

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN AGROECOLOGÍA

MENCIÓN: GESTIÓN AMBIENTAL



**PRODUCCIÓN DE GLUCOSA A PARTIR DE RESIDUOS
LIGNOCELULÓSICOS DE CAJONERÍAS**

Tesis para optar el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN AGROECOLOGÍA,

MENCIÓN: GESTIÓN AMBIENTAL

SUSAN FILLOMENA RÍOS PÉREZ

Tingo María – Perú

2021



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
ESCUELA DE POSGRADO
DIRECCIÓN



"AÑO DEL BICENTENARIO DEL PERÚ: 200 AÑOS DE INDEPENDENCIA"

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS
Nro. 011-2021-EPG-UNAS

En la ciudad universitaria, siendo las 03:30 p.m. del sábado 05 de junio de 2021, reunidos virtualmente vía Microsoft Teams, se instaló el Jurado Calificador a fin de proceder a la sustentación de la tesis titulada:

“PRODUCCIÓN DE GLUCOSA A PARTIR DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS DE CAJONERÍAS”

A cargo de la candidata al Grado de Maestro en Ciencias en Agroecología, mención Gestión Ambiental **SUSAN FILLOMENA RÍOS PÉREZ**.

Luego de la exposición y absueltas las preguntas de rigor, el Jurado Calificador procedió a emitir su fallo declarando **APROBADO** con el calificativo de **MUY BUENO**.

Acto seguido, a horas 06:50 p.m. el presidente dio por culminada la sustentación; procediéndose a la suscripción de la presente acta por parte de los miembros del jurado, quienes dejan constancia de su firma en señal de conformidad.

Dr. CÉSAR SAMUEL LÓPEZ LÓPEZ
Presidente del Jurado

Ing. MSc. EDILBERTO DIAZ QUINTANA
Miembro del Jurado

Ing. MSc. DAVID PRUDENCIO QUISPE JANAMPA

Miembro del Jurado

Dra. TANÍA ELIZABETH GUERRERO VEJARANO

Asesora



VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

OFICINA DE INVESTIGACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

REGISTRO DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO ACADÉMICO

DE MAESTRO, INVESTIGACION DOCENTE Y TESISISTA

I. DATOS GENERALES DE POSGRADO

Universidad : Universidad Nacional Agraria de la Selva

Escuela de posgrado : EPG-UNAS

Maestría : Agroecología

Mención : Gestión Ambiental

Título de la tesis : **PRODUCCIÓN DE GLUCOSA A PARTIR DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS DE CAJONERÍAS.**

Autor : Susan Fillomena Ríos Pérez

Asesor : Dra. Tania Elizabeth Guerrero Vejarano

Programa de investigación : Ciencia y Tecnologías Ambientales

Línea de investigación : Tecnologías para reducir la contaminación

Eje temático de investigación: Desarrollo de nuevas tecnologías para reducción de la contaminación ambiental

Lugar de ejecución : Laboratorio de Fitoquímica Forestal de la UNAS

Duración **Fecha de inicio** :23 de diciembre 2019
Fecha de término :15 de diciembre de 2020

Financiamiento

Propio	:	S/.3 163.60
FEDU	:	No
Otros	:	No

DEDICATORIA

A Dios por ser el guía de mi vida, por proteger siempre a mi familia, porque él es mi sostén frente a cada paso que doy.

A mis amados padres Warren Ríos García y Lina Pérez Llanos con mucho amor y gratitud por todo su apoyo incondicional brindado, son el motor y motivo de mi existir.

A mi hermano Warren Bross por ser la alegría de mis días, para quien deseo pueda triunfar en todo lo que se proponga en la vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi alma máter, Universidad Nacional Agraria de la Selva, por ser forjadora de mi carrera profesional.

A los docentes de la Escuela de Posgrado de la Maestría en Ciencias en Agroecología – Mención Gestión ambiental por sus consejos y enseñanzas que contribuyeron en mi especialización.

A la Dra. Tania Elizabeth Guerrero Vejarano, asesora de la presente investigación, por su valiosa orientación y tiempo dedicado en el desarrollo y culminación de la investigación.

Al M. Sc. Edilberto Díaz Quintana por el apoyo brindado para la culminación de esta investigación.

A Ornan por ser mi apoyo incondicional en todo momento.

A las personas que directa e indirectamente participaron y contribuyeron en la ejecución de la presente investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivo general.....	2
1.2 Objetivos específicos.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Residuos lignocelulósicos de cajonerías (aserrín)	3
2.1.1. Celulosa	3
2.1.2. Hemicelulosa	4
2.1.3. Lignina	4
2.2. Temperatura	5
2.3. Concentración de ácido.....	5
2.4. Tiempo	6
2.5. Glucosa	6
2.5.1. Producción de glucosa a partir de residuos lignocelulósicos.....	7
2.6. Pretratamientos	8
2.6.1. Pre hidrólisis ácida	8
2.6.2. Hidrólisis ácida	10
2.6.3. Hidrólisis ácida diluida	11
2.6.4. Parámetros de la hidrólisis	12

2.6.5.Hidrólisis ácida de biomasa lignocelulósica.....	12
2.7. Antecedentes	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1. Lugar de ejecución	20
3.2. Ubicación geográfica	21
3.3. Materiales.....	21
3.4. Equipos	21
3.5. Reactivos.....	22
3.6. Metodología.....	22
3.6.1. Caracterización de residuos lignocelulósicos de cajonerías.....	22
3.6.2. Determinación de parámetros óptimos: Concentración de ácido (% v/v), temperatura (°C), y tiempo (minutos) para producir glucosa.....	26
3.7. Diseño experimental.....	28
3.7.1. Tipo de diseño	28
3.7.2. Análisis de datos estadísticos.....	28
3.7.3. Tratamientos.....	29
3.7.4. Esquema del diseño experimental.....	30
3.7.5. Variables evaluadas	3
3.7.6. Factores a evaluar.....	3
3.7.7. Esquema del análisis de varianza (ANVA)	32

IV.	RESULTADOS.....	34
4.1.	Caracterización de residuos lignocelulósicos de cajonerías.....	34
4.2.	Determinación de parámetros óptimos (temperatura, concentración de H ₂ SO ₄ y tiempo) para producir glucosa.....	35
V.	DISCUSIÓN.....	43
5.1.	De la caracterización de residuos lignocelulósicos de cajonerías.....	43
5.2.	De la determinación de parámetros óptimos (concentración de H ₂ SO ₄ , temperatura, y tiempo) para producir glucosa.....	45
VI.	CONCLUSIONES.....	48
VII.	RECOMENDACIONES.....	49
VIII.	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	50
	ANEXOS.....	58

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadros	Página
1. Descripción de los tratamientos investigados.	29
2. Esquema ANVA	32
3. Caracterización de residuos lignocelulósicos.....	34
4. Datos obtenidos para estándares de glucosa	35
5. Descriptivos de la cantidad de glucosa (mg) a partir de residuos lignocelulósicos.	37
6. Análisis de varianza (ANVA) para la producción de glucosa en mg.....	38
7. Determinación de contenido de humedad.....	59
8. Determinación de k para cenizas.....	59
9. Determinación de cenizas	59
10. Determinación de solubilidad de residuos lignocelulósicos en alcohol – benceno (extractivos).....	60
11. Determinación de k de la muestra 1 para solubilidad de residuos lignocelulósicos en alcohol – benceno (extractivos).....	60
12. Determinación de solubilidad de residuos lignocelulósicos en alcohol – benceno (extractivos).....	61
13. Determinación de k de la muestra 2 para solubilidad de residuos lignocelulósicos en alcohol – benceno (extractivos).....	61
14. Determinación de Celulosa por método de Kurscher y Hoffner	62
15. Determinación de k para celulosa	62
16. Determinación de Lignina (método del H ₂ SO ₄).....	62
17. Determinación de k para lignina.....	63

18. Preparación de estándares de glucosa.....	63
19. Lectura de ácidos sin contacto con el residuo lignocelulósico.	64
20. Repetición 1: Lecturas obtenidas del pretratamiento H ₂ SO ₄ al 3% + lectura de H ₂ SO ₄ al 15. 20, 25%.....	65
21. Repetición 2: Lecturas obtenidas del pretratamiento H ₂ SO ₄ al 3% + lectura de H ₂ SO ₄ al 15. 20, 25%.....	70
22. Repetición 3: Lecturas obtenidas del pretratamiento H ₂ SO ₄ al 3% + lectura de H ₂ SO ₄ al 15. 20, 25%.....	71
23. Cantidad de glucosa en mg/ g de aserrín	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Estructuras lineal y cíclica de la glucosa.....	7
2. Efectos del pretratamiento sobre el material lignocelulósico.....	10
3. Hidrólisis con ácido diluido.....	14
4. Ubicación del Laboratorio de Fitoquímica Forestal.....	20
5. Curva de calibración.....	36
6. Producción de glucosa en mg en distintas concentraciones.....	39
7. Producción de glucosa en mg en distintas temperaturas.....	40
8. Producción de glucosa en mg en distintos tiempos.....	41
9. Comparación de medias de la interacción (Concentración*temperatura*tiempo).....	42
10. Secado de residuos lignocelulósicos de cajonerías.....	69
11. Determinación de contenido de humedad.....	69
12. Colocado de muestras a la estufa para determinación de contenido de humedad.....	70
13. Determinación de cenizas.....	70
14. Calcinado de muestra para determinación de cenizas.....	71
15. Preparación de mezcla benceno - alcohol.....	71
16. Instalación de equipo Soxhlet para determinación de extractivos.....	72
17. Muestra de residuo lignocelulósico después de extracción a reflujo.....	72
18. Tamizaje de muestra de residuos lignocelulósicos en malla 40/60.....	73
19. Retiro del sobrenadante para determinación de celulosa.....	73
20. Filtrado de muestra con agua desionizada para determinar celulosa.....	74

21. Muestra en estufa para determinación de celulosa.	74
22. Preparación de ácidos para determinación de lignina.....	75
23. Enfriamiento de muestra para determinar lignina.....	75
24. Ligera ebullición de muestra para posterior filtración	76
25. Filtración de muestra para determinación de lignina.....	76
26. Colocación en estufa de papel filtro con muestra para determinación de lignina.....	77
27. Muestra de glucosa para preparación de estándares.	77
28. Preparación de estándares de glucosa	78
29. Pre tratamiento para obtención de glucosa.....	78
30. Hidrólisis ácida de residuos lignocelulósicos.....	79
31. Lectura de glucosa (mg) por tratamiento	79

RESUMEN

En la investigación, se caracterizó y evaluó muestras de residuos lignocelulósicos de cajonerías, mediante hidrólisis ácida realizada en laboratorio, con el objetivo de determinar la producción de glucosa a partir de estos residuos. Previamente en la caracterización, se determinó que estos residuos contienen los siguientes porcentajes respecto a su composición: contenido de humedad de 7.253%, cenizas de 1.2002%, extraíbles de 16.177%, celulosa de 41.58% y lignina de 25.28%. Para determinar la cantidad de glucosa, se utilizó 1 g de residuo lignocelulósico a quienes se aplicaron pretratamientos con 10 ml de H₂SO₄ al 3% y para la hidrólisis ácida se agregó 10 ml de H₂SO₄ al 15, 20 y 25%, con temperaturas de 120°C y 140°C y tiempos de 60, 90 y 120 minutos, según correspondan los 18 tratamientos. Luego de la hidrólisis ácida, se realizaron las lecturas dentro de la región ultravioleta en el equipo espectrofotométrico, para conocer la cantidad de glucosa en mg. Los resultados mostraron que se obtiene mayor cantidad de glucosa a una concentración de H₂SO₄ al 25% con un promedio de 31.28 mg. Por este motivo se concluyó que los parámetros para obtener glucosa a partir de residuos lignocelulósicos son: concentración de H₂SO₄ al 25%, temperatura de 120°C y tiempo de 60 minutos, ya que los demás parámetros investigados generan resultados estadísticamente iguales.

Palabras claves: Residuo lignocelulósico, caracterización, hidrólisis, equipo espectrofotométrico, glucosa.

ABSTRACT

For the research, samples of lignocellulosic waste from woodshops was characterized and evaluated through acid hydrolysis in a laboratory, with the objective of determining the glucose production from the waste. Before this, from the characterization it was determined that this waste contains the following percentages, with respect to its composition: 7.253% moisture content, 1.2002% ash, 16.177% extractables, 41.58% cellulose and 25.28% lignin. In order to determine the glucose quantity, 1 g of lignocellulosic waste was used, to which pre-treatments of 10 ml of H₂SO₄ at 3% were done, and for the acid hydrolysis, 10 ml de H₂SO₄ at 15, 20, and 25% were added, with temperatures of 120°C and 140°C, and times of 60, 90 and 120 minutes; as indicated by the corresponding eighteen treatments. After the acid hydrolysis, readings were done within the ultraviolet region of the spectrophotometric equipment in order to find the quantity of glucose in milligrams. The results revealed that a greater quantity of is obtained at a 25% concentration of H₂SO₄, with an average of 31.28 mg. Due to this, it is concluded that the parameters for obtaining glucose from lignocellulosic waste are: a 25% concentration of H₂SO₄ al 25%, at a temperature of 120°C and a time of 60 minutes, since the rest of the parameters that were research generated statistically equivalent results.

Keywords: lignocellulosic waste, characterization, hydrolysis, spectrophotometric equipment, glucose.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la generación de residuos de las actividades de la industria maderera se considera un problema ambiental y para la salud de las personas en el mundo. El aserrín es un producto altamente estable con escasas alternativas de uso para elaboración de biocombustibles, su acumulación plantea un grave problema de contaminación en los suelos en los que se deposita. También puede producir enfermedades como asma, bronquitis crónica entre otros problemas respiratorios relacionados con las alergias, puede causar dermatitis, cáncer de pulmón y nasal. Tradicionalmente se usa la incineración como una opción para minimizar su acumulación, pero su combustión aporta a la emisión de más de 200 compuestos orgánicos potencialmente peligrosos a la atmósfera tales como hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), que vienen a ser potencialmente mutagénicos y cancerígenos. También se sabe que los biocombustibles se elaboran a partir de residuos orgánicos, esto debido a la necesidad de proteger el ambiente, conservar los recursos renovables y no renovables, extender el potencial de uso de los productos forestales y especialmente los productos derivados que corresponde mayormente a biomasa lignocelulósica rica en celulosa y hemicelulosa entre el 75 - 80% que se produce en diversos procesos agroindustriales, cuya disposición final representa una gran incertidumbre ambiental, que pese a su complicada degradación por procesos físicos y/o biológicos, es posible dividirlos para desplegarlos

químicamente en azúcar monosacárido (glucosa) para su posterior conversión en etanol. Por lo expuesto, una alternativa para solucionar el problema de contaminación puede ser convertir los residuos lignocelulósicos de las cajonerías que causa muchos problemas, en glucosa, que se puede transformar en etanol, dando así un valor agregado a estos residuos y solucionar el problema actual de la contaminación.

En ese contexto se realizó el trabajo de investigación, bajo la inquietud de responder la siguiente interrogante: ¿Cuáles serán los parámetros (concentración de ácido, temperatura y tiempo) para obtener glucosa a partir de residuos lignocelulósicos de cajonerías? Asimismo, nos planteamos como hipótesis: sí, se puede producir glucosa a partir de residuos lignocelulósicos de cajonerías a una concentración de ácido sulfúrico de 25% v/v, temperatura de 140° C y tiempo de 120 minutos.

1.1 Objetivo general

- Determinar los parámetros para producir glucosa a partir de residuos lignocelulósicos de cajonerías.

1.2 Objetivos específicos

- Caracterización de residuos lignocelulósicos de cajonerías.
- Determinar los parámetros (concentración de ácido, temperatura y tiempo) para producir glucosa a partir de residuos lignocelulósicos de cajonerías.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Residuos lignocelulósicos de cajonerías (aserrín)

El aserrín es un residuo obtenido del proceso de aserrado de la madera, que se obtiene en un aserradero o similar. Es importante conocer que son extremadamente dañinos para el ambiente. Hay muchos expertos e instituciones a nivel mundial y local, incluida la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), que han estado advirtiendo sobre los efectos contaminantes del aserrín para el suelo y el agua (SCIF, s.f.).

Estos desechos tienen tres tipos de polímeros dentro de sus componentes tales como celulosa, hemicelulosa y lignina (Fengel y Wegener, 1984) envueltos en una estructura compleja. Estos tipos de componentes son muy comunes en la naturaleza (SCIF, s.f.).

