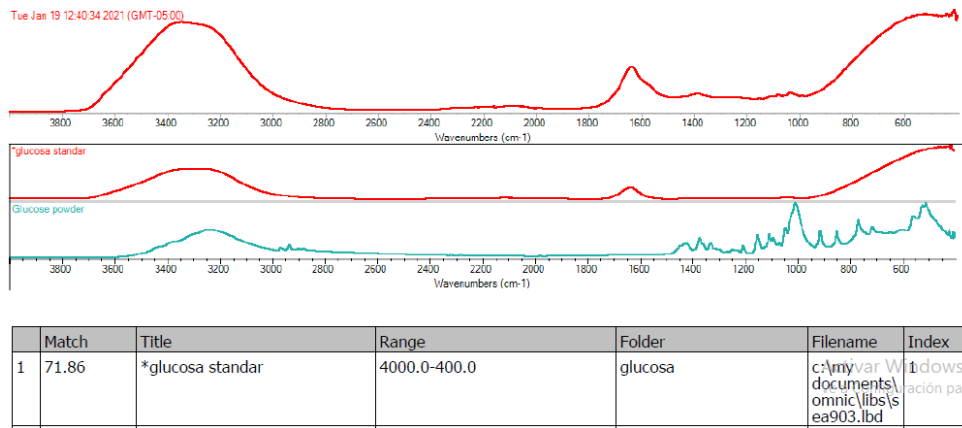


Figura 37. Porcentaje de similitud entre glucosa de papel y glucosa estándar

Fuente: Autoras

Spectrum Search Results

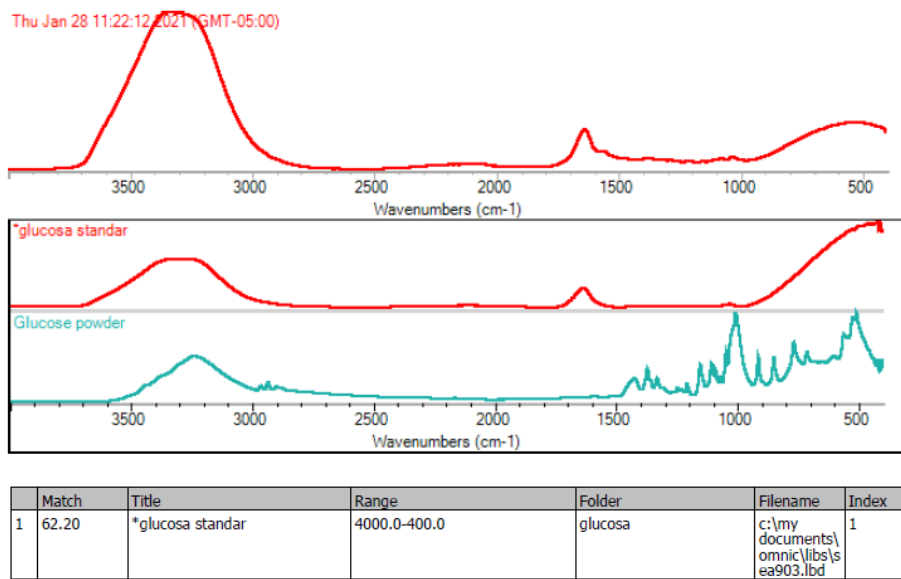


Figura 38. Porcentaje de similitud entre glucosa de papel y glucosa estándar

Fuente: Autoras

Spectrum Search Results

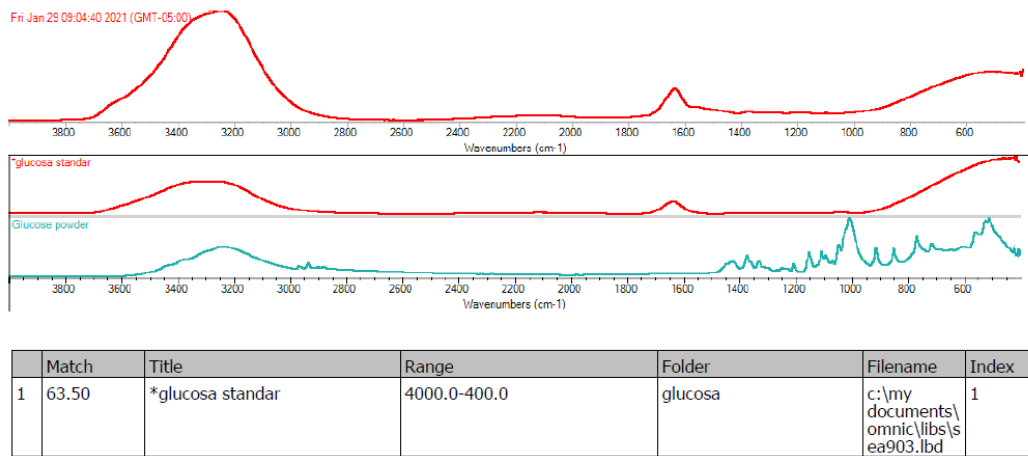
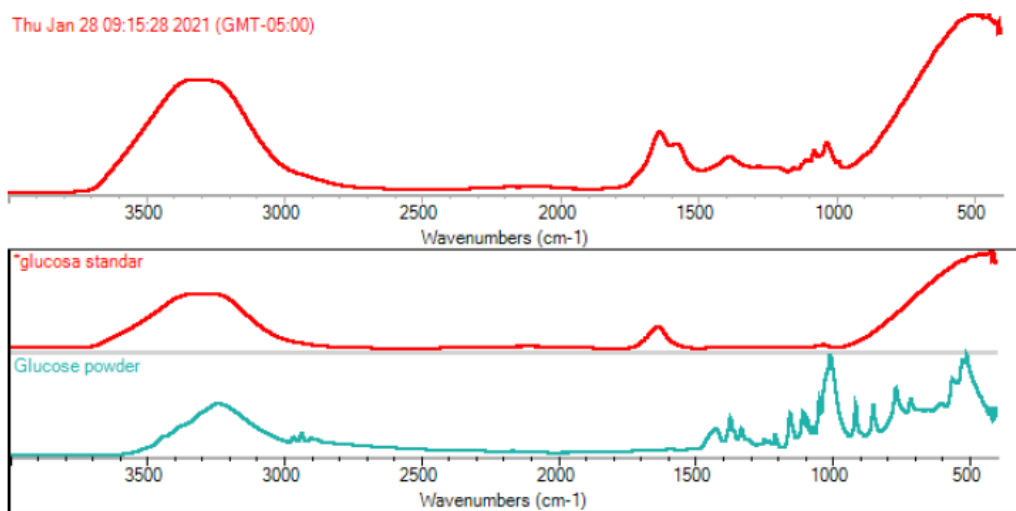


