

**PROPUESTA DE DEGRADACIÓN DEL RETAL DE PAPEL MONEDA Y  
BILLETES FUERA DE CIRCULACIÓN EN LA EMPRESA CONTROL  
AMBIENTAL DE COLOMBIA LTDA**

**JENNIFER TATIANA LEYTON PÉREZ**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA  
FACULTAD DE INGENIERÍAS  
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BOGOTÁ D.C.  
2017**

**PROPUESTA DE DEGRADACIÓN DEL RETAL DE PAPEL MONEDA Y  
BILLETES FUERA DE CIRCULACIÓN EN LA EMPRESA CONTROL  
AMBIENTAL DE COLOMBIA LTDA**

**JENNIFER TATIANA LEYTON PÉREZ**

**Proyecto integral de grado para optar por el título de:  
INGENIERA QUÍMICA**

**Asesor  
EDGAR FERNANDO MORENO  
Ingeniero Químico**

**Director.  
MARTHA MALAGÓN  
Ingeniera Química**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA  
FACULTAD DE INGENIERÍAS  
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BOGOTÁ D.C.  
2017**

**Nota de aceptación:**

---

---

---

---

---

---

---

---

Ing. Fernando Moreno  
Orientador

---

Ing. Mauricio Calle  
Jurado1

---

Ing. Mauricio Linares  
Jurado 2

Bogotá, D.C. mayo 2016

## **DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD**

**Presidente de la Universidad y Rector del Claustro**

Dr. Jaime Posada Díaz

**Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos**

Dr. Luis Jaime Posada García-Peña

**Vicerrectora Académica y de Posgrados**

Dra. Ana Josefa Herrera Vargas

**Secretario General**

Dr. Juan Carlos Posada García-Peña

**Decano Facultad de Ingenierías**

Dr. Julio Cesar Fuentes Arismendi

**Director Programa Ingeniería Química**

Dr. Leonardo de Jesús Herrera Gutiérrez

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

## **DEDICATORIA**

Agradezco a Dios por haberme dado la oportunidad de iniciar y culminar mis estudios. A mis padres por brindarme su esfuerzo y dedicación permitiendo la culminación de la carrera. A mi familia por ser un apoyo constante durante este proceso. A Sergio F. Paredes G. por ser y haber sido un apoyo incondicional en momentos difíciles.

A todas aquellas personas que durante la carrera estuvieron conmigo por una razón, una estación, por un tiempo o por una vida.

TATIANA LEYTON

## **AGRADECIMIENTOS**

A MARTHA MALAGÓN, Ingeniera Química por sus concejos y recomendaciones al largo del proyecto.

A FELIPE CORREA, Ingeniero Químico por su ayuda en la búsqueda de laboratorio para llevar a cabo el proyecto.

A JUAN P. MEDINA, Químico por su ayuda y apoyo en los laboratorios del Centro de Gestión Industrial del Sena.

A FERNANDO MORENO, Ingeniero Químico por su colaboración durante la realización del proyecto.

## CONTENIDO

	pág
INTRODUCCIÓN	21
OBJETIVOS	22
1.GENERALIDADES	23
1.1.CONTROL AMBIENTAL DE COLOMBIA LTDA	23
1.2.RETAL DE PAPEL MONEDA Y BILLETES FUERA DE CIRCULACIÓN	23
1.2.1. Descripción	23
1.2.2.Encolado del papel	24
1.2.2.1.Características generales de los agentes encolantes	24
1.2.2.2.Tipos de encolantes	26
1.2.3.Rellenos o Cargas	27
1.2.3.1.Tipos de rellenos	27
1.3.ALGODÓN	28
1.3.1.Estructura de la pared celular	29
1.4.CARACTERÍSTICAS DE LA CELULOSA	33
1.4.1.Composición y estructura de la celulosa	33
1.4.2.Comportamiento químico de la celulosa	35
1.5.HIDRÓLISIS	36
1.5.1.Hidrólisis enzimática	36
1.5.1.1.Enzima	37
1.5.1.2.Aspectos enzimáticos	37
1.5.1.2.Actividad enzimática	39
1.5.1.3.Pretratamiento para aumentar la susceptibilidad del papel moneda y billetes	39
1.6.AZÚCARES REDUCTORES	42
1.6.1.Métodos Cuantitativos	44
1.6.1.1.Método de Fenol-Sulfúrico por espectrofotometría UV	44
1.6.1.2.Método de Ácido Dinitrosalicílico DNS	44
1.6.1.3.Método Óptico de Polarimetría	44
1.6.1.4.Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) de glucosa, sacarosa y fructosa	35
1.6.2.Métodos Cualitativos	46
1.6.2.1.Prueba de Molisch	46
1.6.2.2.Prueba de Benedict	46
1.6.2.3.Prueba de Lugol	47
1.6.2.4.Prueba de Bial	47
1.6.2.5.Prueba de Barfoed	48