2.1.1. Celulosa

La celulosa es el compuesto orgánico que abunda en la naturaleza, tiene gran consideración biológica y es un polímero de beneficio industrial (Imai *et al.*, 2003). Químicamente, es un polímero formado por D-glucosa que se encuentra unido entre sí por enlaces β -1,4; una disposición que lo hace estable, además de los enlaces de hidrógeno que unen sus moléculas y le confiere sus distinguidas propiedades como material estructural de la pared celular. El uso y

transformación como fuente de diversos productos se ha analizado a lo largo de los años. Esta molécula y sus fuentes se han vuelto muy atractivas desde la perspectiva energética ya que se puede descomponer para obtener glucosa y su posterior fermentación etanólica. Este proceso puede resultar simple, pero el efecto de los productos de degradación es limitado dependiendo del grado de orden cristalino del polímero y la severidad del tratamiento de extracción que se puede proporcionar a la biomasa. La degradación se produce por hidrólisis ácida, que suele tener un alto rendimiento, o por la acción de agregados enzimáticos con rendimientos más discretos (Vidal y Colom, 1988).

2.1.2. Hemicelulosa

Son carbohidratos que componen una compleja estructura polimérica y ramificada constituida por el enlace de varias unidades de azúcares: Pentosas, hexosas y ácidos de estos azúcares. La hemicelulosa estila ser un polímero con un peso molecular más bajo que la celulosa y se hidroliza de manera más práctica debido a su amorfa estructura predominante. Al igual que la celulosa, las hemicelulosas se han identificado como fuente de azúcares (Fernández y Bolaños, 2001). También sirve como la unión entre la lignina y las fibras de celulosa lo que proporciona toda la rigidez a la red de celulosa, hemicelulosa y lignina (Laureano *et al.*, 2005).

2.1.3. Lignina

Es el segundo componente más común, es un polímero ramificado, amorfo y heterogéneo formado por unidades de fenilpropano (p-cumaril, coniferil y alcohol de sinapil) unidos por varios tipos de enlaces. Su función es mantener

juntas a la celulosa y las hemicelulosas en el área estructural (Fernández y Bolaños, 2001).

2.2. Temperatura

La temperatura es una cantidad física que representa la intensidad de calor o frío del cuerpo humano, objeto o ambiente medido por un termómetro. Generalmente se mide en grados Celsius ($^{\circ}\text{C}$), Fahrenheit ($^{\circ}\text{F}$) o unidades de temperatura absoluta como Kelvin (K). El cero absoluto (0 K) corresponde a $-273,15^{\circ}\text{C}$ (Laureano *et al.*, 2005).

Es un factor muy importante en los procesos químicos que podemos alcanzar a través de diferentes equipos que son de uso útil especialmente en los laboratorios. El instrumento más conocido para medir la temperatura es el termómetro (Laureano *et al.*, 2005).

2.3. Concentración de ácido

El ácido es una sustancia que incrementa la concentración de iones de hidrógeno dentro de una solución. Para formar una sal se usa en combinación con una base. Por otro lado, el concepto de ácido (del latín *acidus*) se refiere al ácido con sabor agraz o vinagre (Laureano *et al.*, 2005).

El ácido sulfúrico es obtenido del dióxido de azufre. La fórmula molecular del compuesto es H_2SO_4 , que se considera que es uno de los elementos de este tipo más producidos en el mundo porque se emplea con mucha frecuencia en el campo industrial, especialmente en el refinamiento de fertilizantes. Su talento corrosivo es una de las características fundamentales de este ácido y además

se caracteriza por actuar de manera muy agresiva cuando entra en contacto con el agua, por lo que siempre se sugiere extremar las precauciones al utilizarlo y manipularlo para evitar quemaduras, entre otros factores (Laureano *et al.*, 2005).

El término concentración cuantifica la cantidad de compuesto disuelto en una solución. La concentración molar es el indicador utilizado con mayor frecuencia para cuantificar la concentración y mostrar el número de moles de sustancias disueltas en un litro de solución (Laureano *et al.*, 2005).

2.4. Tiempo

El término tiempo se utiliza para denominar la magnitud física que se utiliza para medir la duración de las cosas que son capaces de variar. Cuando los objetos cambian de un estado a otro y el observador nota esto, el período se puede cuantificar como tiempo. Es un factor, a menudo indispensable, que interviene en muchas investigaciones sobre el aprovechamiento de residuos lignocelulósicos para determinar un tiempo óptimo en el cual se pueda obtener resultados favorables (Laureano *et al.*, 2005).

2.5. Glucosa

Es un monosacárido que presenta 6 átomos de carbono, es decir, es una hexosa que tiene como fórmula molecular $C_6H_{12}O_6$. Contiene un grupo aldehído (el grupo carbonilo se encuentra en el extremo de la molécula) y por ello, es perteneciente al grupo de las aldosas (Morales, 2015).

Tiene dos enantiómeros, D-glucosa y L-glucosa, que son representaciones especulares entre sí, pero en la naturaleza, solo la D-glucosa

es dominante o más conocida en la industria alimentaria con el nombre de glucosa (Morales, 2015).

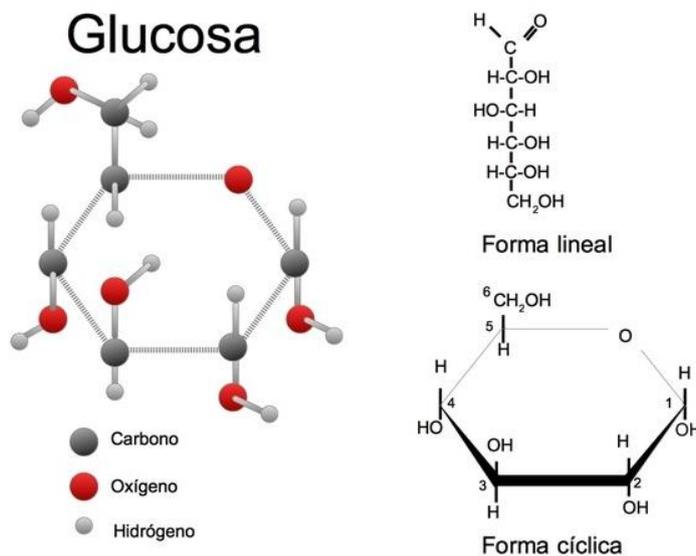


Figura 1. Estructuras lineal y cíclica de la glucosa.

2.5.1. Producción de glucosa a partir de residuos lignocelulósicos

Se requieren varias etapas para asegurar la producción de glucosa. La hidrólisis completa de la celulosa conduce a la glucosa, mientras que la de las hemicelulosas conduce a las pentosas y hexosas. La hidrólisis de celulosa puede ser catalizada por ácidos (Tahezadeh y Karimi, 2007a) o por enzimas (Tahezadeh y Karimi, 2007b).

La mayor parte de la glucosa de la lignocelulosa se encuentra en los polímeros cristalinos de celulosa. También contiene hemicelulosa, pero en forma de copolímeros de glucosa, xilosa y otros. Sin embargo, la lignina, que es el tercer componente principal de la lignocelulosa, dificulta los procesos de

hidrólisis porque está formada por un polímero aromático complejo. Por tanto, es necesario incorporar tratamientos de hidrólisis que reduzcan la formación de compuestos inhibidores que afecten al proceso de fermentación (Morales, 2015).

2.6. Pretratamientos

A causa de que el material lignocelulósico por naturaleza es complicado de hidrolizar por la relación reducida que existe entre los polímeros de celulosa – hemicelulosa – lignina y a la cristalinidad de la celulosa, es imprescindible desarrollar métodos preliminares al proceso de hidrolizado para incrementar la capacidad del material lignocelulósico frente al ataque del ácido (Cunningham, 1994).

Además, el período de pretratamiento aumenta la posibilidad económica de los procesos de hidrólisis debido a que aumentan la degradación del material lignocelulósico en términos de rendimientos a azúcares simples y de tiempo de reacción (Cunningham, 1994).

Entre los efectos fundamentales de los pretratamientos se encuentran los de remover parcial o totalmente la lignina y hemicelulosa, disminuir la cristalinidad de la celulosa y el tamaño de partícula del residuo lignocelulósico (Cunningham, 1994). Existen tratamientos físicos, químicos y biológicos, que alcanzan los efectos, antes mencionados, en diferentes proporciones (Cunningham, 1994).

2.6.1. Prehidrólisis ácida

El pretratamiento es importante para permitir un mejor proceso de hidrólisis y fermentación cuando se utiliza biomasa lignocelulósica en la producción de bioetanol (Abril y Abril, 2009). Los pretratamientos tradicionales

involucran el uso de soluciones diluidas de H_2SO_4 , generalmente del 1% a 5% a temperaturas de 120°C a 160°C (Ballesteros *et al.*, 2008). En el caso de los pretratamientos ácidos, a parte de la hidrólisis, también se producen reacciones de condensación y exclusión, que conducen a la formación de sustancias tóxicas para las levaduras como el hidroximetilfurfural. El pretratamiento con ácido sulfúrico es uno de los más utilizados porque es sencillo (Larsson *et al.*, 1999).

El objetivo del pretratamiento es eliminar la lignina, hidrolizar la hemicelulosa en azúcares fermentables y reducir la cristalinidad de la celulosa para liberar la glucosa. En el pretratamiento idóneo de material lignocelulósico, se pueden distinguir tres etapas, que se muestran en esta figura:

- (a) Alterar el revestimiento de lignina.
- (b) Dejar al descubierto y retirar la hemicelulosa.
- (c) Minimizar y suprimir la cristalinidad de la fracción de celulosa.

La Figura 2 muestra estas etapas en dos pasos: el paso 1 corresponde a los puntos (a) y (b), y el paso 2 está representado por el punto (c). Es importante indicar que la mayor parte de los procedimientos de pretratamiento sólo ejecutan el paso 1, más no el paso 2. En cualquier caso, el paso 2 es de mucha importancia ya que reduce los tiempos y las tensiones sobre la enzima requerida para la hidrólisis eficiente del material.

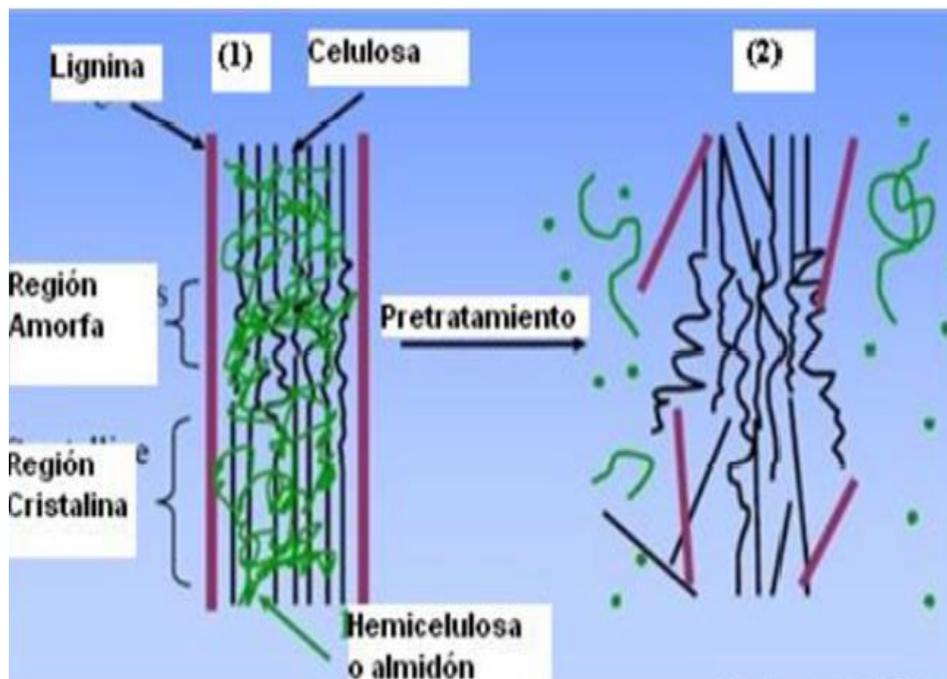


Figura 2. Efectos del pretratamiento sobre el material lignocelulósico

2.6.2. Hidrólisis ácida

Es un proceso químico que aplica ácidos catalizadores para modificar prolongadas cadenas de polisacáridos en sus manómeros elementales. El resultado final que se obtiene muestra una fracción líquida y otra sólida, la primera es rica en azúcares fermentables y la segunda se forma de celulosa y lignina (Morales, 2015). Los ácidos que con frecuencia se usan en este tipo de hidrólisis son el ácido sulfúrico, nítrico, fosfórico y clorhídrico, que pueden ser concentrado o diluido. Según García (citado por Venkateswar *et al.*, 2016), en la hidrólisis ácida, el ácido más utilizado es el H_2SO_4 , por ser menos volátil, no corroe a los equipos y tiene precios más cómodos que otros ácidos. Las condiciones de concentración y temperatura son variables. La hidrólisis de celulosa tanto cristalina como amorfa produce unidades de glucosa, pero el proceso para la fracción de celulosa amorfa es mucho más simple (Cunningham, 1994).

2.6.3. Hidrólisis ácida diluida

García *et al.*, (2013) mencionan que la hidrólisis ácida diluida con H₂SO₄ es la que con frecuencia se utiliza para la despolimerización de la hemicelulosa a sus azúcares monoméricos.

Taherzadeh y Karimi (citado por Chandel *et al.*, 2012) mencionan en su investigación que en la hidrólisis ácida diluida de residuos forestales, los parámetros como la concentración de ácido, temperatura, tiempo, y la relación sólido-líquido juegan un papel crucial en la producción para recuperar de manera óptima los azúcares fermentables y producción mínima de inhibidores.

Chandler *et al.*, (2012) mencionan que la hidrólisis ácida diluida además de consumir una cantidad menor de ácido, muestra una notoria solubilidad de la hemicelulosa, lo que posibilita la transformación del sustrato que se desea tratar, en azúcares fermentables. El tiempo y la temperatura son factores importantes, en vista de que pueden originar compuestos de degradación como el furfural e hidrometilfurfural y los compuestos fenólicos.

Romero (2003) menciona que en el momento que se utilizan ácidos concentrados, pese a que presenta una temperatura baja, la estructura cristalina de la celulosa se fractura de manera más fácil. Esto no acontece con ácido diluido, aquí, es preciso utilizar temperaturas elevadas para que los azúcares puedan degradarse con facilidad. El ácido diluido tiene como finalidad hidrolizar la porción de biomasa que es amorfa, como la celulosa y principalmente, la hemicelulosa.

2.6.4. Parámetros de la hidrólisis

La concentración de azúcares en el hidrolizado está establecida por el contenido de sólidos en la mezcla de reacción, es decir, por la razón sólido-líquido. El tamaño de partícula es un agente de mucha importancia cuando se realiza procesos de hidrólisis a causa de que la velocidad de reacción asciende con la disminución de éste. Además, cuando se manipula pequeños tamaños de partícula se incrementa la cantidad de sólidos en capacidad de manipular y reducir las dificultades de bombeo, a la vez de disminuir el tiempo de calentamiento de la mezcla a la temperatura de reacción (Cunningham, 1994).

2.6.5. Hidrólisis ácida de biomasa lignocelulósica

La biomasa lignocelulósica, derivada de la parte estructural de las plantas, se puede hidrolizar en componentes químicos, que a su vez se pueden utilizar como fuentes de carbono renovables para producir biocombustibles y compuestos químicos. En secciones anteriores se investigó que la biomasa lignocelulósica se compone principalmente de celulosa, hemicelulosa y lignina. La descomposición de estos conduce a la formación de compuestos químicos que pueden usarse para fabricar biocombustibles y compuestos químicos.

El enfoque conceptual de despolimerizar la celulosa en monómeros de azúcar es similar a los métodos utilizados en las refinerías de petróleo tradicionales para producir combustible y productos químicos durante décadas. Por lo tanto, se cree que, en el futuro, diferentes plataformas de biorrefinación (termoquímica, lípidos y / o bioquímica) pueden proporcionar biocombustibles y productos bioquímicos renovables para reemplazar, al menos parcialmente, los

biocombustibles y bioquímicos obtenidos a partir de productos de recursos fósiles. Solo mediante el uso efectivo de biomasa lignocelulósica y micro algas para producir biocombustibles a gran escala se podrán desarrollar biocombustibles de segunda y tercera generación. Estas fuentes de biomasa no pueden competir directamente con la producción de alimentos, como ciertos biocombustibles de primera generación, producción de maíz, caña de azúcar y soja (Morales, 2015).