Figura 39. Porcentaje de similitud entre glucosa de papel y glucosa estándar

Fuente: Autoras

Spectrum Search Results

Thu Jan 28 09:15:28 2021 (GMT-05:00)



	Match	Title	Range	Folder	Filename	Index
1	60.16	*glucosa standar	4000.0-400.0	glucosa	c:\my documents\omnic\libs\sea903.lbd	1

Figura 40. Porcentaje de similitud entre glucosa de aserrín y glucosa estándar

Fuente: Autoras

Anexo 10. Imagen FTIR de celulosa de la materia prima

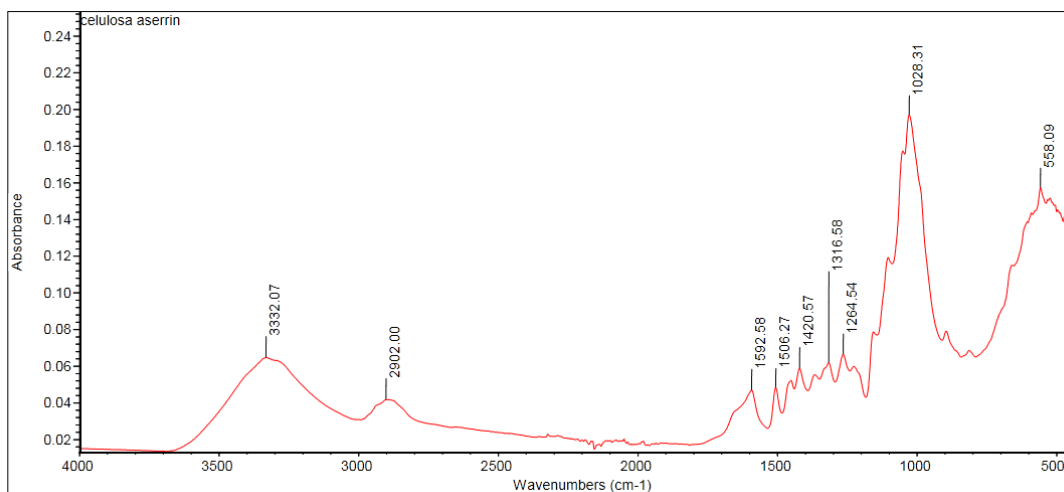


Figura 41. Imagen FTIR celulosa aserrín

Fuente: Autoras

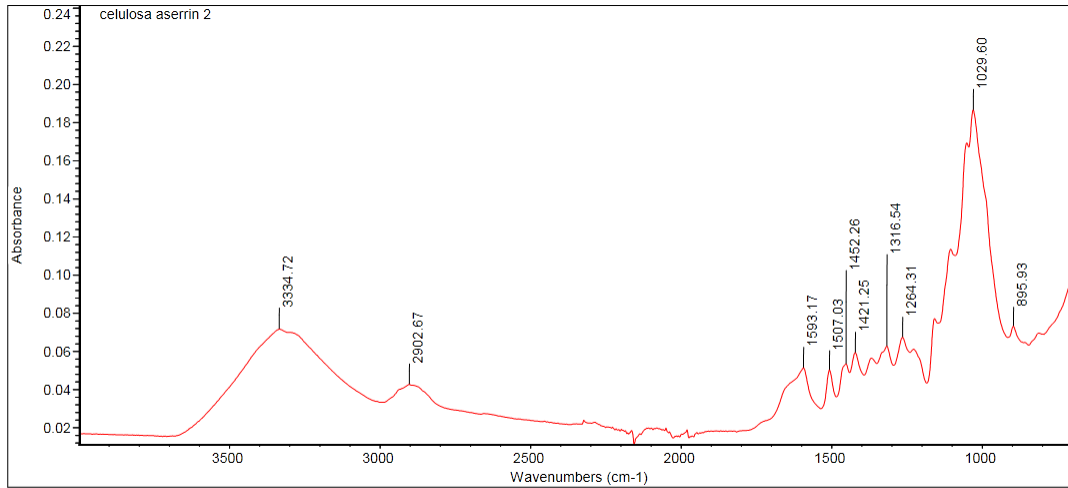


Figura 42. Imagen FTIR celulosa aserrín

Fuente: Autoras

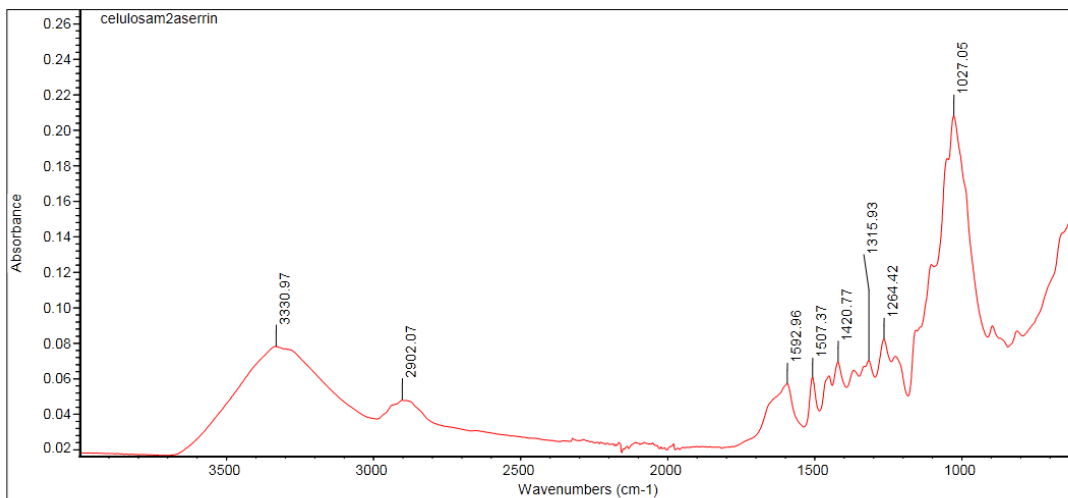