Uno de los cuellos de botella más importantes en el uso de biomasa lignocelulósica es la dificultad de hidrolizar la celulosa de manera eficiente y económica. Los enlaces β -glucosídicos de las moléculas de azúcar contenidas en la celulosa o lignocelulosa son muy fuertes. Además, se encontró que la celulosa en la materia prima forma una estructura de cadena de celulosa en las microfibras, y la cadena de celulosa pasa mucho hidrógeno entre ellas. Los puentes están conectados entre sí, lo que dificulta su hidrolización (Morales, 2015).

La forma más fácil de hidrolizar químicamente la celulosa en glucosa es utilizar un catalizador ácido. Los polímeros de celulosa están compuestos de monómeros de glucopiranosilo conectados por enlaces β - (1,4) glicosídicos, que pueden escindirse en presencia de catalizadores ácidos. La hidrólisis de celulosa catalizada químicamente ha pasado por múltiples etapas de renacimiento, combinadas con la etapa de fermentación biocatalítica de vez en cuando, para convertir los azúcares en compuestos químicos secundarios. Desde un punto de vista industrial, el proceso más importante es el uso de ácidos minerales concentrados o diluidos (principalmente ácido sulfúrico) para la hidrólisis. La

ventaja de este método sobre la hidrólisis enzimática es su alta tasa de hidrólisis. Sin embargo, dependiendo de las condiciones de reacción, la glucosa se puede convertir en otras moléculas más pequeñas, reduciendo así el rendimiento. Además, algunos productos de degradación de la glucosa también actúan como inhibidores de la bioconversión de azúcares obtenidos en la obtención de etanol, por ejemplo, en la etapa de fermentación (Morales, 2015).

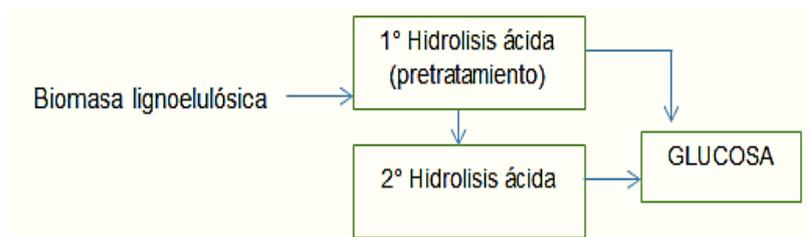


Figura 3. Hidrólisis con ácido diluido.

2.7. Antecedentes

Cortínez (2010) menciona que el propósito de su investigación fue determinar los resultados de tres pretratamientos: Ácido diluido, álcali diluido y líquido iónico sobre residuos forestales de Lenga (*Nothofagus pumilio*) y Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bajo condiciones óptimas. El primer árbol fue seleccionado por ser un nativo muy grande y el segundo por su alto potencial de plantación en Chile. Los pretratamientos alcalinos y ácidos se comparan con los pretratamientos líquidos iónicos. Con Lenga y Eucalyptus se utilizaron los tres métodos mencionados anteriormente para el pretratamiento y luego la hidrólisis enzimática de la materia sólida resultante. Seguidamente, se evaluó la liberación de azúcares totales y monómeros específicos después del pretratamiento y después de la hidrólisis enzimática. Para el pretratamiento con ácido y álcali, se

utilizó H_2SO_4 a una temperatura de 120°C durante 30 y 60 minutos a concentraciones de 0,50%, 0,75%, 1% y 1,25% (v/v), respectivamente. Para el pretratamiento alcalino, se utilizó NaOH al 2% (v/v) durante 60 minutos a una temperatura de 120°C . En el pretratamiento de líquidos iónicos, se utiliza [emim]⁺ [Cl]⁻ y [A336]⁺ [OH]⁻ a 80°C , 120°C y 150°C durante 30 minutos y 60 minutos. Finalmente, para la hidrólisis enzimática se utilizó la celulasa comercial Celluclast 1.5 L (Novo Co., Denmark) y Novozyme 188 (Novo Co., Denmark), con cargas enzimáticas de 102 FPU/g y 147 CBU/g, respectivamente. Los resultados adquiridos muestran que, en comparación con el material no tratado, todos los pretratamientos utilizados aumentan el rendimiento de la hidrólisis enzimática y la eficiencia de la velocidad de reacción en términos de obtención de azúcares reductores. Además, también se encontró que, en comparación con otros pretratamientos, el rendimiento del pretratamiento ácido fue bajo. El mejor resultado para Lenga fue $T = 120^\circ\text{C}$, $t = 30$ minutos, 1% (v/v) H_2SO_4 y Eucalipto es $T = 120^\circ\text{C}$, $t = 30$ minutos, 1% (v/v) H_2SO_4 , con un rendimiento de 30% y 27% respectivamente, con una relación glucosa/xilosa de 7/93%. En este caso, las condiciones de hidrólisis ácida de Lenga fue una temperatura de 120°C con tiempo de 60 minutos y H_2SO_4 al 0,75% (v/v); para el eucalipto, las condiciones de hidrólisis ácida fue una temperatura de 120°C con tiempo de 60 minutos y H_2SO_4 al 1% (v/v). Por el contrario, si la fermentación es de glucosa, el pretratamiento con líquidos iónicos es el más efectivo, donde las condiciones de operación para Lenga son $T = 150^\circ\text{C}$, $t = 30$ min y las condiciones de operación de Eucalyptus son $T = 150^\circ\text{C}$, $t =$ en 60 minutos, la tasa de conversión relativa al azúcar teórico fue 40% y 29% respectivamente y la proporción xilosa/glucosa

de 25/75%.

Lis *et al.*, (2000) utilizaron ácido clorhídrico y ácido sulfúrico como agentes hidrolizantes para la paja de arroz, y el contenido máximo de glucosa en el jarabe preparado fue de 12 g/L. Monsalve y Ruíz (2006) usó cáscara de plátano para producir jarabe de glucosa por hidrólisis ácida, el contenido de glucosa es de 20 g/L, la tasa de conversión es del 15%; Ferrer *et al.*, (2002) logró una tasa de conversión del 22% en la hidrólisis ácida del bagazo; Aguilar y Canizales (2004) efectuaron el estudio cinético sobre la hidrólisis ácida de la cáscara de cebada y encontraron que la tasa de conversión estaba entre 23% y 59% trabajando con diferentes concentraciones de ácido sulfúrico prolongan el tiempo de reacción; Boutros *et al.*, (2005), en la hidrólisis ácida del bagazo, el H₂SO₄ concentrado se trata en una etapa y otra de modificación, la tasa de conversión está entre 50% y 88%. Finalmente, según Moya *et al.*, (2007), el uso de ácido fosfórico para la hidrólisis ácida de residuos de poda de olivo, la tasa de conversión se encuentra entre el 10% y el 20%.

Ixcotoyac (2013) analizó el efecto de dos temperaturas, 120°C y 140°C con cuatro concentraciones de H₂SO₄ (0, 5, 7 y 10%) en el pretratamiento ácido para la hidrólisis de los elementos de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y lignina) del aserrín de *Pinus spp.*, y la obtención de azúcares fermentables y del inhibidor de levadura 5-hidroximetilfurfural. Se investigó un factorial 2x4 con un diseño de parcelas divididas, las temperaturas fueron las parcelas principales y las concentraciones de H₂SO₄ las subparcelas. La fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina se establecieron antes y después del tratamiento ácido para calcular los cambios en celulosa, hemicelulosa y lignina.

El reconocimiento y cuantificación de azúcares y 5 hidroximetilfurfural se realizó mediante HPLC. Los resultados se pudieron analizar en el programa estadístico SAS® mediante un análisis de varianza y separación de medias, mediante LSMeans. La concentración de ácido, la temperatura e interacción de ambos mostraron efecto significativo sobre la obtención de azúcares, la formación de 5-hidroximetilfurfural, la despolimerización de celulosa y hemicelulosa, pero no para el caso de lignina. El tratamiento de 140°C y H₂SO₄ al 5% cumplió el propósito del pretratamiento hidrolizando la hemicelulosa total, sin pasar el límite de 5-hidroximetilfurfural. El tratamiento más riguroso fue con 140°C y H₂SO₄ al 10%, ya que produjo la mayor cantidad de azúcares y la cantidad de 5-hidroximetilfurfural que se formó estuvo dentro del límite de tolerancia de los microorganismos fermentadores (*S. cerevisiae*, *E. coli* LY180 y *K. marxianus*). Los monómeros de azúcar producidos fueron glucosa, manosa y galactosa.

Rojas y Chávez (2019) determinó el efecto de la concentración de ácido sulfúrico y el tiempo de reacción en la hidrólisis de peladilla de espárrago (*Asparagus officinalis* L.) y brácteas de alcachofa (*Cynara scolymus* L.) para la producción de xilosa, como una opción de aprovechamiento de los residuos agroindustriales; para ello se definieron tres etapas: caracterización, hidrólisis y cuantificación de azúcares. Luego de la caracterización de la materia prima, es preciso la adaptación del material (secado, triturado y tamizado) y por consiguiente el establecimiento de extractivos, cenizas, lignina, celulosa: alfa, beta, gamma y sólidos totales; esta etapa se pudo determinar la composición de cada residuo. En la hidrólisis ácida diluida, se analizó concentraciones de ácido sulfúrico al 1%, 4% y 7% y tiempos de reacción de 20, 50 y 80 minutos, fijando

la temperatura a 121°C y la relación sólido-líquido de 1:32; esto se efectuó en un autoclave a 10 bar de presión. El cálculo de azúcares se efectuó en el UHPLC (High Performance Liquid Chromatography), utilizando una columna Acquity UHPLC Beh Amide (2.1 x 150 mm, 1.1 µm), fase móvil: 80/20 acetonitrilo/agua con trietilamina (TEA) al 0.2%, con una neutralización anticipada y purificación con carbón activado. En las lecturas se lograron identificar xilosa, glucosa, fructosa y manosa. Las condiciones de hidrólisis que ejercieron un porcentaje mayor de xilosa fueron de 80 min y 7% de ácido, para el caso de peladilla de espárrago, se obtuvo un 5.51% en relación a base seca y de 20 min y 7% de ácido para las brácteas de alcachofa, obteniéndose 9.6% en relación a base seca, a lo que vienen a ser bajos porcentajes que dependen de la clase de materia prima y es muy probable que por interferencias en la cuantificación de azúcares, lo que puede deberse a una deficiente purificación del hidrolizado.

Moncada (2007) en su investigación realizó un proceso de hidrólisis de dos etapas con ácido sulfúrico concentrado y temperaturas bajas para producir azúcares fermentables de racimos vacíos de palma aceitera. Estos racimos fueron pretratados mecánicamente, en los que se esterilizan, secan, muelen y tamizan para prepararlos para el proceso de hidrólisis. La hidrólisis se realizó en dos etapas utilizando ácido sulfúrico concentrado y baja temperatura, en las que se evaluó el efecto del contenido de sólidos y el tiempo de hidrólisis sobre el porcentaje de azúcares reductores y glucosa. Por último, se estimó cualitativamente la presencia de furfural, inhibidor de *Saccharomyces cerevisiae*, en los hidrolizados obtenidos para cada uno de los niveles de tiempo de hidrólisis y para el mejor nivel de carga de sólidos. Esta prueba cualitativa posibilitó

confirmar que efectivamente se ha producido la reacción de descomposición de las pentosas. Se detectó que el tiempo de hidrólisis para producir la mayor proporción de azúcar reductor y glucosa fue de 40 minutos en la primera etapa y de 20 minutos en la segunda etapa. Por otro lado, la carga sólida a favor de la cantidad de azúcar reductor y glucosa fue de 5%. Finalmente, la prueba cualitativa de furfural confirmó su presencia en el hidrolizado.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El trabajo de investigación se efectuó en el laboratorio de Fitoquímica Forestal que se encuentra adscrita a la Escuela Profesional de Ingeniería Forestal de la Facultad de Recursos Naturales Renovables, Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicado políticamente en el distrito de Rupa Rupa, provincia Leoncio Prado y región Huánuco.

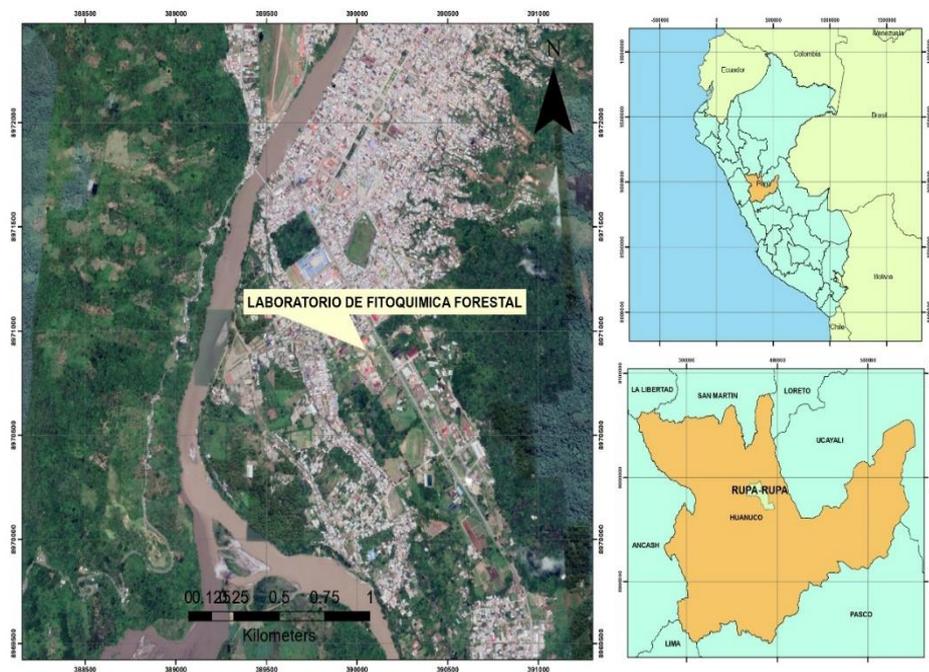


Figura 4. Ubicación del Laboratorio de Fitoquímica Forestal

3.2. Ubicación geográfica

Geográficamente se encuentra ubicado entre la latitud sur 09° 09' 00" y latitud oeste 75° 59' 00" y tiene como coordenadas UTM a: Este 390172 y Norte 8970793 y una altitud de 684 m.s.n.m.

3.3. Materiales

Residuos lignocelulósicos de cajonerías, mascarillas y guantes quirúrgicos, mandil de laboratorio, balanza de mano de 5 kg, vidrios de reloj, vasos de precipitado (50 ml, 150 ml, 250 ml, 1000 ml), crisol de porcelana, embudo Buchner, termómetro 200° C, pipetas (5 ml, 10 ml), probetas (50 ml, 100 ml), FPU (unidades de papel filtro), espátula, tubos de ensayo con rosca, gradilla de plástico, tamizadores de 40/60 de granulometría, placas petri, varilla agitadora, desecador, balón de fondo plano con cuello esmerilado (100 ml, 250 ml), fiola (10 ml, 25 ml, 50 ml, 100 ml), sobres de papel, soporte universal, parafilm (película de laboratorio), bomba o perilla de succión, pisetas, cubetas de cuarzo, pinzas, balón de fondo redondo con cuello esmerilado (100 ml, 200 ml), agua destilada, alcohol 96° C y guía de laboratorio.

3.4. Equipos

Mufla, cocina eléctrica, cocina eléctrica con agitador, baño maría, balanza electrónica digital, estufa eléctrica, equipo espectrofotométrico, equipo de extracción Soxhlet, sistema de ebullición a reflujo.

3.5. Reactivos

Ácido sulfúrico al 95%, ácido nítrico al 65%, benceno al 99.5%, cloruro de Bario al 99%, glucosa al 99.5%.

3.6. Metodología

3.6.1. Caracterización de residuos lignocelulósicos de cajonerías.

a. Determinación Contenido de humedad

La muestra de residuo lignocelulósico fue previamente secado a temperatura ambiente por 3 días, luego se procedió a tamizarla en la malla 40-60, posteriormente se realizó el pesaje de 3 vidrios de reloj y 5 g de muestra en los vidrios de reloj, después se colocaron las muestras en la estufa a $102^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, por 3 horas. Finalmente se retiró las muestras de la estufa y se trasladaron al desecador por 15 minutos para luego pesarlas.

$$\text{CH} = (\text{mh} - \text{ms})/(\text{mh}) \times 100$$

$$\text{K} = (100 - \text{CH})/100$$

Dónde:

K = Fracción de masa seca (masa seca/masa húmeda)

CH = Contenido de humedad

mh = Masa húmeda

ms = Masa seca a la estufa

b. Determinación de cenizas ISO R 1762

Se procedió a tamizar las muestras en una malla 40/60, posteriormente se pesaron 3 muestras de 5 g cada una en un crisol (Mcm), seguidamente se colocaron en la cocina eléctrica para calcinarlas, luego se colocaron en la mufla a 600°C por 24 horas para convertirse en cenizas, se sacaron las muestras para colocarlas en la estufa a 102°C ± 3°C por 3 horas y por último llevarlas al desecador por 15 minutos para luego ser pesadas. Finalmente, se determinó el porcentaje promedio de cenizas según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = [\text{MC}/\text{Mm}*(\text{K})] \times 100$$

Dónde:

MC = Masa del crisol con cenizas (McC) – masa del crisol (Mc)

Mm = Masa del crisol con la muestra (Mcm) – masa del crisol (Mc)

MC = Masa de cenizas

Mm = Masa de la muestra

c. Determinación de solubilidad de residuos lignocelulósicos en alcohol y benceno (Extractivos)

Se realizó el tamizaje con malla 40/60 de la muestra, luego se procedió a pesar el papel filtro conteniendo las grapas y la muestra, posteriormente se colocaron en la cámara central del equipo soxhlet, para ello se agregó 90 ml de mezcla de 30 ml de alcohol y 60 ml de benceno en un balón de fondo redondo con cuello esmerilado de 250 ml. Por consiguiente, se extrajo a reflujo por 5

horas. Luego se retiró la muestra para colocarla al aire libre por 24 horas para que se pueda eliminar todo el benceno y poder colocarla en la estufa. Culminado este tiempo, se procedió a colocar la muestra en la estufa por 3 horas a una temperatura de $102^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, finalmente se realizó su traslado al desecador por 15 minutos para luego pesarla.

$$\% \text{ Extraíbles} = [(Mm \cdot k - Mrs) / Mm \cdot k] \cdot 100$$

Donde:

Mm = Masa de la muestra

Mrs = Peso del residuo seco (sin extraíbles)

d. Determinación de celulosa por método de Kurscher y Hoffner

Se procedió a pesar 2 g (Mm) de la muestra extraída en alcohol y benceno, también un crisol filtrante, se separó una muestra para determinar k, posteriormente se colocó la muestra dentro de un balón de 250 ml y se agregó 10 ml de ácido nítrico y 40 ml de alcohol, dicho balón se conectó a un refrigerante a reflujo para someterlo a ebullición suave en baño maría por una hora, concluido este tiempo, se retiró el sobrenadante con una pipeta y se agregó nuevamente la solución nitroalcohólica para someterla a ebullición por una hora más, este procedimiento se repitió por tercera vez, luego se lavó 6 veces con agua destilada hasta que no contenga la solución nitroalcohólica, luego se extrajo todo el sobrenadante con una pipeta y se colocó la muestra en agua destilada por 24 horas. Por último, se colocó la muestra en la estufa a $102^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 3 horas, por consiguiente, se colocó al desecador por 15 minutos para luego pesarla.

$$\% \text{ Celulosa} = [\text{Mc}/(\text{Mh} \cdot k)] \cdot 100$$

Donde:

Mc = Masa de celulosa

Mh = Masa húmeda

e. Determinación de Lignina (Método del ácido sulfúrico)

Se utilizó 5 g (Mm) de la muestra extraída en alcohol y benceno para colocarlo en un vaso de precipitado de 250 ml y agregar 50 ml del ácido 1 (solución de H₂SO₄: con densidad de 1.48 g/ml), se agitó cuidadosamente con la ayuda de un agitador para obtener una mezcla homogénea, en este procedimiento la muestra se torna de color negro, próximamente se procedió a enfriar el contenido del vaso de 250 ml en un recipiente con agua y hielo, a continuación, se agregó de manera lenta 50 ml del ácido 2 (solución de H₂SO₄: con densidad de 1.77 g/ml) que fue sometido a reposo por 24 horas a una temperatura comprendida entre 5°C y 21°C. Después se enjuagó el contenido del vaso con la muestra con 50 ml de agua destilada para agregarlo en un vaso de 1000 ml que contiene 450 ml de agua destilada, por consiguiente, se sometió a ebullición durante 10 minutos, posteriormente se dejó enfriar para filtrar con un embudo Buchner provisto de 4 filtros superpuestos, enseguida se lava abundantemente para retirar el ácido retenido energéticamente por el insoluble.

Seguidamente, se agregó 5 g de cloruro de bario para poder controlar la eliminación completa del anión sulfato, a continuación, se introdujeron los papeles filtro conteniendo a muestra a la estufa a 102°C ± 3°C (MLp). Finalmente se retiró la muestra de la estufa y se colocó al desecador por 15 minutos.

$$\% \text{ Lignina} = [\text{MI}/\text{Mm} \cdot k] \cdot 100$$

Donde:

MI = Masa de lignina

Mm = Masa húmeda

3.6.2. Determinación de parámetros óptimos: concentración de ácido (% v/v), temperatura (°C), y tiempo (minutos) para producir glucosa

a. Pretratamiento: Prehidrólisis ácida

Se utilizó como muestra 1 g de residuo lignocelulósico, previamente tamizado en la malla 40/60 y retirado de la estufa, que fue tratada con 10 ml de solución de H₂SO₄ diluido al 3% v/v para agregarlo sobre la muestra en un balón fondo plano de cuello esmerilado de 250 ml. El pretratamiento se realizó mediante un sistema de ebullición a reflujo que se colocó sobre la cocina eléctrica, donde se mantuvo una temperatura fija de 120°C durante 60 minutos; luego se retiró el sobrenadante con una pipeta y se reservó en un tubo de ensayo, para luego determinar el contenido de glucosa mediante el método espectrofotométrico realizando las lecturas en la región ultravioleta.

Seguidamente se aforó en una fiola de 10 ml con agua destilada y 1 ml del sobrenadante para realizar las lecturas del pretratamiento, una vez obtenidas las lecturas con H₂SO₄ al 3% que tuvo contacto la muestra, se multiplicó por el factor de dilución (10), luego se realizaron las lectura de H₂SO₄ al 3% sin tener contacto con la muestra, se determinó la cantidad de glucosa por pretratamiento al restar las lecturas de H₂SO₄ al 3% en contacto con la muestra, con las lecturas de H₂SO₄ al 3% sin contacto con la muestra. Finalmente, la cantidad de glucosa

obtenida en el pretratamiento se expresó en mg, que luego se utilizó para poder determinar la cantidad de glucosa por tratamiento.

b. Hidrólisis ácida

El ácido empleado para esta hidrólisis fue H_2SO_4 diluido al 15, 20 y 25%, para ser agregado sobre la muestra que quedó en el balón del pretratamiento con H_2SO_4 diluido al 3%, acto seguido, se introdujo 10 ml de los ácidos mencionados en un balón de fondo plano con cuello esmerilado de 250 ml, se colocó en el sistema de ebullición a reflujo, que se sostuvo sobre la cocina eléctrica, durante 60, 90 y 120 minutos a 120°C y 140°C según corresponde cada tratamiento. Se retiró el líquido sobrenadante de los balones con una pipeta para ser colocados en tubos de ensayo, por último, se prepararon las muestras para determinar la cantidad de glucosa mediante el método espectrofotométrico realizando las lecturas en la región ultravioleta.

Se realizó el mismo procedimiento que se aplicó a los pretratamientos, a continuación, se realizó las lecturas para el H_2SO_4 al 15, 20 y 25% sin haber tenido contacto con la muestra, para finalmente restar las lecturas obtenidas de cada tratamiento con H_2SO_4 al 15, 20 y 25% en contacto con la muestra, con los datos de H_2SO_4 sin contacto con la muestra.

La cantidad de glucosa se determinó mediante la sumatoria de las lecturas obtenidas al 3% con las de 15, 20 y 25% según corresponde cada tratamiento. Finalmente, se obtuvo la cantidad de glucosa en mg por g de residuo lignocelulósico.

3.7. Diseño experimental

3.7.1. Tipo de diseño

Diseño de carácter experimental de estímulo creciente, aplicando el diseño completamente al azar (DCA) con arreglo trifactorial, 18 tratamientos. 3 repeticiones y 54 unidades experimentales e interactuándose concentraciones de ácido (15%, 20%, 25%), temperaturas (120°C, 140°C) y tiempos (60 minutos, 90 minutos y 120 minutos).

3.7.2. Análisis de datos estadísticos

Los datos fueron procesados en el software Microsoft Excel 2016, y analizados estadísticamente por SPSS Versión 22 de licencia libre, ejecutando un análisis de varianza (ANOVA) y posteriormente se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($\alpha=0.05$) para determinar las diferencias entre tratamientos.

Asimismo, los valores considerados para el coeficiente de variación se prosiguieron lo propuesto por Calzada (1976).

Coeficiente de variación, dispersión de datos o variable respuesta

$0 < CV \leq 10$ Excelente homogeneidad

$10 < CV \leq 15$ Muy buena homogeneidad

$15 < CV \leq 20$ Buena homogeneidad

$20 < CV \leq 25$ Regular homogeneidad

$25 < CV \leq 30$ Resultados variables

$CV > 30$ Resultados muy variables

3.7.3. Tratamientos

Se establecieron 18 tratamientos constituidos por concentración de ácido (15%, 20% y 25%), temperatura (120°C y 140°C) y tiempo (60, 90 y 120 minutos).

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos investigados.

Tratamientos	Concentración de H ₂ SO ₄ (%)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
T ₁	15	120	60
T ₂	15	120	90
T ₃	15	120	120
T ₄	15	130	60
T ₅	15	130	90
T ₆	15	130	120
T ₇	20	120	60
T ₈	20	120	90
T ₉	20	120	120
T ₁₀	20	130	60
T ₁₁	20	130	90
T ₁₂	20	130	120
T ₁₃	25	120	60
T ₁₄	25	120	90
T ₁₅	25	120	120
T ₁₆	25	130	60
T ₁₇	25	130	90
T ₁₈	25	130	120

3.7.4. Esquema del diseño experimental

15%						20%						25%					
120 °C			140 °C			120 °C			140 °C			120 °C			140 °C		
60 min.	90 min.	120 min.	60 min.	90 min.	120 min.	60 min.	90 min.	120 min.	60 min.	90 min.	120 min.	60 min.	90 min.	120 min.	60 min.	90 min.	120 min.
T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇	T ₈	T ₉	T ₁₀	T ₁₁	T ₁₂	T ₁₃	T ₁₄	T ₁₅	T ₁₆	T ₁₇	T ₁₈

3.7.5. Croquis de distribución de tratamientos

T ₂	T ₉	T ₁₆	T ₆	T ₁₈	T ₃	T ₁	T ₁₁	T ₁₂	T ₁₇	T ₁₃	T ₁₀	T ₇	T ₁₄	T ₈	T ₄	T ₅	T ₁₅
T ₁₂	T ₁₆	T ₁₃	T ₇	T ₃	T ₆	T ₂	T ₁₈	T ₁₁	T ₈	T ₁₅	T ₁₇	T ₁₄	T ₅	T ₁	T ₉	T ₄	T ₁₀
T ₁₄	T ₁₈	T ₁₇	T ₁₆	T ₁₅	T ₉	T ₄	T ₃	T ₈	T ₁	T ₇	T ₁₀	T ₂	T ₁₁	T ₁₃	T ₆	T ₅	T ₁₂

3.7.6. Variables evaluadas

- Independiente

Parámetros óptimos (concentración de ácido en % v/v, temperatura en °C y tiempo en minutos).

- Dependiente

Cantidad de glucosa (mg).

3.7.7. Factores a evaluar

Factor a = Concentración de ácido

a1 = 15%

a2 = 20%

a3 = 25%

Factor b = Temperatura

b1 = 120 °C

b2 = 140 °C

Factor c = Tiempo

c1 = 60 minutos

c2 = 90 minutos

c3 = 120 minutos

3.7.8. Esquema del análisis de varianza (ANVA)

Cuadro 2. Esquema ANVA

Fuente de variación	Grados de libertad
Concentración de ácido(A)	$a - 1 = 2$
Temperatura(B)	$b - 1 = 1$
Tiempo(C)	$c - 1 = 2$
Interacción(A*B)	$(a-1)*(b-1) = 2$
Interacción(A*C)	$(a-1)*(c-1) = 4$
Interacción(B*C)	$(b-1)*(c-1) = 2$
Interacción(A*B*C)	$(a-1)*(b-1)*(c-1) = 4$
Error	$abc(r-1) = 36$
TOTAL	53

$$Y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + c_k + ab_{ij} + ac_{ik} + bc_{jk} + abc_{ijk} + e_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} : Variable respuesta.

μ : Media poblacional

a_i : Concentración (15%, 20% y 25%).

b_j : Temperatura (120°C y 140° C).

c_k : Tiempo (60 min, 90 min y 120 min).

ab_{ij} : Interacción de la variable a y b, a niveles j, k.

ac_{ik} : Interacción de la variable a y c, a niveles j, l.

bc_{jk} : Interacción de la variable b y c, a niveles k, l.

abc_{jkl} : Interacción de la variable a, b y c, a niveles j, k, l.

e_{ijk} : Un componente del error aleatorio.

Características del experimento

Factor 1(A) : Concentración de ácido

Factor 2(B) : Temperatura

Factor 3(C) : Tiempo

Repeticiones : 3

Nº de unidades experimentales : 54

IV. RESULTADOS

4.1. Caracterización de residuos lignocelulósicos de cajonerías

Para la determinación de humedad, se analizaron 3 muestras, cada una de 5 g de residuo lignocelulósico y se obtuvo contenido de humedad promedio de 7.253%, en función de 2 muestras se obtuvo un porcentaje promedio de cenizas de 1.2002%. Para determinar la solubilidad de residuos lignocelulósicos en alcohol – benceno (extractivos), se realizó en función a 2 muestras y se obtuvo un promedio de 16.177% de extraíbles. En la determinación del porcentaje de celulosa contenida en la muestra, se pudo registrar un valor de 41.58%. Finalmente, se registró un valor de 25.28% para contenido de lignina (Cuadro 3).

Cuadro 3. Caracterización de residuos lignocelulósicos

Parámetro	Cantidad promedio (%)
Contenido de humedad	7.25
Cenizas	1.2
Extractivos	16.17
Celulosa	41.58
Lignina	25.28

4.2. Determinación de parámetros (concentración de H₂SO₄, temperatura, y tiempo) para producir glucosa

4.2.1. Curva de calibración para lectura de glucosa con el método espectrofotométrico

En primer lugar, se realizaron las lecturas de patrones de estándares de glucosa obtenido en el equipo espectrofotométrico marca ORION AQUAMATE 8000 y se obtuvo el siguiente resultado (Cuadro 4).

Cuadro 4. Datos obtenidos para estándares de glucosa

Glucosa (mg/L)	Absorbancia (195.0 nm)
0	0
5	0.767
10	0.966
15	0.351
20	0.505

Con estos valores como base se obtuvo la curva de calibración para determinar la concentración de glucosa (Figura 5).

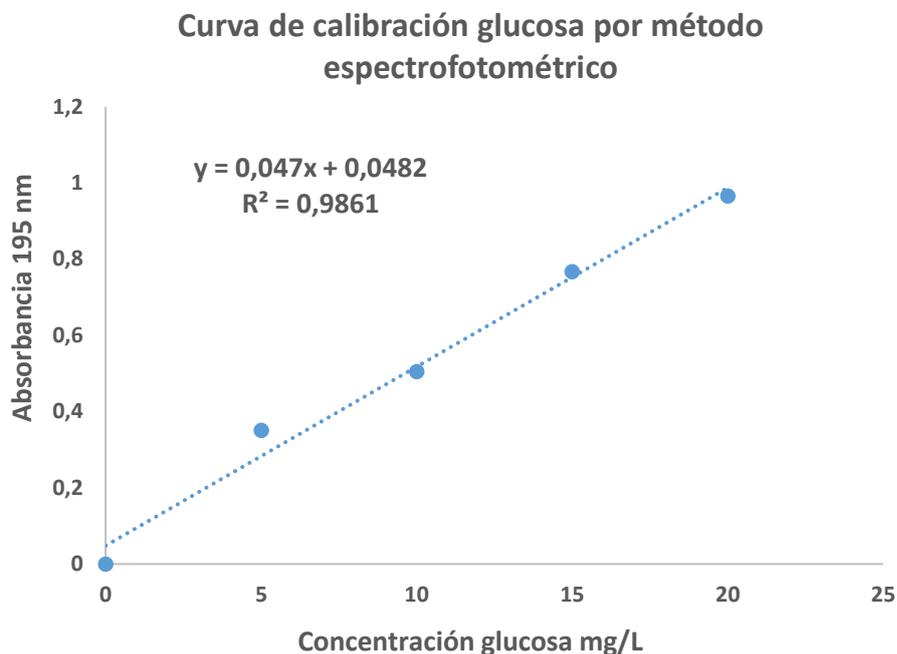


Figura 5. Curva de calibración

Para la preparación de la curva patrón de glucosa en el equipo espectrofotométrico ORION AQUAMATE 8000, se prepararon cuatro estándares de glucosa con concentraciones diferentes: 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm y una muestra en blanco. Se utilizaron cubetas de cuarzo para colocarlas y ser ubicadas en el haz del espectrofotómetro para ser leídas en la región ultravioleta obteniendo la curva de calibración con un coeficiente de determinación de 0.9861, lo cual demuestra la excelente relación entre la absorbancia y la concentración, finalmente se grabó en el equipo espectrofotómetro con el nombre de GLUCOSA 1 para posteriormente poder realizar las siguientes lecturas para el análisis de glucosa en mg/L de los tratamientos. Con la curva ya establecida se pudo realizar las lecturas de los líquidos sobrenadantes obtenidos luego del pretratamiento y de la hidrólisis ácida, se tomó 1 ml de líquido

sobrenadante para aforar en una fiola de 10 ml para luego ser colocadas en las cubetas de cuarzo y posteriormente llevadas al equipo espectrofotómetro para anotar las lecturas de glucosa por tratamiento.