Figura 43. Imagen FTIR celulosa aserrín

Fuente: Autoras

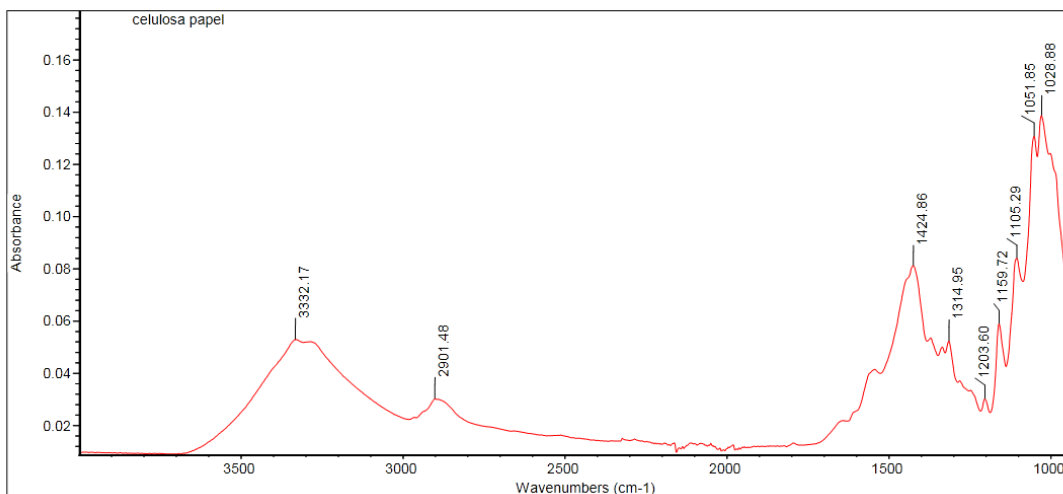
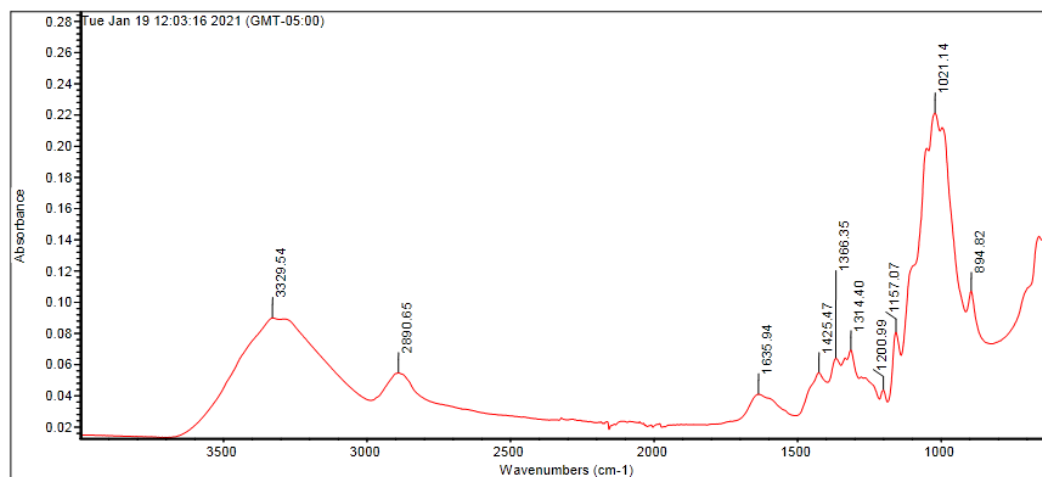


Figura 44. Imagen FTIR celulosa papel

Fuente: Autoras



Thu Apr 01 09:57:22 2021 (GMT-05:00)

FIND PEAKS:

Spectrum: Tue Jan 19 12:03:16 2021 (GMT-05:00)

Region: 3999.81 611.86

Absolute threshold: 0.019

Sensitivity: 61

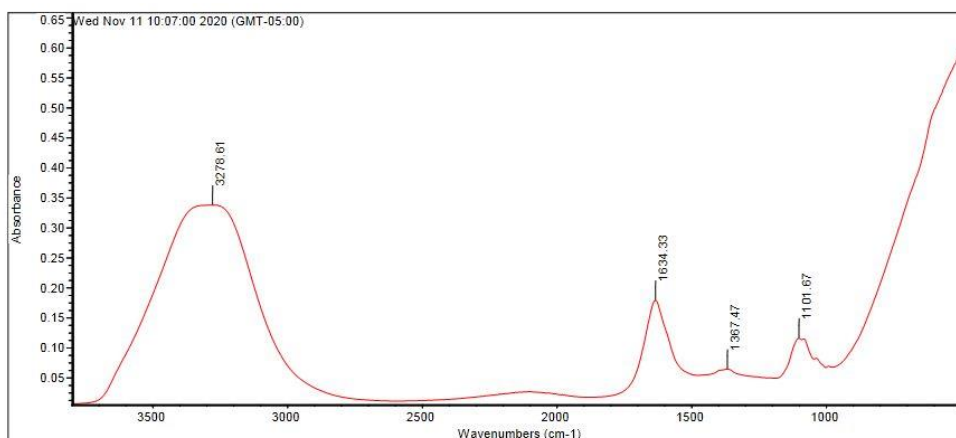
Peak list:

Position: 894.82	Intensity: 0.107
Position: 1021.14	Intensity: 0.221
Position: 1157.07	Intensity: 0.0806
Position: 1200.99	Intensity: 0.0435
Position: 1314.40	Intensity: 0.0682
Position: 1366.35	Intensity: 0.0637
Position: 1425.47	Intensity: 0.0547