Seguidamente en el cuadro 5 se registró un valor máximo de 31.47 ± 0.22 mg de glucosa en el tratamiento 15, seguido del tratamiento 18 con 31.39 ± 0.13 mg, el tratamiento con más baja cantidad de glucosa fue el tratamiento 4 con 30.43 ± 0.37 mg.

Cuadro 5. Descriptivos de la cantidad de glucosa (mg) a partir de residuos lignocelulósicos.

Concentración	Temperatura	Tiempo	Tratam	N	Media	E.E	C.V	Min	Max
15%	120° c	60 min	T ₁	3	30.66	0.22	1.24	30.34	31.08
		90 min	T ₂	3	30.68	0.04	0.2	30.61	30.72
		120 min	T ₃	3	30.53	0.31	1.74	30.08	31.11
	140° c	60 min	T ₄	3	30.43	0.37	2.11	29.72	30.97
		90 min	T ₅	3	30.61	0.38	2.13	29.88	31.12
		120 min	T ₆	3	30.92	0.25	1.38	30.45	31.28
20%	120° c	60 min	T ₇	3	31.24	0.57	3.15	30.21	32.17
		90 min	T ₈	3	31.02	0.15	0.84	30.82	31.31
		120 min	T ₉	3	30.95	0.23	1.3	30.7	31.41
	140° c	60 min	T ₁₀	3	31.03	0.3	1.67	30.45	31.43
		90 min	T ₁₁	3	31.38	0.04	0.21	31.3	31.43
		120 min	T ₁₂	3	31.16	0.14	0.77	30.92	31.4

25%	120° c	60 min	T ₁₃	3	31.07	0.06	0.32	30.96	31.15
		90 min	T ₁₄	3	31.32	0.22	1.21	31.06	31.75
		120 min	T ₁₅	3	31.47	0.22	1.23	31.11	31.88
	140° c	60 min	T ₁₆	3	31.15	0.21	1.18	30.73	31.4
		90 min	T ₁₇	3	31.3	0.08	0.44	31.15	31.42
		120 min	T ₁₈	3	31.39	0.13	0.73	31.15	31.61

Al realizar el análisis de varianza (Cuadro 6) con respecto a la producción de glucosa influenciada por la concentración de ácido sulfúrico (15%, 20%, 25%), temperatura (120°C, 140°C) y tiempo (60 min, 90 min, 120 min), donde sólo se registró diferencia altamente significativa para el factor concentración de ácido, lo cual se puede atribuir que la producción de glucosa es diferente a distintas concentraciones. El modelo presenta un coeficiente de variación de 1.42% teniendo una excelente homogeneidad de datos.

Cuadro 6. Análisis de varianza (ANVA) para la producción de glucosa en mg.

FV	SC	GL	CM	F	P-valor
Concentración	4.13	2	2.063	10.656	0.0002 ^{AS}
Temperatura	0.04	1	0.036	0.186	0.6685 ^{NS}
Tiempo	0.2	2	0.102	0.529	0.5937 ^{NS}
Concentración*Temperatura..	0.04	2	0.019	0.099	0.9061 ^{NS}
Concentración*tiempo	0.26	4	0.066	0.34	0.8488 ^{NS}
Temperatura*tiempo	0.21	2	0.104	0.537	0.589 ^{NS}
Concentración*Temperatura*tiempo	0.39	4	0.096	0.498	0.7371 ^{NS}
Error	6.97	36	0.194		
Total	12.23	53			

NS: No significativo; AS: Altamente significativo; cv: 1.42; R²: 0.43

En la Figura 6, se muestra la prueba de comparación de medias de Tukey al 95%, con respecto a los niveles de concentración de H_2SO_4 donde las concentraciones de 25% y 20% con 31.28 mg y 31.13 mg respectivamente, fueron superiores estadísticamente a la concentración de 15% con 30.64 mg

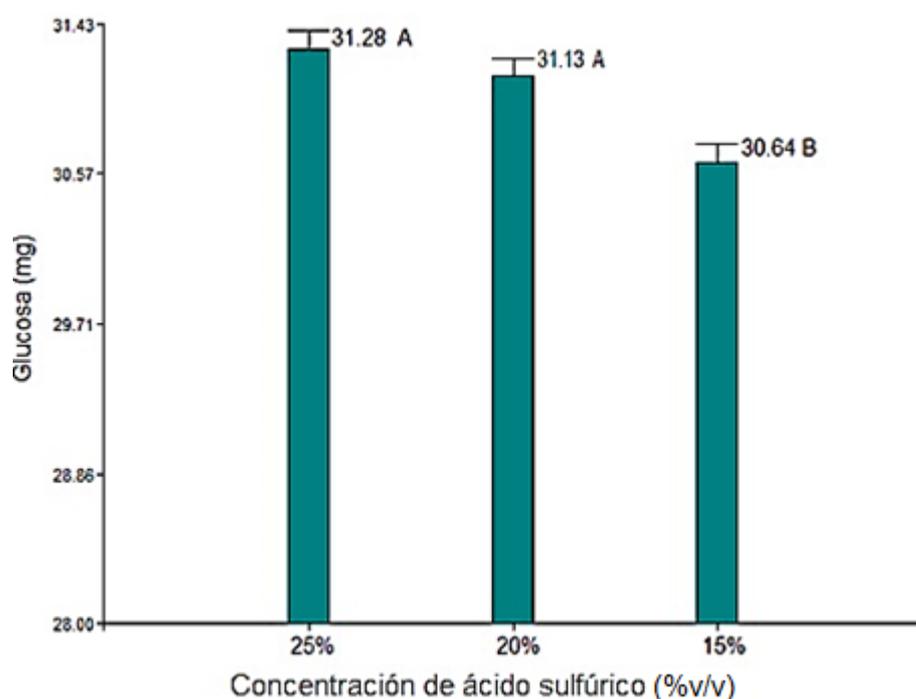


Figura 6. Producción de glucosa en mg en distintas concentraciones

Con respecto a la temperatura, en la Figura 7, se muestra la prueba de Tukey al 95% donde no hay evidencias significativas entre las distintas temperaturas, siendo similares estadísticamente; mientras, que al evaluar a una temperatura de 140 °C fue superior numéricamente con 31.04 mg, que a 120 °C con 30.99 mg.

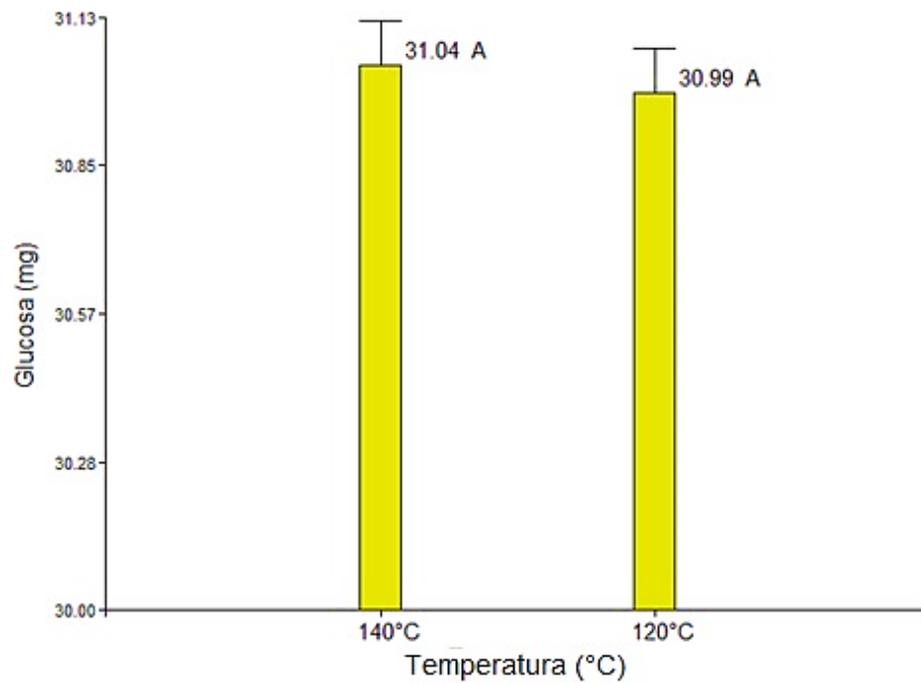


Figura 7. Producción de glucosa en mg en distintas temperaturas

Por otra parte, en la Figura 8, se muestra la prueba de comparación de medias de Tukey al 95% para el factor tiempo, donde no hay diferencias significativas a los distintos niveles de tiempos; sin embargo, a un tiempo de 90 min es numéricamente mayor con 31.07 mg que a los demás tiempos en estudio.

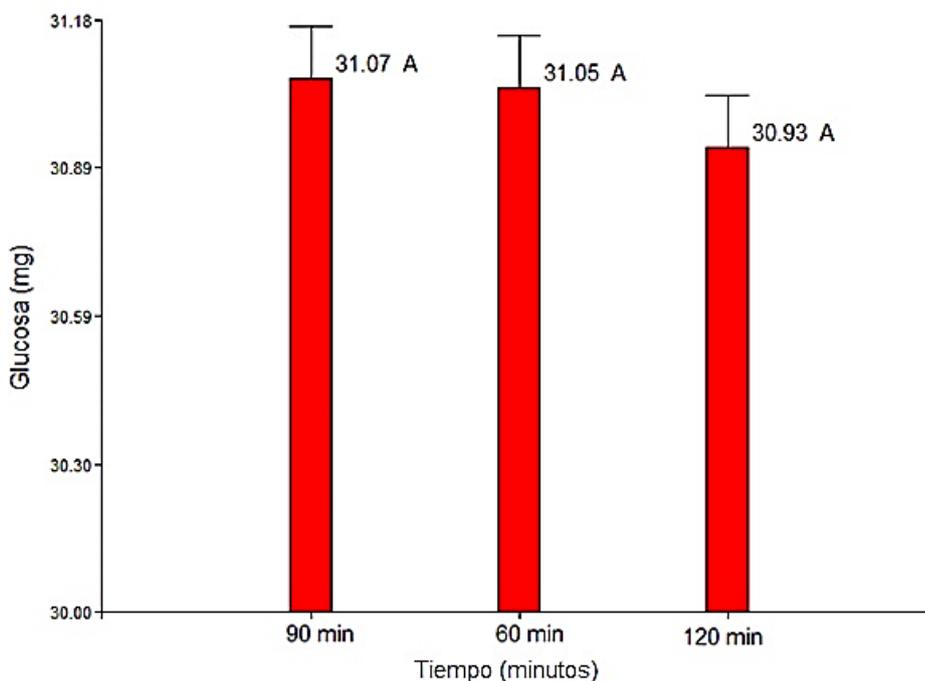
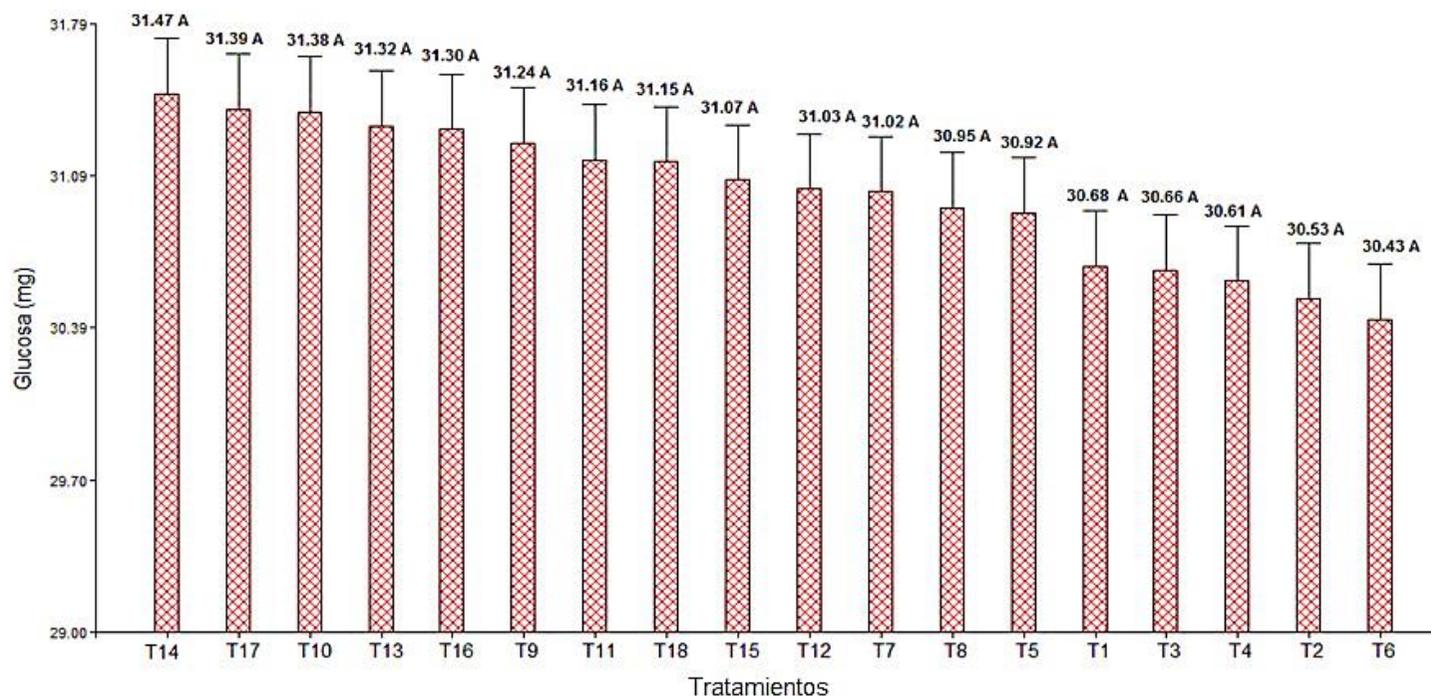


Figura 8. Producción de glucosa en mg en distintos tiempos

Con respecto a la Figura 9, se puede apreciar la prueba de comparación de medias de Tukey para la interacción de los factores (concentración de ácido, temperatura y tiempo), donde no hay diferencias significativas a los distintos niveles, al interactuar los factores se determinó que los tratamientos son iguales estadísticamente, pero numéricamente se puede apreciar que en el T₁₄ se obtiene mayor cantidad de glucosa (mg), sin embargo, si se desea reducir costos de producción, es recomendable utilizar el T₆ ya que se obtienen cantidades similares.



T ₁ =15%,120°C, 60 min	T ₂ =15%,120°C, 90 min	T ₃ =15%,120°C, 120 min	T ₄ =15%,140°C, 60 min	T ₅ =15%,140°C, 90 min	T ₆ =15%,140°C, 120 min
T ₇ =20%,120°C, 60 min	T ₈ =20%,120°C, 90 min	T ₉ =20%,120°C, 120 min	T ₁₀ =20%,140°C, 60 min	T ₁₁ =20%,140°C, 90 min	T ₁₂ =20%,140°C, 120 min
T ₁₃ =25%,120°C, 60 min	T ₁₄ =25%,120°C, 90 min	T ₁₅ =25%,120°C, 120 min	T ₁₆ =25%,140°C, 60 min	T ₁₇ =25%,140°C, 90 min	T ₁₈ =25%,140°C, 120 min

Figura 9. Comparación de medias de la interacción (Concentración*temperatura*tiempo)

V. DISCUSIÓN

5.1. De la caracterización de residuos lignocelulósicos de cajonerías

En la determinación de contenido de humedad de muestra de residuo lignocelulósico, se obtuvo 7.253%. Al respecto, Díaz (2005) menciona que la composición física y química determina el tipo de combustible o subproductos energéticos que se pueden producir, especialmente las cualidades físicas que inciden en el tratamiento anticipado que debe realizarse. Por lo tanto, esta biomasa debe caracterizarse en función del contenido de humedad, cenizas y celulosa; la lignina, entre otros aspectos, depende de la investigación a realizar. Por ello se tiene como base que para el caso del aserrín y de otros residuos madereros se reportan superiores valores de contenido de humedad al 7%, lo cual indica que el valor obtenido en esta investigación se encuentra dentro del rango adecuado.

En la determinación de porcentaje de cenizas obtenido fue de 1.2002%. Al respecto, nuestros datos concuerdan con Díaz (2005) quien menciona que de 0.5 a 2% se encuentra el contenido de cenizas para residuos madereros. El contenido de cenizas es un parámetro que nos ayuda a determinar rápidamente la calidad del biocombustible, por lo que altos valores son asociados a una reducción en el contenido energético y pueden afectar de manera negativa la combustión (Lu *et al.*, 2014).

Los resultados de la determinación de solubilidad de residuos lignocelulósicos en alcohol – benceno (extractivos) muestran valores de 16.177%, respecto a este valor, Ekman y Holmbom (citado por Domínguez, 2003), mencionan que, aunque estos compuestos muchas veces tienen las concentraciones más bajas, pueden interferir con la determinación de azúcares y tienen un efecto inhibitor en las últimas etapas de la fermentación, pero existen otros procedimientos que ayudan a evitarlos.

En esta investigación el contenido de celulosa es de 41,58%, lo que representa un porcentaje adecuado de toda su composición, pues se encuentra dentro del rango mencionado en la teoría, lo que señala que son una excelente fuente de azúcares, que se aprovecharán como base para la producción de productos nuevos de valor agregado, dentro de los más comunes se encuentra la conversión a bioetanol. Frente a esto, Oliva (2003) menciona que el contenido de polisacáridos tales como celulosa muestran valores entre un 40-55% del total de contenido de los materiales lignocelulósicos siendo este valor fundamental para la producción de glucosa a partir de residuos lignocelulósicos.

El porcentaje de contenido de lignina obtenido fue de 25.28%. Respecto a este valor, FAO (1997) menciona que los residuos lignocelulósicos presentan 25-35% de lignina en su composición, lo cual para obtener glucosa se debe realizar indispensablemente un pretratamiento ácido para poder facilitar la hidrólisis. Sun y Cheng (2002) indican que, para mejorar la formación de azúcar, es imprescindible realizar un pretratamiento para eliminar la lignina para evitar la exposición de la celulosa y la hemicelulosa en la hidrólisis. Además, Castillo (2014) afirma que este componente desata compuestos aromáticos que inciden

en la etapa de fermentación. Sin embargo, en esta investigación, el valor se encuentra en un rango adecuado, por ese motivo no es imprescindible su deslignificación y es idóneo para obtener glucosa a partir de residuos lignocelulósicos de cajonerías.

5.2. De la determinación de parámetros óptimos (temperatura, concentración de H₂SO₄ y tiempo) para producir glucosa

Al realizar el análisis de varianza mostrada en el cuadro 6 con respecto a la obtención de glucosa influenciada por la concentración de ácido sulfúrico (15%, 20%, 25%), temperatura (120°C, 140°C) y tiempo (60 min, 90 min, 120 min), sólo se registró diferencias altamente significativa para el factor concentración de ácido sulfúrico, lo cual se puede atribuir que la producción de glucosa es diferente a distintas concentraciones; mostrando que a mayor concentración de ácido se obtiene una mayor cantidad de glucosa. En la presente investigación se determinaron resultados donde a una concentración al 25% de H₂SO₄ se obtuvo un promedio de 31.28 mg de glucosa, podemos asumir que es la concentración de H₂SO₄ lo que da lugar a una mayor cantidad de glucosa a partir de residuos lignocelulósicos de cajonerías. Ante ello, en su investigación Trillo (2012) obtuvo 48.28 mg de glucosa mediante hidrólisis ácida sometido a tratamiento de H₂SO₄ al 1.1%, 170° C y 30 minutos de reacción. Peña (2008) menciona que dentro de los tratamientos químicos está la hidrólisis con ácido sulfúrico. Dicho reactivo aumenta la efectividad de la hidrólisis disminuyendo la producción de inhibidores, y elevando la transformación de la hemicelulosa. El tratamiento con ácido sulfúrico diluido es ampliamente utilizado

para tratar la biomasa; el uso de este catalizador es considerado como un paso principal para la hidrólisis de biomasa y la producción de etanol u otros usos combustibles y químicos.

Li *et al.*, (2000) indica que la variación de contenido de glucosa puede deberse a: 1) las diferentes propiedades física y químicas de cada materia prima utilizada; 2) los diferentes tratamientos; 3) al reactivo usado, de acuerdo con el sustrato; 4) al tiempo de reacción con el ácido utilizado.

Lis *et al.*, (2000) hidrolizaron paja utilizando los siguientes agentes: ácido sulfúrico y clorhídrico en donde consiguieron jarabes con contenido de glucosa de 12g/L como máximo; Monsalve *et al.*, (2006) consiguieron jarabe glucosado desde la hidrólisis ácida de la cáscara de banano, con 20g/L de contenido de glucosa; Aguilar y Canizales (2004) ejecutaron un estudio cinético sobre la hidrólisis ácida de cascarilla de cebada al utilizar diversas concentraciones de ácido sulfúrico y prolongar el tiempo de reacción, obtuvieron conversiones entre 23 y 59%, finalmente, Moya *et al.*, (2007), ejecutaron la hidrólisis ácida de residuos de poda de olivo usando ácido fosfórico, alcanzando conversiones entre el 10 y el 20%. Estas investigaciones se realizaron en un esterilizador eléctrico de presión de vapor, autoclave, manteniendo una presión y temperatura fija de 1 atm (15 psi) y 125°C, respectivamente, durante 15 minutos; luego, las muestras se sometieron a centrifugación para poder separar el jarabe glucosado. Según Boutros *et al.*, (2005) existen diferentes metodologías para realizar una hidrólisis ácida para la producción de azúcares, obteniendo resultados variables entre cada una de ellas.

Gamez *et al.*, (2006) hidrolizaron muestras de bagazo de caña de azúcar con H_2SO_4 al 4% con $122^\circ C$ durante 300 minutos y encontraron concentraciones de 17,6 g/L de xilosa, 2,6 g/L de arabinosa y 3,0 g/L de glucosa. La glucosa obtenida de estos residuos es capaz para ser utilizada ya sea para la obtención de bioetanol, a través de la fermentación alcohólica o en la producción de otros materiales de importancia industrial, como el ácido láctico, por medio de una fermentación láctica.

Ante los resultados alcanzados, Leyanis (2010) menciona que la hidrólisis realizada por ácidos diluidos requiere de tiempos cortos de reacción y tiene menor costo de reactivos, a diferencia de la hidrólisis enzimática necesita largos tiempos de reacción y altos costos por las enzimas.

Villar (2008) en su investigación recomienda que con una adecuada molienda de materiales lignocelulósicos se garantiza buen contacto del sólido con la solución ácida durante su estancia en el reactor. Encontrar materiales con resistencia a la corrosión por ácido sulfúrico en estas drásticas condiciones de reacción.

VI. CONCLUSIONES

1. En la caracterización de residuos lignocelulósicos se obtuvo: contenido de humedad de 7.253%, porcentaje de cenizas de 1.2002%, solubilidad de residuos lignocelulósicos en alcohol – benceno (extractivos) de 16.177%, porcentaje de celulosa de 41.58% y lignina de 25.28%.
2. Respecto a la obtención de glucosa, sólo se encontró diferencia significativa para el parámetro concentración de ácido, donde se obtuvo mayor cantidad de glucosa a una concentración de H₂SO₄ al 25% con un promedio de 31.28 mg de glucosa. Por este motivo se concluye que los parámetros para obtener glucosa a partir de residuos lignocelulósicos son concentración de H₂SO₄ al 25%, temperatura de 120°C y tiempos de 60 minutos, ya que los demás parámetros investigados generan resultados estadísticamente iguales. También es importante mencionar que se obtuvo un $R^2 = 0.43$, lo cual indica que se debe utilizar más parámetros en la investigación. El trabajo de investigación estima que por kg de residuo lignocelulósico se obtendrá 31280 mg de glucosa.

VII. RECOMENDACIONES

1. Para realizar próximas investigaciones, se deben considerar otros parámetros que influyan en la obtención de mayor cantidad de glucosa.
2. La obtención de glucosa a partir de residuos lignocelulósicos servirá para que posteriores investigaciones puedan transformarla a bioetanol y así brindarle un valor agregado.
3. Es necesario reconocer y controlar otros factores que pueden influir en la obtención de glucosa a partir de residuos lignocelulósicos, con mayor énfasis en el proceso del pretratamiento e hidrólisis ácida.
4. Tener mucha cautela al momento de realizar las lecturas de los líquidos sobrenadantes, porque al colocar las cubetas de cuarzo en el equipo espectrofotométrico pueden quedar las huellas dactilares sobre ellas y las lecturas puedan verse alteradas.
5. Realizar futuras investigaciones con enzimas para evaluar si tiene o no, mayor rendimiento que con ácidos.
6. Se puede clarificar la glucosa obtenida en esta investigación para poder utilizarla como sustrato alimenticio en los laboratorios de la UNAS.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abril, D. y Abril, A. (2009). Ethanol from lignocellulosic biomass. *Ciencia e Innovación Agraria*. 36(2), 177-190.
https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0718-16202009000200003&lng=es&nrm=iso
- Aguilar Rivera, N. y Canizales Leal, M. (2004). Cinética de la hidrólisis acida de la cascarilla de cebada. *Revista Mexicana de Ingeniería química*, 3(1), 257-263. <http://www.rmiq.org/ojs311/index.php/rmiq/article/view/2163>
- Boutros, F., Sarrouh, J., Jover, E. (2005). A study of single-step hydrolysis of bagasse with concentrated sulphuric acid for obtaining ethanol and in a modified single step and corresponding technical-economic analysis. *Revista Ingeniería e Investigación*. 25(3).
<https://doi.org/10.15446/ing.investig.v25n3.14660>
- Calzada, J. (1976). *Métodos estadísticos*. Editorial Jurídica. 3 ed. 644 p.
- Castillo, S.C. (2014). *Obtención de un hidrolizado detoxificado a partir de biomasa lignocelulósica de Panicum maximum para su uso como sustrato en la fermentación alcohólica*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/51813>

- Cortínez, V.A. (2010). *Comparación de pretratamientos en residuos forestales para la producción de bioetanol de segunda generación: Hidrólisis ácida y líquidos iónicos*. [Tesis de maestría, Universidad de Chile].
<http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/102377>
- Cunningham, R. y López, G. (1994). *Etanol de lignocelulósicos: tecnología y perspectivas*. Universidad de Santiago de Compostela. Programa Cyted.
https://www.researchgate.net/publication/320336377_Etanol_de_lignocelulosicos_tecnologia_y_perspectivas
- Chandel, A.K., Antunes, F.A., De Arruda, P.V., Millessi, T.S., Da Silva, S.S., y de Almeida, M.D. (2012). *Dilute acid hydrolysis of agro-residues for the depolymerization of hemicellulose: state-of-the-art*. Maria das Graças de Almeida Felipe. https://doi.org/10.1007/978-3-642-31887-0_2
- Chandler, C., Villalobos, N., Gónzales, E., Arneas, E., Mármol, Z., Ríos, J. y Aiello, C. (2012). Hidrólisis ácida diluida en dos etapas de bagazo de caña de azúcar para la producción de azúcares fermentables. *Multiciencias*. 12(3), 245-263. <https://www.redalyc.org/html/904/90426810002/>
- Fernández, J., y Bolaños, L. (2001). "Steam-explosion of olive stones: hemicellulose solubilization and enhancement of enzymatic hydrolysis of cellulose". *Bioresource Technology*. 79(1), 53-61.
[https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00015-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00015-3)

- García, M., Sánchez, S. y Cuevas, M. (2013). Evaluation of the effect of the dilute acid hydrolysis on sugars release from olive prunings. *Renewables Energy*. 51(1), 382-387. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2012.10.002>
- García, Z.T. (2008). Industrialización integral de la alcachofa en pasta nutricional y para alimentos balanceados. *Revista de la Facultad de Ingeniería Industrial*. 11(1), 37-46. https://www.researchgate.net/publication/307181596_Industrializacion_integral_de_la_alcachofa_en_pasta_nutricional_y_para_alimentos_balanceados
- Fengel, D., y Wegener, G. (1984). *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*. Walter de Gruyter. <https://doi.org/10.1007/BF02608943>
- Ferrer, J.R., Páez, G., y Arenas De Moreno, L. (2002). Cinética de la hidrólisis ácida de bagacillo de caña de azúcar. *Revista Facultad de Agronomía*. 19(1), 23-33. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182002000100003&lng=es&tlng=es.
- Gamez, S., González, J., Ramírez, J., Garrote, G., Vásquez, M. (2006). Study of the hydrolysis of sugar cane bagasse using phosphoric acid. *Journal Food Engineering*. 74(1), 78-88. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.02.005>
- Imai, M., Ikari, K., Suzuki, I. (2003). "High-performance hydrolysis of cellulose using mixed cellulose species and ultrasonication pretreatment". *Biochemical Engineering Journal*. 17(2), 79-83. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(03\)00141-4](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(03)00141-4)

- Larsson, S., Palmqvist, E., Hahn-Hagerdal, B., Tengborg, C., Stenberg, K., Zacchi, G., Nilvenbrant, N. (1999). "The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood". *Enzyme and Microbial Technology*. 24(2), 151-159. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(98\)00101-X](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(98)00101-X)
- Laureano, P.L., Teymouri, F., Alizadeh, H., y Dale, B.E. (2005). Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 121(1), 1081-1099. <https://doi.org/10.1385/ABAB:124:1-3:1081>
- Lázaro, L., Arauzo, J. (1994). Aprovechamiento de residuos de la industria de conservas vegetales: hidrólisis enzimática. *Revista Zubía, España*. 12(1), 227-240. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=110293>
- Leyanis, E.G. (2010). An approach to optimization of enzymatic hydrolysis from sugarcane bagasse based on organosolv pretreatment. *Journal Chemical Technology Biotechnology*. 85(8), 1092-1098. <https://doi.org/10.1002/jctb.2404>
- Lis, M.J., Carrillo, F., Colom, X., Martínez, D., Nogués, F. (2000). Hidrólisis ácida de paja previa a su tratamiento enzimático determinación de un modelo cinético. *Ingeniería química*. 32(369), 181-194. https://www.researchgate.net/publication/286732666_Hidrolisis_acida_de_paja_previa_a_su_tratamiento_enzimatico_Determination_de_un_modelo_cinetico

- Lloyd, T., Wyman, C.E. (2005). Combined sugar yields for dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover followed by enzymatic hydrolysis of the remaining solids. *Journal of Bioresource Technology*. 96(18), 1967-1977. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.01.011>
- Lu, D., Tabil, D., Wang, G., Wang, S. (2014). Experimental trials to make wheat straw pellets with wood residue and binders. *Biomass and bioenergy*. 69(1), 287-296. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.07.029>
- Mateus, L., Hernández, O., Velásquez, M., Díaz, J. (2012). Evaluación del pretratamiento con ácido sulfúrico diluido del pasto maralfalfa (*Pennisetum glaucum x Pennisetum purpureum*) para la producción de etanol. *Revista colombiana de biotecnología*. 14(1), 146-156. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/32795>
- Moya, M., Romero, I., Sánchez, S., Ruíz, E., Castro, A, Bravo V. (2007). Ethanolic fermentation of phosphoric acid hydrolysates from olive tree pruning. *Industrial Crops and Products*. 25(2), 160-168. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.08.008>
- Monsalve, G.J., Medina De Pérez, V., Ruíz Colorado, A. (2006). Producción de etanol a partir de la cáscara de banano y de almidón de yuca. *Red de revistas científicas, Colombia*. 73(150), 21-27. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49615002>
- Moncada, D.C. (2007). *Estudio de hidrólisis con ácido concentrado y baja temperatura para la obtención de azúcares fermentables a partir de los*

racimos vacíos de los frutos de la palma de aceite. [Tesis de maestría, Universidad de los Andes]. <http://hdl.handle.net/1992/20362>