Figura 45. Imagen FTIR celulosa papel

Fuente: Autoras

Anexo 11. Imagen FTIR de glucosa obtenida de la materia prima

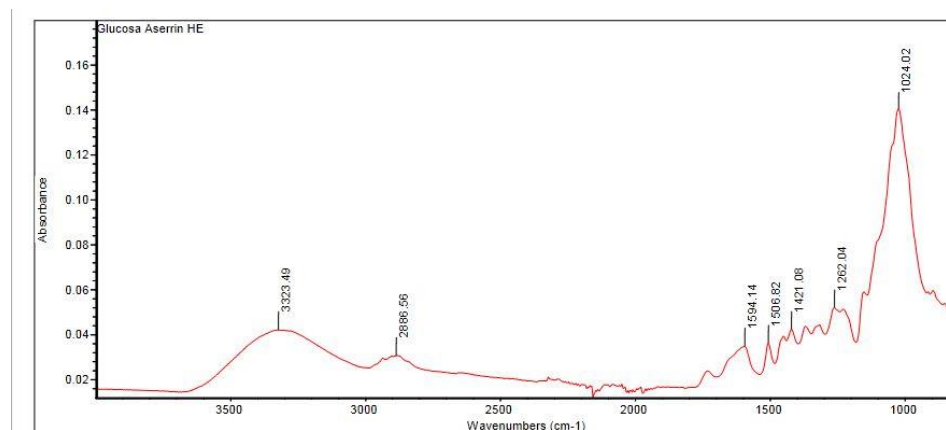


Thu Apr 01 10:20:10 2021 (GMT-05:00)
FIND PEAKS:
 Spectrum: Wed Nov 11 10:07:00 2020 (GMT-05:00)
 Region: 3800.60 480.41
 Absolute threshold: 0.023
 Sensitivity: 64
 Peak list:

Position	Intensity
1101.67	0.116
1367.47	0.0644
1634.33	0.179
3278.61	0.338

Figura 46. Imagen FTIR glucosa obtenida papel

Fuente: Autoras

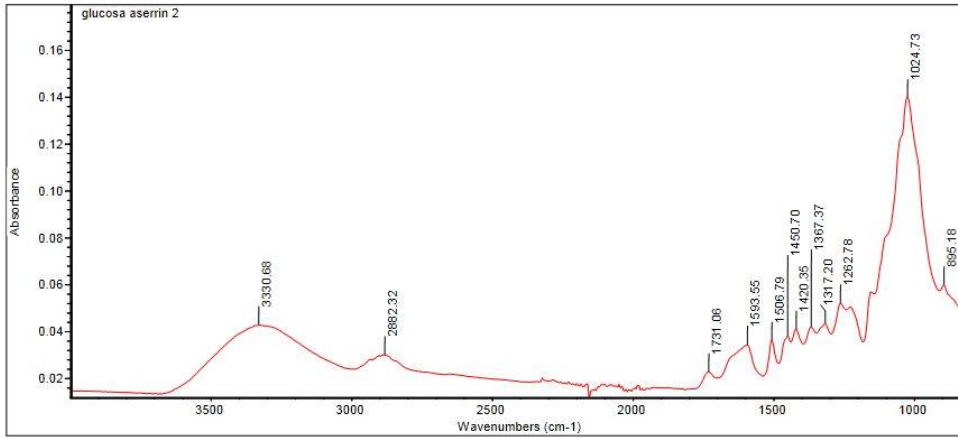


Thu Apr 01 11:25:59 2021 (GMT-05:00)
FIND PEAKS:
 Spectrum: Glucosa Aserrin HE
 Region: 3999.81 811.10
 Absolute threshold: 0.015
 Sensitivity: 50
 Peak list:

Position	Intensity
1024.02	0.140
1262.04	0.0520
1421.08	0.0423
1506.82	0.0362
1594.14	0.0347
2886.56	0.0306
3323.49	0.0421

Figura 47. Imagen FTIR glucosa obtenida aserrín

Fuente: Autoras



Thu Apr 01 10:16:43 2021 (GMT-05:00)

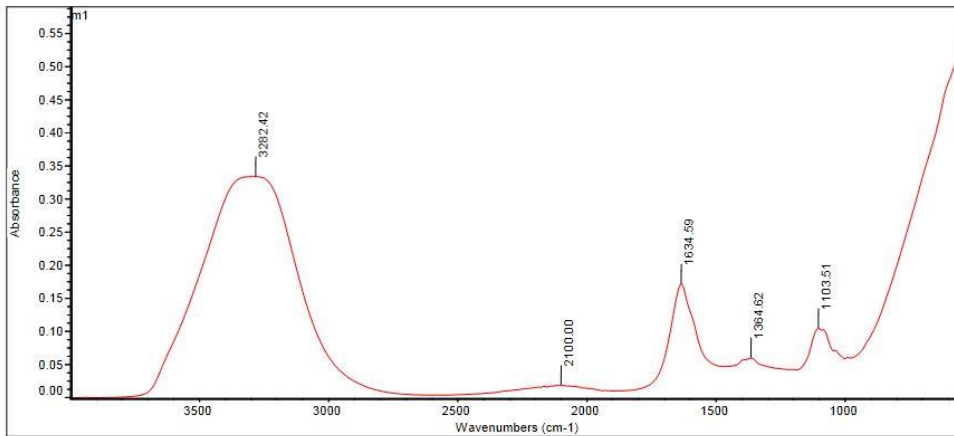
FIND PEAKS:

Spectrum: glucosa aserrin 2
 Region: 3999.81 811.10
 Absolute threshold: 0.018
 Sensitivity: 65

Position:	Intensity:
895.18	0.0599
1024.73	0.140
1262.78	0.0521
1317.20	0.0436
1367.37	0.0419
1420.35	0.0411
1450.70	0.0381

Figura 48. Imagen FTIR glucosa obtenida aserrín

Fuente: Autoras



Thu Apr 01 10:38:10 2021 (GMT-05:00)

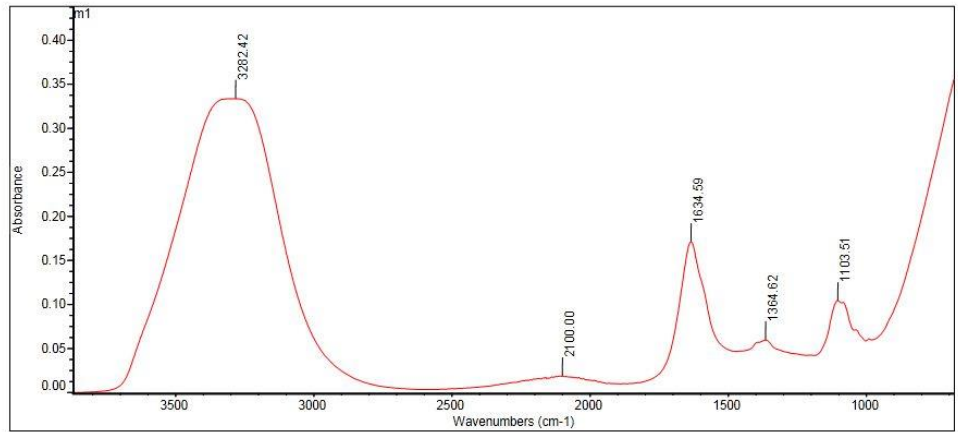
FIND PEAKS:

Spectrum: m1
 Region: 3999.81 542.72
 Absolute threshold: 0.011
 Sensitivity: 69

Position:	Intensity:
1103.51	0.104
1364.62	0.0595
1634.59	0.171
2100.00	0.0185
3282.42	0.334

Figura 49. Imagen FTIR glucosa obtenida papel

Fuente: Autoras



Thu Apr 01 10:18:54 2021 (GMT-05:00)

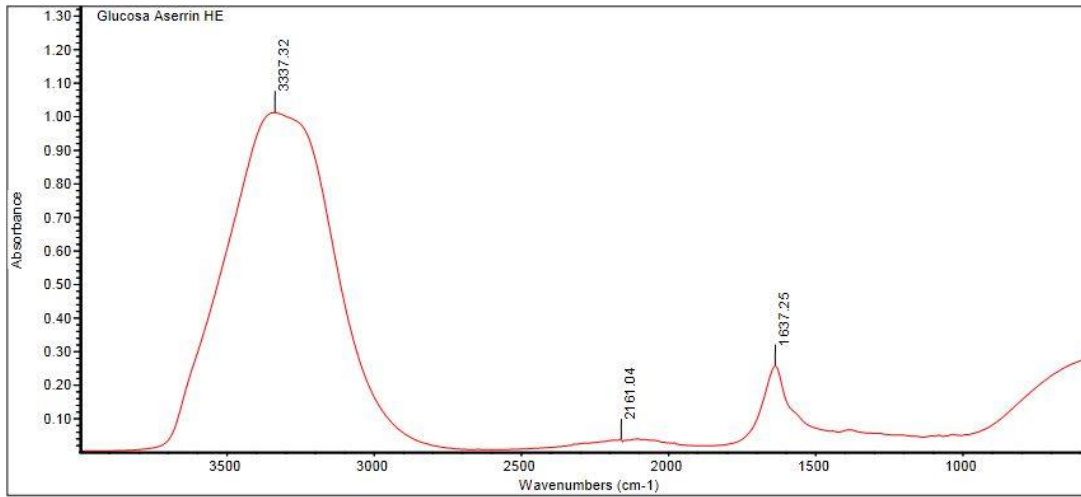
FIND PEAKS:

Spectrum: m1
 Region: 3872.26 683.55
 Absolute threshold: 0.015
 Sensitivity: 65

Position	Intensity
1103.51	0.104
1364.62	0.0595
1634.59	0.171
2100.00	0.0185
3282.42	0.334

Figura 50. Imagen FTIR glucosa obtenida papel

Fuente: Autoras



Thu Apr 01 13:20:55 2021 (GMT-05:00)

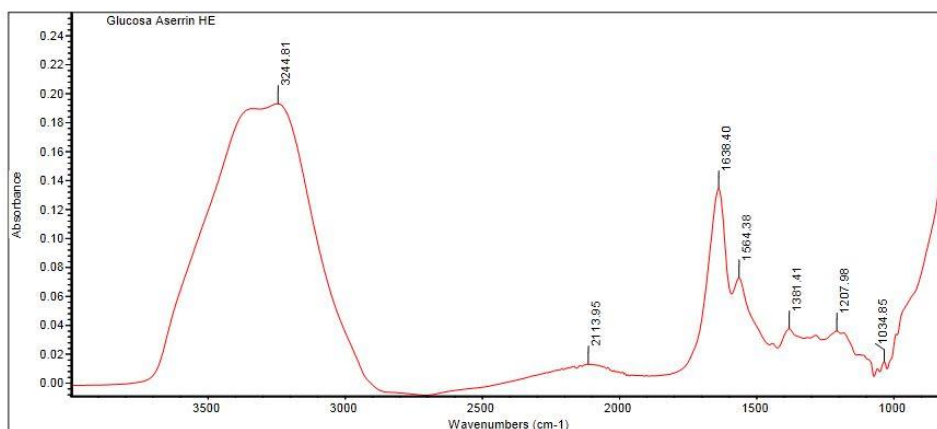
FIND PEAKS:

Spectrum: Glucosa Aserrin HE
 Region: 3999.81 542.72
 Absolute threshold: 0.017
 Sensitivity: 70

Position	Intensity
1637.25	0.256
2161.04	0.0393
3337.32	1.013

Figura 51. Imagen FTIR glucosa obtenida papel

Fuente: Autoras



Thu Apr 01 13:22:03 2021 (GMT-05:00)

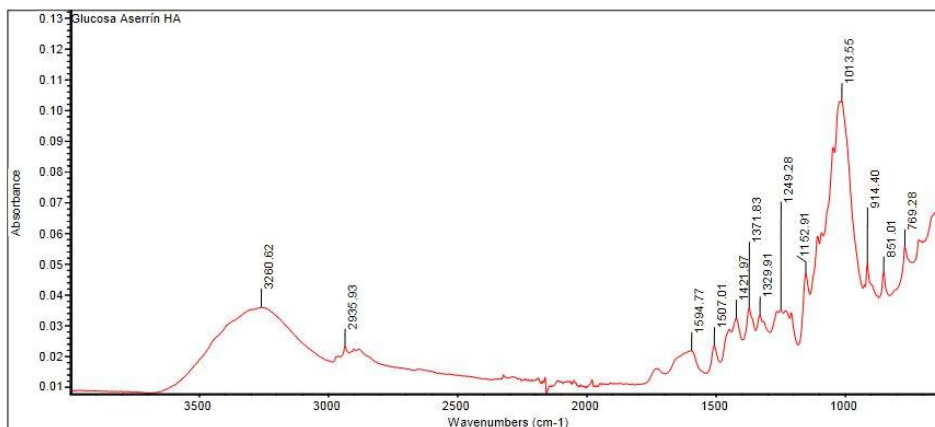
FIND PEAKS:

Spectrum: Glucosa Aserrin HE
 Region: 3999.81 811.10
 Absolute threshold: -0.006
 Sensitivity: 70

Position:	Intensity:
1034.85	0.0148
1207.98	0.0360
1381.41	0.0375
1564.38	0.0726
1638.40	0.134
2113.95	0.0129
3244.81	0.193

Figura 52. Imagen FTIR glucosa obtenida aserrín

Fuente: Autoras



Thu Apr 01 11:31:48 2021 (GMT-05:00)

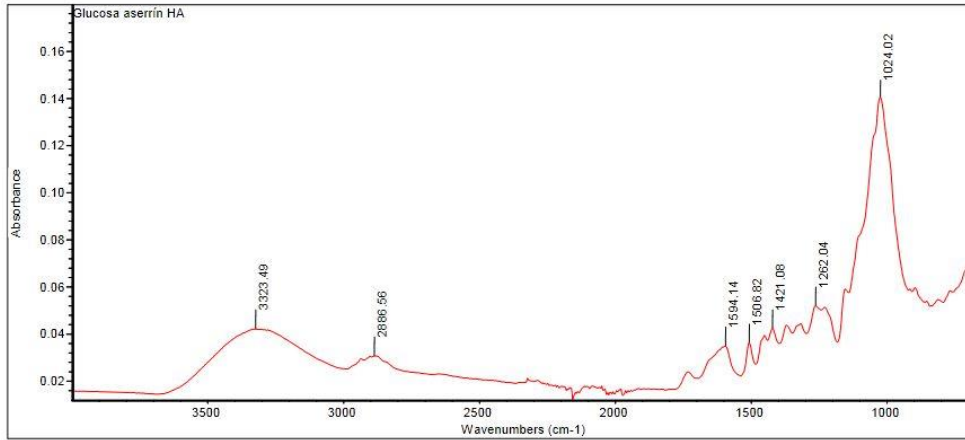
FIND PEAKS:

Spectrum: Glucosa Aserrin HA
 Region: 3999.81 611.86
 Absolute threshold: 0.008
 Sensitivity: 45

Position:	Intensity:
769.28	0.0557
851.01	0.0476
914.40	0.0502
1013.55	0.103
1152.91	0.0469
1249.28	0.0351
1329.91	0.0334

Figura 53. Imagen FTIR glucosa obtenida aserrín

Fuente: Autoras



Thu Apr 01 11:28:04 2021 (GMT-05:00)

FIND PEAKS:

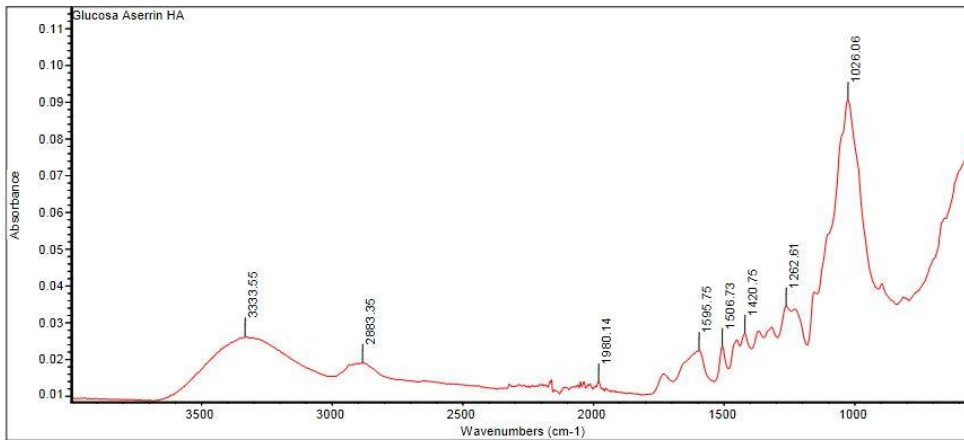
Spectrum: Glucosa aserrin HA
 Region: 3999.81 679.62
 Absolute threshold: 0.016
 Sensitivity: 50

Peak list:

Position	Intensity
1024.02	0.140
1262.04	0.0520
1421.08	0.0423
1506.82	0.0362
1594.14	0.0347
2886.56	0.0306
3323.49	0.0421

Figura 54. Imagen FTIR glucosa obtenida aserrin

Fuente: Autoras



Thu Apr 01 11:34:42 2021 (GMT-05:00)

FIND PEAKS:

Spectrum: Glucosa Aserrin HA
 Region: 3999.81 542.72
 Absolute threshold: 0.009
 Sensitivity: 50

Peak list:

Position	Intensity
1026.06	0.0905
1262.61	0.0345
1420.75	0.0271
1506.73	0.0235
1595.75	0.0223
1980.14	0.0140
2883.35	0.0190

Figura 55. Imagen FTIR glucosa obtenida aserrin

Fuente: Autoras

Anexo 12. Absorbancias obtenidas en el espectro UV visible para cuantificar glucosa

	Mode	Sample	Comment	Conc.	Abs	540.0 nm
1	Blank-1					-0.0796
2	Blank-2					0.1845
3	Blank-3					0.0556
4	Sample-4			57.4868	1.1785	1.1785
5	Sample-6			43.2535	0.917149	0.9171
6	Sample-7			36.2437	0.788436	0.7884
7	Sample-8			86.7807	1.71639	1.7164
8	Sample-10			55.8666	1.14875	1.1488
9	Sample-11			65.567	1.32687	1.3269
10	Sample-12			57.5917	1.18042	1.1804
11	Sample-13			28.4633	0.645573	0.6456