Morales, S. (2015). *Hidrólisis ácida de celulosa y biomasa lignocelulósica asistida con líquidos iónicos.* [Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Madrid]. <http://hdl.handle.net/10261/132717>

Peña, P.M. (2008). *Optimización de las condiciones de cultivo de las cepas Pichia Stipitis CBS 5770, 5773 y 6054 para la producción de bioetanol a partir del hidrolizado de aserrín de Curupau como residuo lignocelulósico.* [Tesis para licenciatura en bioquímica]. <http://hdl.handle.net/123456789/569>

Rojas, C. y Chávez, T. (2019). *Influencia de la concentración de ácido sulfúrico y el tiempo en hidrólisis de peladilla de espárrago (Asparagus officinalis L.) y brácteas de alcachofa (Cynara scolymus L.) para obtención de xilosa.* [Tesis pre grado, Universidad Nacional de Trujillo]. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/14711>

SCIF (State Compensation Insurance Fund) s.f. *Exposición a polvo de aserrín.* Recuperado el 20 de junio de 2019 de <https://content.statefundca.com/safety/safetymeeting/SafetyMeetingArticle.aspx?ArticleID=286>

Sun, Y. y Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology.* 83(1), 1-11. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00212-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7)

- Sun, Y. y Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*. 83(1), 1-11.
[https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00212-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7)
- Taherzadeh, M.J., Gustafsson, L., Niklasson, C., Liddén, G. (1999). Conversion of dilute-acid hydrolyzates of spruce and birch to ethanol by fed-batch fermentation. *Bioresource Technology*. 69(1), 59-66.
[https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00169-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00169-2)
- Taherzadeh, M.J., Karimi, K. (2007). Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocelulosic materials: a review. *BioResources*. 2(4), 707-738.
https://www.researchgate.net/publication/26467837_Acid-based_hydrolysis_processes_for_ethanol_from_lignocellulosic_materials_A_review
- Taherzadeh, M.J., Karimi, K. (2007). Enzyme-based hydrolysis processes for etanol from lignocelulosic materials: a review. *BioResources*. 2(4), 707-738. https://www.researchgate.net/publication/242294415_Enzyme-based_hydrolysis_processes_for_ethanol_from_lignocellulosic_materials_a_review_BioResources
- Trillo, I. (2012). *Obtención de etanol a partir de aserrín de Pinus caribeeae utilizando la simulación del proceso en Aspen Plus*. [Trabajo de diploma, Universidad Central Marta Abreu de las Villas].
<http://dspace.uclv.edu.cu:8089/handle/123456789/1993>

- Venkateswar, R.L., Khanna, G.J., Gentela, J. y Koti, S. (2016). Bioconversion of lignocellulosic biomass to xilitol: An overview. *Bioresource Technology*. 213(1), 299-310. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.092>
- Vidal, L., T. y Colom, P. (1988). "Química de la madera para la fabricación de pastas". *Revista Ingeniería Química*. 229(1), 127-130. <https://futur.upc.edu/748473>
- Villar, J.C. (2008). Consideraciones sobre la producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica. *ICIDCA. Sobre los derivados de la caña de azúcar*. 42(1),8-17. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120667002>

ANEXOS

ANEXO 1. CARACTERIZACIÓN DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS

Cuadro 7. Determinación de contenido de humedad

DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE HUMEDAD			
Peso inicial			
Peso L ₁	64.8492	Peso RL 1	5.0016
Peso L ₂	63.2677	Peso RL 2	5.0014
Peso L ₃	63.6185	Peso RL 3	5.0011
Peso después de estufa			
Peso L ₁ +RL ₁	69.4785	M seca 1	4.6293
Peso L ₂ +RL ₂	67.9298	M seca 2	4.6621
Peso L ₃ +RL ₃	68.243	M seca 3	4.6245
CONTENIDO DE HUMEDAD (%)			
CH ₁		→	7.4436
CH ₂		→	6.7841
CH ₃		→	7.5303
Promedio de CH (%)			7.253

Cuadro 8. Determinación de k para cenizas.

DETERMINACIÓN DE K		
K ₁	4.6293/5.0016	0.9256
K ₂	4.6621/5.0014	0.9322
K ₃	4.6245/5.0011	0.9247
Promedio de k		0.9275

Cuadro 9. Determinación de cenizas

DETERMINACIÓN DE CENIZAS ISO R 1762			
Peso inicial			
Crisol 1 (g)	64.0924	Peso RL 1	5.0002
Crisol 2 (g)	62.6835	Peso RL 2	5.0006
Crisol 3 (G)	56.9637	Peso RL 3	5.0003
peso después de estufa			

Peso crisol 1+RL1	64.1479	fracción de cenizas 1	0.0555
Peso crisol 2+RL2	62.7421	fracción de cenizas 2	0.0586
Peso crisol 3+RL3	57.0166	fracción de cenizas 3	0.0529
PORCENTAJE DE CENIZAS (%)			
C ₁		→	1.1992
C ₂		→	1.2571
C ₃		→	1.1441
Promedio de porcentaje de cenizas (%)			1.2002

Cuadro 10. Determinación de solubilidad de residuos lignocelulósicos en alcohol – benceno (extractivos)

SOLUBILIDAD DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS EN ALCOHOL - BENCENO (EXTRACTIVOS)	
MUESTRA 1	
Peso RL (g) (inicial)	8.5908
Peso RL+grapas+papel (g)	10.956
Luego de estufa	
Peso RL+grapas+papel (g)	8.7736
Peso papel + grapas (g)	2.3652
Peso RL (g)	6.4084 g
% Extraíbles	15.815%

Cuadro 11. Determinación de k de la muestra 1 para solubilidad de residuos lignocelulósicos en alcohol – benceno (extractivos)

DETERMINACIÓN DE K	
MUESTRA 1	
Peso luna (g)	64.5441
Peso RL (g)	0.8789 → Mh (masa húmeda)
Luego de estufa	
Peso luna+RL (g)	65.3511
65.3511 g - 64.5441 g = 0.807 g	→ Mo (masa seca)
K	0.807 g/0.8789 g
K	0.9182

Cuadro 12. Determinación de solubilidad de residuos lignocelulósicos en alcohol – benceno (extractivos)

SOLUBILIDAD DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS EN ALCOHOL - BENCENO (EXTRACTIVOS)	
MUESTRA 2	
Peso RL (g) (inicial)	11.8499
Peso RL+grapas+papel (g)	13.7537
Luego de estufa	
Peso RL+grapas+papel+luna (g)	54.6915
Peso papel + grapas (g)	1.9038
Peso luna (g)	44.0712
Peso RL (g)	8.7165
% Extraíbles	16.5392%

Cuadro 13. Determinación de k de la muestra 2 para solubilidad de residuos lignocelulósicos en alcohol – benceno (extractivos)

DETERMINACIÓN DE K	
MUESTRA 2	
Peso luna (g)	64.5527
Peso RL (g)	0.8726 → Mh (masa húmeda)
Luego de estufa	
Peso luna+RL (g)	65.3521
$65.3511 \text{ g} - 64.5527 \text{ g} = 0.7994 \text{ g}$	→ Mo (masa seca)
K	$0.7994/0.8726$
K	0.9161

Cuadro 14. Determinación de Celulosa por método de Kurscher y Hoffner

DETERMINACIÓN DE CELULOSA POR MÉTODO DE KURSCHER Y HOFFNER	
Peso RL (g) (inicial)	2.0986
Agregar 40 ml de etanol 96° + 10 ml HNO ₃ (ebullición 1 hora)	
Peso crisol filtrante (g)	24.3305
Luego de estufa 105° C ± 2° C	
Peso crisol + RL (g)	25.2595
Peso muestra RL (g)	0.929
% cenizas	1.20%
M celulosa	0.9047 g
% Celulosa	41.58%

Cuadro 15. Determinación de k para celulosa

DETERMINACIÓN DE K PARA CELULOSA	
Peso luna (g)	48.0682
Peso RL (g)	5.0028 → Mh (masa húmeda)
Luego de estufa	
Peso luna+RL (g)	52.894
52.8940 g - 48.0682 g = 4.8258g → Mo (masa seca)	
K	4.8258/5.0028
K	0.9646

Cuadro 16. Determinación de Lignina (método del H₂SO₄)

DETERMINACIÓN DE LIGNINA (MÉTODO DEL H ₂ SO ₄)	
Peso RL (g) (inicial)	5.0051
Peso papel filtro (4) (g)	4.6528
Peso cloruro de bario (g)	5.6911
Luego de estufa 105° C ± 2° C	
Peso luna+RL+papel (g)	70.39
Peso luna (g)	0.929
Peso RL (g)	1.2206
% cenizas	1.20%
M lignina	1.1653 g
% Lignina	25.28%

Cuadro 17. Determinación de k para lignina

DETERMINACIÓN DE K PARA LIGNINA	
Peso luna (g)	42.1224
Peso RL (g)	5.0917 → Mh (masa húmeda)
Luego de estufa	
Peso luna+RL (g)	46.8172
46.8172g - 42.1224 g = 4.6948g → Mo (masa seca)	
K	4.6948/5.0917
K	0.9220

Cuadro 18. Preparación de estándares de glucosa

Concentración	Glucosa = 60 ppm
5 ppm →	$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$ $60 \text{ ppm} \cdot V1 = 5 \text{ ppm} \cdot 25 \text{ ml}$ $V1 = 2.08 \text{ ml}$
10 ppm →	$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$ $60 \text{ ppm} \cdot V1 = 10 \text{ ppm} \cdot 25 \text{ ml}$ $V1 = 4.17 \text{ ml}$
10 ppm →	$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$ $60 \text{ ppm} \cdot V1 = 15 \text{ ppm} \cdot 25 \text{ ml}$ $V1 = 6.25 \text{ ml}$
10 ppm →	$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$ $60 \text{ ppm} \cdot V1 = 20 \text{ ppm} \cdot 25 \text{ ml}$ $V1 = 8.33 \text{ ml}$
BLANCO →	AGUA DESTILADA

ANEXO 2. LECTURA DE ÁCIDOS

Cuadro 19. Lectura de ácidos sin tener contacto con el residuo lignocelulósico

Concentración de H ₂ SO ₄	Lectura de ácidos (mg/L)
3%	60.71
15%	65.1
20%	65.82
25%	66.84

ANEXO 3. LECTURA DE GLUCOSA (PRETRATAMIENTOS + HIDRÓLISIS ÁCIDA)

Cuadro 20. Repetición 1: Lecturas obtenidas del pretratamiento H₂SO₄ al 3% de + Lecturas de H₂SO₄ al 15, 20, 25%

Tratamientos	Pretratamiento (H ₂ SO ₄ 3%)	Lectura (mg/L) de H ₂ SO ₄ al 3% en contacto con RL	* FD (factor de dilución) = 10	Lectura de H ₂ SO ₄ al 3% sin contacto con RL	Lectura (H ₂ SO ₄ en contacto con RL - sin contacto con RL)	Concentración H ₂ SO ₄	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Lectura (mg/L) de H ₂ SO ₄ al 15,20, 25% en contacto con RL	FD (factor de dilución) = 10	Lectura de H ₂ SO ₄ al 15, 20, 25% sin contacto con RL (mg/L)	Lectura (H ₂ SO ₄ en contacto con RL - sin contacto con RL)	Cantidad de glucosa (mg)
T ₁	3%	84.04	840.40		779.690	15%	120	60	82.14	821.40		756.30	30.720
T ₂	3%	82.66	826.60		765.890	15%	120	90	81.88	818.80		753.70	30.392
T ₃	3%	84.18	841.80		781.090	15%	120	120	83.80	838.00	65.10	772.90	31.080
T ₄	3%	84.16	841.60		780.890	15%	130	60	84.04	840.40		775.30	31.124
T ₅	3%	85.61	856.10		795.390	15%	130	90	83.38	833.80		768.70	31.282
T ₆	3%	82.74	827.40		766.690	15%	130	120	82.85	828.50		763.40	30.602
T ₇	3%	83.71	837.10		776.390	20%	120	60	83.54	835.40		769.58	30.919
T ₈	3%	82.43	824.30		763.590	20%	120	90	83.71	837.10		771.28	30.697
T ₉	3%	79.15	791.50	60.71	730.790	20%	120	120	84.56	845.60	65.82	779.78	30.211
T ₁₀	3%	85.61	856.10		795.390	20%	130	60	84.07	840.70		774.88	31.405
T ₁₁	3%	84.02	840.20		779.490	20%	130	90	84.49	844.90		779.08	31.171
T ₁₂	3%	85.37	853.70		792.990	20%	130	120	84.42	844.20		778.38	31.427
T ₁₃	3%	85.11	851.10		790.390	25%	120	60	83.38	833.80		766.96	31.147
T ₁₄	3%	84.71	847.10		786.390	25%	120	90	83.61	836.10		769.26	31.113
T ₁₅	3%	84.30	843.00		782.290	25%	120	120	83.95	839.50	66.84	772.66	31.099
T ₁₆	3%	86.30	863.00		802.290	25%	130	60	83.16	831.60		764.76	31.341
T ₁₇	3%	84.14	841.40		780.690	25%	130	90	84.37	843.70		776.86	31.151
T ₁₈	3%	84.52	845.20		784.490	25%	130	120	85.23	852.30		785.46	31.399

Cuadro 21. Repetición 2: Lecturas obtenidas del pretratamiento H₂SO₄ al 3% de + lecturas de H₂SO₄ al 15, 20, 25%

Tratamientos	Pretratamiento (H ₂ SO ₄ 3%)	Lectura (mg/L) de H ₂ SO ₄ al 3% en contacto con RL	* FD (factor de dilución) = 10	Lectura de H ₂ SO ₄ al 3% sin contacto con RL	Lectura (H ₂ SO ₄ en contacto con RL - sin contacto con RL)	Concentración H ₂ SO ₄	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Lectura (mg/L) de H ₂ SO ₄ al 15,20, 25% en contacto con RL	FD (factor de dilución) = 10	Lectura de H ₂ SO ₄ al 15, 20, 25% sin contacto con RL (mg/L)	Lectura (H ₂ SO ₄ en contacto con RL - sin contacto con RL)	Cantidad de glucosa (mg)
T ₁	3%	84.18	841.80		781.090	15%	120	60	81.91	819.10		754.00	30.702
T ₂	3%	80.70	807.00		746.290	15%	120	90	82.26	822.60		757.50	30.076
T ₃	3%	81.83	818.30		757.590	15%	120	120	83.50	835.00	65.10	769.90	30.550
T ₄	3%	80.96	809.60		748.890	15%	130	60	81.00	810.00		744.90	29.876
T ₅	3%	83.09	830.90		770.190	15%	130	90	81.74	817.40		752.30	30.450
T ₆	3%	83.19	831.90		771.190	15%	130	120	84.25	842.50		777.40	30.972
T ₇	3%	86.70	867.00		806.290	20%	120	60	82.52	825.20		759.38	31.313
T ₈	3%	85.28	852.80		792.090	20%	120	90	84.42	844.20		778.38	31.409
T ₉	3%	89.97	899.70	60.71	838.990	20%	120	120	83.54	835.40	65.82	769.58	32.171
T ₁₀	3%	86.25	862.50		801.790	20%	130	60	83.57	835.70		769.88	31.433
T ₁₁	3%	84.87	848.70		787.990	20%	130	90	84.78	847.80		781.98	31.399
T ₁₂	3%	85.32	853.20		792.490	20%	130	120	83.42	834.20		768.38	31.217
T ₁₃	3%	87.06	870.60		809.890	25%	120	60	84.47	844.70		777.86	31.755
T ₁₄	3%	86.22	862.20		801.490	25%	120	90	85.94	859.40		792.56	31.881
T ₁₅	3%	83.35	833.50		772.790	25%	120	120	84.21	842.10	66.84	775.26	30.961
T ₁₆	3%	85.73	857.30		796.590	25%	130	60	84.11	841.10		774.26	31.417
T ₁₇	3%	85.20	852.00		791.290	25%	130	90	85.58	855.80		788.96	31.605
T ₁₈	3%	81.88	818.80		758.090	25%	130	120	84.54	845.40		778.56	30.733

Cuadro 22. Repetición 3: Lecturas obtenidas del pretratamiento H₂SO₄ al 3% de + lecturas de H₂SO₄ al 15, 20, 25%