Imagen 30. Concentración de azúcares reductores

Fuente: Autoras

	Mode	Sample	Comment	Conc.	Abs	540.0 nm
1	Blank-1					0.0000
2	Sample-6			39.5078	0.848371	0.8484
3	Sample-9			53.2283	1.10031	1.1003
4	Sample-11			33.4806	0.737699	0.7377
5	Sample-14			34.7824	0.761603	0.7616
6	Sample-18			39.5766	0.849634	0.8496
7	Sample-21			51.4619	1.06787	1.0679
8	Sample-22			49.5873	1.03345	1.0335
9	Sample-24			53.3449	1.10244	1.1024

Imagen 31. Concentración de azúcares reductores

Fuente: Autoras

	Mode	Sample	Comment	Conc.	Abs	540.0 nm
1	Blank-1					0.0022
2	Sample-2			92.5543	1.8224	1.8224
3	Sample-3			129.109	2.49361	2.4936
4	Sample-4			156.881	3.00357	3.0036
5	Sample-6			142.27	2.73527	2.7353
6	Sample-8			121.965	2.36245	2.3625
7	Sample-9			134.153	2.58623	2.5862

Imagen 32. Concentración de azúcares reductores

Fuente: Autoras

	Mode	Sample	Comment	Conc.	Abs	540.0 nm
1	Blank-1					-0.0617
2	Blank-2					0.0239
3	Sample-2			158.236	3.02844	3.0284
4	Sample-3			153.386	2.93939	2.9394
5	Sample-4			151.636	2.90726	2.9073
6	Sample-6			140.995	2.71186	2.7119
7	Sample-7			146.351	2.81021	2.8102
8	Sample-8			145.165	2.78843	2.7884
9	Sample-9			161.948	3.0966	3.0966
10	Sample-10			155.356	2.97556	2.9756
11	Sample-13			152.804	2.92871	2.9287
12	Sample-15			152.925	2.93092	2.9309

Imagen 33. Concentración de azúcares reductores

Fuente: Autoras

Anexo 13. Datos obtenidos en el proceso de hidrólisis ácida

Tabla 37. Datos hidrólisis ácida

CONCENTRACION CONSTANTE 60%- ASERRIN

Gr	tiempo(min)	T°	fehling	t fehling (sg)	glucosa (mg/L)
1	10	100	No	10	0,000
1	15	90	No	10	0,000
1	20	80	No	10	0,000
1	25	70	Si	7	0,038
1	30	60	Si	6	0,039
1	35	50	Si	6	0,040
1	40	40	Si	6	0,040
1	45	30	Si	6	0,040

Fuente: Autoras

Tabla 38. Datos hidrólisis ácida

TIEMPO CONSTANTE -ASERRIN 15min

Gr	T°	H2SO4	fehling	t fehling (sg)	glucosa (mg/L)
1	30	96	Si	10	0,032
1	40	90	Si	6	0,030
1	50	80	SI	6	0,033
1	60	70	SI	7	0,035
1	70	60	Si	7	0,037
1	80	50	Si	7	0,039
1	90	40	Si	7	0,041
1	100	30	Si	7	0,043

Fuente: Autoras

Tabla 39. Datos hidrólisis ácida

TEMPERATURA CONSTANTE -ASERRIN 90°C

Gr	tiempo(min)	fehling	t fehling (sg)	glucosa (mg/L)
1	10	Si	7	0,033
1	15	Si	7	0,035
1	20	Si	6	0,036
1	25	Si	6	0,035
1	30	Si	6	0,035
1	35	Si	6	0,036
1	40	Si	6	0,036
1	45	Si	6	0,036

Fuente: Autoras

Tabla 40. Datos hidrólisis ácida

CONCENTRACION CONSTANTE 60%-PAPEL

Gr	tiempo(min)	T°	fehling	t fehling (sg)	glucosa (mg/L)
1	10	100	No	10	0,000
1	15	90	No	5	0,000
1	20	80	Si	3	0,095
1	25	70	Si	3	0,098
1	30	60	Si	3	0,102
1	35	50	Si	3	0,103
1	40	40	Si	3	0,104
1	45	30	Si	3	0,104

Fuente: Autoras

Tabla 41. Datos hidrólisis ácida

TIEMPO CONSTANTE -PAPEL 15min

Gr	T°	fehling	t fehling (sg)	glucosa (mg/L)
1	30	Si	7	0,099
1	40	Si	7	0,098
1	50	Si	6	0,102
1	60	Si	6	0,109
1	70	Si	6	0,115
1	80	Si	6	0,118
1	90	Si	6	0,120
1	100	Si	6	0,120

Fuente: Autoras

Tabla 42. Datos hidrólisis ácida

TEMPERATURA CONSTANTE -PAPEL 90°C

Gr	tiempo(min)	fehling	t fehling (sg)	glucosa (mg/L)
1	10	Si	10	0,098
1	15	Si	7	0,106
1	20	Si	6	0,110
1	25	Si	7	0,113
1	30	Si	7	0,116
1	35	Si	7	0,116
1	40	Si	7	0,120
1	45	Si	7	0,123

Fuente: Autoras

Anexo 14. Datos obtenidos en el proceso de hidrólisis enzimática

Tabla 43. Datos hidrólisis enzimática

ASERRÍN

PRUEBA

1

Gr	T °C	tiempo (h)	tiempo (min)	fehling	enzima (ul)	t fehling (sg)	glucosa (mg/l)
1	50	72	4320	Si	315	6	0,034
1	50	72	4320	Si	315	6	0,048
1	50	72	4320	Si	315	6	0,058
1	50	72	4320	Si	315	6	0,053
1	50	72	4320	Si	315	6	0,045
1	50	72	4320	Si	315	5	0,050
1	50	72	4320	Si	315	5	0,051

Fuente: Autoras

Tabla 44. Datos hidrólisis enzimática

PRUEBA
2

Gr	T °C	tiempo (h)	tiempo (min)	fehling	enzima (ul)	t fehling (sg)	glucosa (mg/l)
1	50	96	5760	Si	315	6	0,057
1	50	96	5760	Si	315	6	0,058
1	50	96	5760	Si	315	6	0,057
1	50	96	5760	Si	315	6	0,057
1	50	96	5760	Si	315	6	0,058
1	50	96	5760	Si	315	6	0,060
1	50	96	5760	Si	315	6	0,059

Fuente: Autoras

Tabla 45. Datos hidrólisis enzimática

PRUEBA
3

Gr	T °C	tiempo (h)	tiempo (min)	fehling	enzima (ul)	t fehling (sg)	glucosa (mg/l)
1	45	72	4320	Si	315	5	0,053
1	45	72	4320	Si	315	5	0,055
1	45	72	4320	Si	315	5	0,056
1	45	72	4320	Si	315	4	0,056
1	45	72	4320	Si	315	4	0,054
1	45	72	4320	Si	315	5	0,055
1	45	72	4320	Si	315	5	0,054

Fuente: Autoras

Tabla 46. Datos hidrólisis enzimática

PRUEBA
4

Gr	T °C	tiempo (h)	tiempo (min)	fehling	enzima (ul)	t fehling (sg)	glucosa (mg/l)
1	55	72	4320	Si	400	5	0,058
1	55	72	4320	Si	400	5	0,056
1	55	72	4320	Si	400	5	0,058
1	55	72	4320	Si	400	6	0,057
1	55	72	4320	Si	400	6	0,057
1	55	72	4320	Si	400	6	0,057
1	55	72	4320	Si	400	6	0,058

Fuente: Autoras

Tabla 47. Datos hidrólisis enzimática

PRUEBA
5

Gr	T °C	tiempo (h)	tiempo (min)	fehling	enzima (ul)	t fehling (sg)	glucosa (mg/l)
1	45	96	5760	Si	400	5	0,049
1	45	96	5760	Si	400	5	0,047
1	45	96	5760	Si	400	5	0,049
1	45	96	5760	Si	400	5	0,048
1	45	96	5760	Si	400	5	0,050
1	45	96	5760	Si	400	5	0,053
1	45	96	5760	Si	400	5	0,052

Fuente: Autoras

Tabla 48. Datos hidrólisis enzimática

PRUEBA
6

Gr	T °C	tiempo (h)	tiempo (min)	fehling	enzima (ul)	t fehling (sg)	glucosa (mg/l)
1	50	48	2880	Si	400	5	0,053
1	50	48	2880	Si	400	5	0,055
1	50	48	2880	Si	400	5	0,055
1	50	48	2880	Si	400	5	0,056
1	50	48	2880	Si	400	5	0,055
1	50	48	2880	Si	400	4	0,056
1	50	48	2880	Si	400	4	0,056

Fuente: Autoras

PAPEL

Tabla 49. Datos hidrólisis enzimática

PRUEBA 1

Gr	T °C	tiempo (h)	tiempo (min)	fehling	enzima (ul)	t fehling (sg)	glucosa (mg/l)
1	50	72	4320	Si	315	5	0,155
1	50	72	4320	Si	315	5	0,102
1	50	72	4320	Si	315	5	0,134
1	50	72	4320	Si	315	6	0,120
1	50	72	4320	Si	315	6	0,155
1	50	72	4320	Si	315	6	0,150
1	50	72	4320	Si	315	6	0,152

Fuente: Autoras

Tabla 50. Datos hidrólisis enzimática

PRUEBA

2

Gr	T °C	tiempo (h)	tiempo (min)	fehling	enzima (ul)	t fehling (sg)	glucosa (mg/l)
1	50	96	5760	Si	315	6	0,153
1	50	96	5760	Si	315	6	0,145
1	50	96	5760	Si	315	6	0,153
1	50	96	5760	Si	315	6	0,160
1	50	96	5760	Si	315	6	0,165
1	50	96	5760	Si	315	6	0,159
1	50	96	5760	Si	315	6	0,162

Fuente: Autoras

Tabla 51. Datos hidrólisis enzimática

PRUEBA

3

Gr	T °C	tiempo (h)	tiempo (min)	fehling	enzima (ul)	t fehling (sg)	glucosa (mg/l)
1	45	72	4320	Si	315	5	0,158
1	45	72	4320	Si	315	5	0,153
1	45	72	4320	Si	315	5	0,152
1	45	72	4320	Si	315	5	0,141
1	45	72	4320	Si	315	5	0,146
1	45	72	4320	Si	315	5	0,145
1	45	72	4320	Si	315	5	0,148

Fuente: Autoras

Tabla 52. Datos hidrólisis enzimática

PRUEBA

4

Gr	T °C	tiempo (h)	tiempo (min)	fehling	enzima (ul)	t fehling (sg)	glucosa (mg/l)
1	55	72	4320	Si	400	5	0,158
1	55	72	4320	Si	400	5	0,158
1	55	72	4320	Si	400	6	0,156
1	55	72	4320	Si	400	6	0,152
1	55	72	4320	Si	400	6	0,150
1	55	72	4320	Si	400	5	0,152
1	55	72	4320	Si	400	5	0,160

Fuente: Autoras

Tabla 53. Datos hidrólisis enzimática

PRUEBA 5

Gr	T °C	tiempo (h)	tiempo (min)	fehling	enzima (ul)	t fehling (sg)	glucosa (mg/l)
1	45	96	5760	Si	400	5	0,093
1	45	96	5760	Si	400	5	0,098
1	45	96	5760	Si	400	5	0,116
1	45	96	5760	Si	400	6	0,119
1	45	96	5760	Si	400	6	0,121
1	45	96	5760	Si	400	6	0,117
1	45	96	5760	Si	400	6	0,112

Fuente: Autoras

Tabla 54. Datos hidrólisis enzimática

PRUEBA

6

Gr	T °C	tiempo (h)	tiempo (min)	fehling	enzima (ul)	t fehling (sg)	glucosa (mg/l)
1	50	48	2880	Si	400	5	0,147
1	50	48	2880	Si	400	5	0,147
1	50	48	2880	Si	400	5	0,136
1	50	48	2880	Si	400	5	0,142
1	50	48	2880	Si	400	5	0,158
1	50	48	2880	Si	400	5	0,146
1	50	48	2880	Si	400	5	0,150

Fuente: Autoras