Tratamientos	Pretratamiento (H ₂ SO ₄ 3%)	Lectura (mg/L) de H ₂ SO ₄ al 3% en contacto con RL	* FD (factor de dilución) = 10	Lectura de H ₂ SO ₄ al 3% sin contacto con RL	Lectura (H ₂ SO ₄ en contacto con RL - sin contacto con RL)	Concentración H ₂ SO ₄	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Lectura (mg/L) de H ₂ SO ₄ al 15,20, 25% en contacto con RL	FD (factor de dilución) = 10	Lectura de H ₂ SO ₄ al 15, 20, 25% sin contacto con RL (mg/L)	Lectura (H ₂ SO ₄ en contacto con RL - sin contacto con RL)	Cantidad de glucosa (mg)
T ₁	3%	82.38	823.80		763.090	15%	120	60	83.23	832.30		767.20	30.606
T ₂	3%	84.80	848.00		787.290	15%	120	90	83.33	833.30		768.20	31.110
T ₃	3%	80.81	808.10		747.390	15%	120	120	83.47	834.70	65.10	769.60	30.340
T ₄	3%	83.09	830.90		770.190	15%	130	60	83.61	836.10		771.00	30.824
T ₅	3%	83.99	839.90		779.190	15%	130	90	83.71	837.10		772.00	31.024
T ₆	3%	76.78	767.80		707.090	15%	130	120	84.40	844.00		778.90	29.720
T ₇	3%	83.38	833.80		773.090	20%	120	60	83.38	833.80		767.98	30.821
T ₈	3%	82.95	829.50		768.790	20%	120	90	83.35	833.50		767.68	30.729
T ₉	3%	84.71	847.10	60.71	786.390	20%	120	120	84.61	846.10	65.82	780.28	31.333
T ₁₀	3%	85.16	851.60		790.890	20%	130	60	84.02	840.20		774.38	31.305
T ₁₁	3%	82.59	825.90		765.190	20%	130	90	84.66	846.60		780.78	31.305
T ₁₂	3%	80.39	803.90		743.190	20%	130	120	84.49	844.90		779.08	30.445
T ₁₃	3%	83.38	833.80		773.090	25%	120	60	84.66	846.60		779.76	31.057
T ₁₄	3%	85.18	851.80		791.090	25%	120	90	84.61	846.10		779.26	31.407
T ₁₅	3%	83.92	839.20		778.490	25%	120	120	84.59	845.90	66.84	779.06	31.151
T ₁₆	3%	84.30	843.00		782.290	25%	130	60	84.21	842.10		775.26	31.151
T ₁₇	3%	84.71	847.10		786.390	25%	130	90	85.16	851.60		784.76	31.423
T ₁₈	3%	84.11	841.10		780.390	25%	130	120	85.30	853.00		786.16	31.331

Cuadro 23. Cantidad de glucosa en mg/g de residuo lignocelulósico

Concentración de H ₂ SO ₄ (%)	Temperatura (°C)	Tiempo (minutos)	Tratamiento	Repeticiones		
				I	II	III
15% (a1)	120° C (b1)	60 minutos (c1)	T ₁ (a1 b1 c1)	30.72 0	30.70 2	30.60 6
		90 minutos (c2)	T ₂ (a1 b1 c2)	30.39 2	30.07 6	31.11 0
		120 minutos (c3)	T ₃ (a1 b1 c3)	31.08 0	30.55 0	30.34 0
	140° C (b2)	60 minutos (c1)	T ₄ (a1 b2 c1)	31.12 4	29.87 6	30.82 4
		90 minutos (c2)	T ₅ (a1 b2 c2)	31.28 2	30.45 0	31.02 4
		120 minutos (c3)	T ₆ (a1 b2 c3)	30.60 2	30.97 2	29.72 0
20% (a2)	120° C (b1)	60 minutos (c1)	T ₇ (a2 b1 c1)	30.91 9	31.31 3	30.82 1
		90 minutos (c2)	T ₈ (a2 b1 c2)	30.69 7	31.40 9	30.72 9
		120 minutos (c3)	T ₉ (a2 b1 c3)	30.21 1	32.17 1	31.33 3
	140° C (b2)	60 minutos (c1)	T ₁₀ (a2 b2 c1)	31.40 5	31.43 3	31.30 5
		90 minutos (c2)	T ₁₁ (a2 b2 c2)	31.17 1	31.39 9	30.91 9
		120 minutos (c3)	T ₁₂ (a2 b2c3)	31.42 7	31.21 7	30.44 5
25% (a3)	120° C (b1)	60 minutos (c1)	T ₁₃ (a3 b1 c1)	31.14 7	31.75 5	31.05 7
		90 minutos (c2)	T ₁₄ (a3 b1 c2)	31.11 3	31.88 1	31.40 7
		120 minutos (c3)	T ₁₅ (a3 b1 c3)	31.09 9	30.96 1	31.15 1
	140° C (b2)	60 minutos (c1)	T ₁₆ (a3 b2 c1)	31.34 1	31.41 7	31.15 1
		90 minutos (c2)	T ₁₇ (a3 b2 c2)	31.15 1	31.60 5	31.42 3
		120 minutos (c3)	T ₁₈ (a3 b2c3)	31.39 9	30.73 3	31.33 1

ANEXO 4. PANEL FOTOGRÁFICO



Figura 10. Secado de residuos lignocelulósicos de cajonerías.



Figura 11. Determinación de contenido de humedad.



Figura 12. Colocado de muestras a la estufa para determinación de contenido de humedad.



Figura 13. Determinación de cenizas.



Figura 14. Calcinado de muestra para determinación de cenizas



Figura 15. Preparación de mezcla benceno - alcohol.



Figura 16. Instalación de equipo Soxhlet para determinación de extractivos



Figura 17. Muestra de residuo lignocelulósico después de extracción a reflujo.



Figura 18. Tamizaje de muestra de residuos lignocelulósicos en malla 40/60.



Figura 19. Retiro del sobrenadante para determinación de celulosa.



Figura 20. Filtrado de muestra con agua desionizada para determinar celulosa



Figura 21. Muestra en estufa para determinación de celulosa.

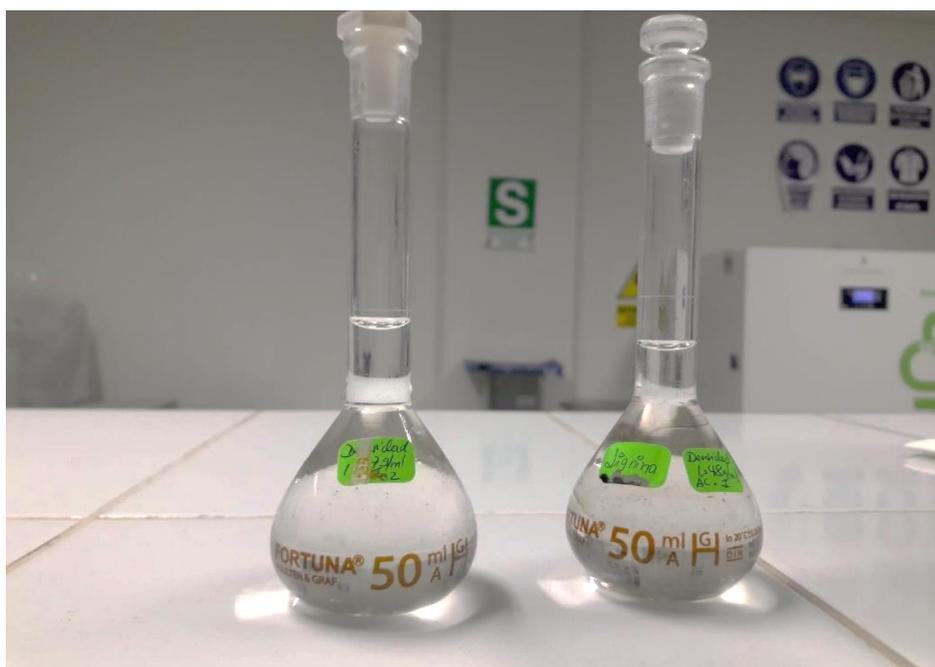


Figura 22. Preparación de ácidos para determinación de lignina.



Figura 23. Enfriamiento de muestra para determinar lignina.



Figura 24. Ligera ebullición de muestra para posterior filtración

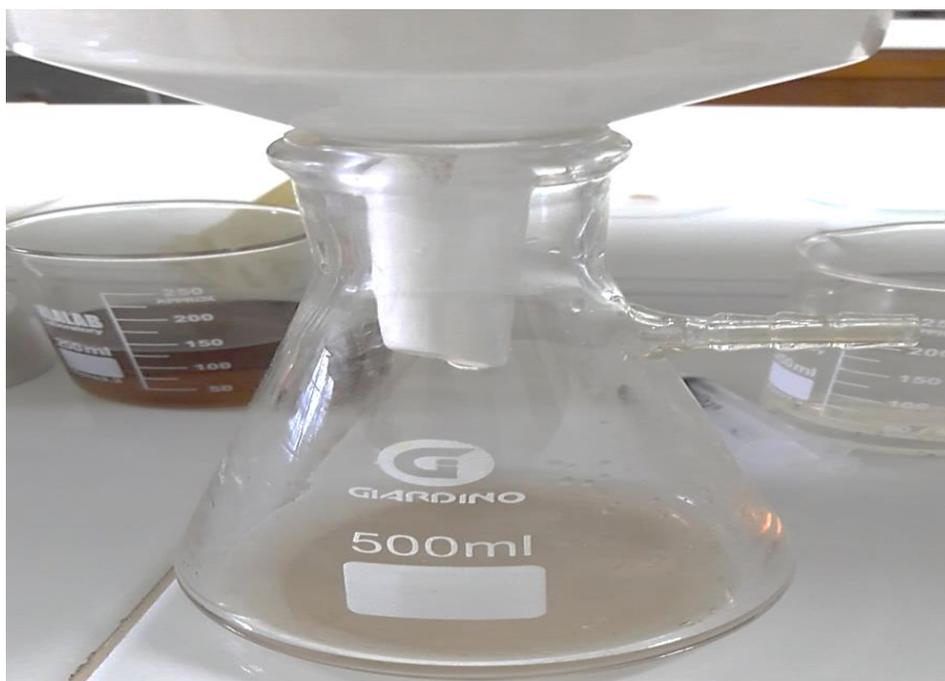


Figura 25. Filtración de muestra para determinación de lignina.



Figura 26. Colocación en estufa de papel filtro con muestra para determinación de lignina.

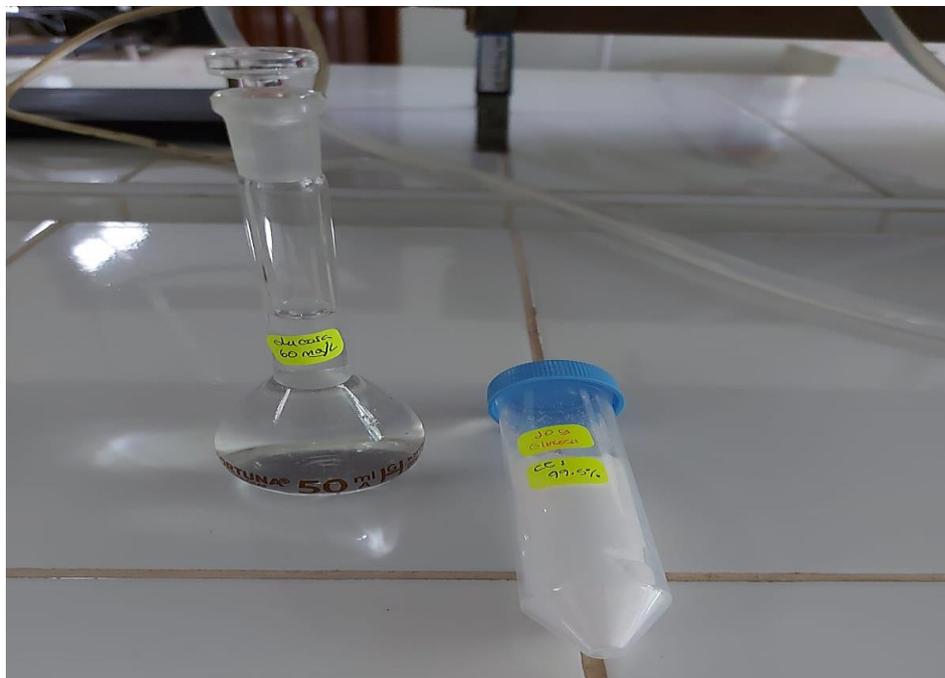


Figura 27. Muestra de glucosa para preparación de estándares.



Figura 28. Preparación de estándares de glucosa

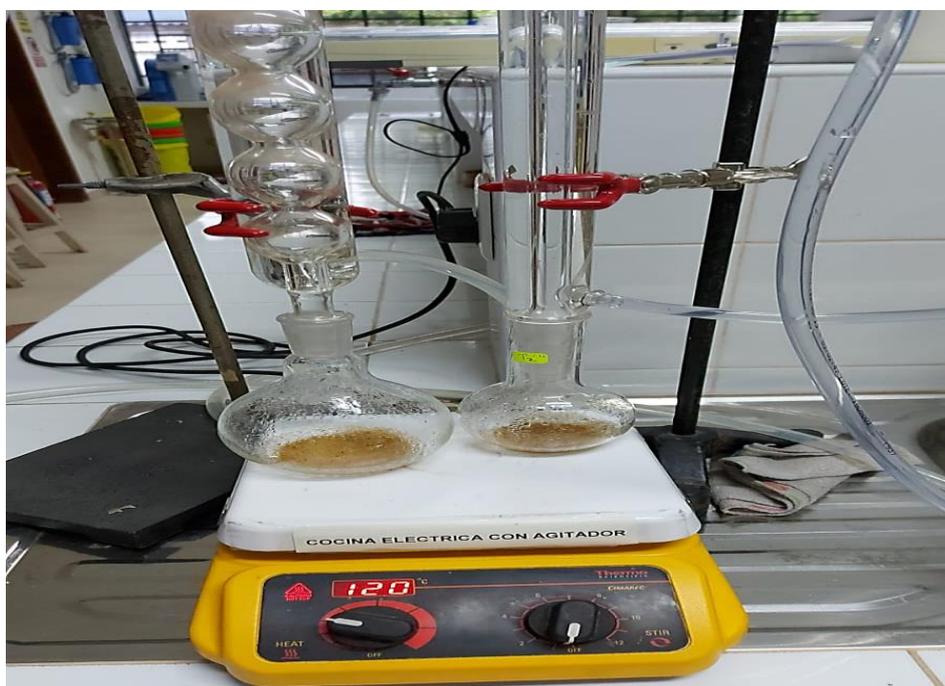


Figura 29. Pre tratamiento para obtención de glucosa.

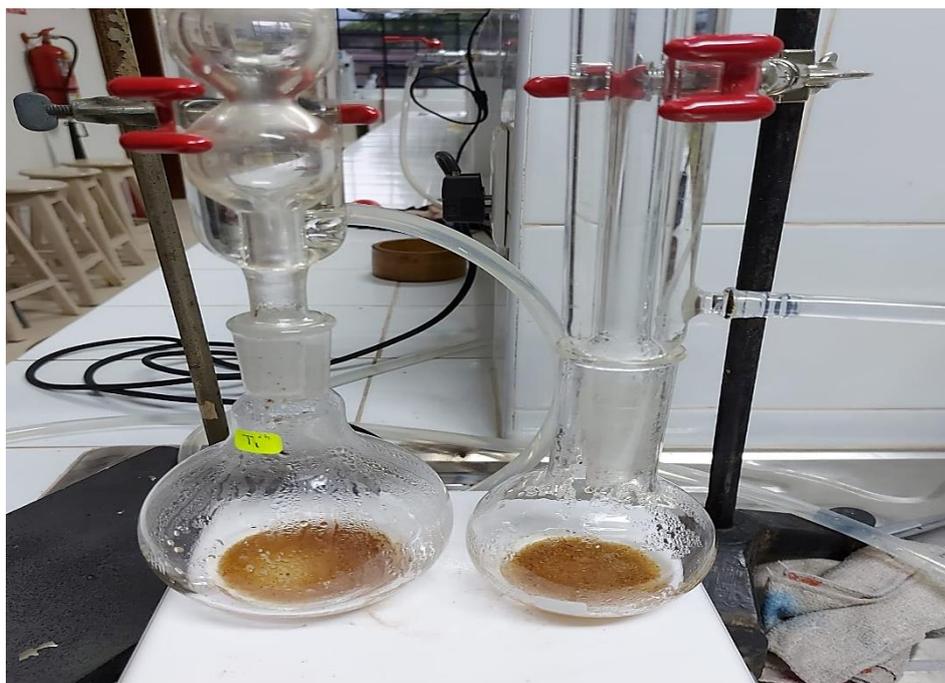


Figura 30. Hidrólisis ácida de residuos lignocelulósicos



Figura 31. Lectura de glucosa (mg) por tratamiento