1.6.2.6.Prueba de Fehling	49
2.METODOLOGÍA	50
2.1.EVALUACIÓN DEL SUSTRATO	50
2.2.ESQUEMA GENERAL DE LA OBTENCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES	51
2.2.1.Cuantificación de Celulosa	51
2.2.2.Determinación de Humedad	54
2.2.3.Determinación de Cenizas	54
2.3.CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES – DNS	54
2.4.CURVA DE CALIBRACIÓN	55
2.5.EVALUACIÓN DE LA ENZIMA – MULTIFECT B	56
2.5.1.Determinación de la Actividad Enzimática – Multifect B	56
2.6.PRETRATAMIENTO CON HIDRÓXIDO DE SODIO	57
2.7.HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA	60
3.RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	65
3.1.EVALUACIÓN DEL SUSTRATO	65
3.1.1.Cuantificación de Celulosa	65
3.1.2.Determinación de Humedad	66
3.1.3.Determinación de Cenizas	66
3.2.CURVA DE CALIBRACIÓN	67
3.3.DETERMINACIÓN ACTIVIDAD ENZIMÁTICA – MULTIFECT B	70
3.4.PRETRATAMIENTO CON HIDRÓXIDO DE SODIO	72
3.5.HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA	72
4.EVALUACIÓN DE COSTOS DE LA PROPUESTA	77
5.CONCLUSIONES	81
6.RECOMENDACIONES	82
BIBLIOGRAFÍA	83
ANEXOS	87

## LISTA DE TABLAS

	pag.
<b>Tabla 1.</b> Rellenos o cargas.	28
<b>Tabla 2.</b> Composición química de la fibra de algodón.	29
<b>Tabla 3.</b> Curva de calibración de glucosa	56
<b>Tabla 4.</b> Dosificación de enzima para 5 g de muestra	61
<b>Tabla 5.</b> Dosificación de enzima para la hidrólisis enzimática.	62
<b>Tabla 6.</b> Cuantificación de celulosa.	65
<b>Tabla 7.</b> Concentraciones de glucosa con sus respectivas absorbancias.	68
<b>Tabla 8.</b> Resultados obtenidos en la experimentación de la determinación de actividad enzimática	70
<b>Tabla 9.</b> Resultados concentración de glucosa	71
<b>Tabla 10.</b> Datos de absorbancia obtenidos durante el proceso de hidrólisis enzimática.	72
<b>Tabla 11.</b> Concentraciones de glucosa durante el proceso de hidrólisis a distintos tiempos y dosificaciones de enzima.	73
<b>Tabla 12.</b> Diferencia entre concentración a medida que transcurre el tiempo	75
<b>Tabla 13.</b> Sueldo mensual y anual por operario.	78
<b>Tabla 14.</b> Costos dados durante el desarrollo de la propuesta.	79
<b>Tabla 15.</b> Experimentaciones realizadas en el laboratorio del Sena, sede Gestión Industrial.	79
<b>Tabla 16.</b> Resumen prueba TCLP comparación con la norma d residuos.	88
<b>Tabla 17.</b> Resumen con los contenidos de contaminantes dado en base seca analizados en en Ripio.	88
<b>Tabla 18.</b> Volúmenes implementados.	92

## LISTA DE FIGURAS

	pág
<b>Ilustración 1.</b> Prueba del ángulo de la gota y del trazo de tinta patrón.	25
<b>Ilustración 2.</b> Orientación de las moléculas del agente encolante para lograr el encolado del papel.	25
<b>Ilustración 3.</b> Monómeros empleados en la obtención de PAS.	27
<b>Ilustración 4.</b> Modelo de moléculas de celulosa.	30
<b>Ilustración 5.</b> Pared primaria.	31
<b>Ilustración 6.</b> Pared secundaria.	31
<b>Ilustración 7.</b> Diagrama de las capas de la pared celular de una fibra de algodón.	32
<b>Ilustración 8.</b> Complejo de celulosa.	33
<b>Ilustración 9.</b> Estructura básica de la celulosa. a) Composición de la cadena de celulosa. b) Disposición de las cadenas de celulosa, mostrando los puentes de hidrógeno inter e intramoleculares que estabilizan la estructura.	34
<b>Ilustración 10.</b> Organización de la celulosa observada a distintos niveles.	35
<b>Ilustración 11.</b> Representación esquemática de los sitios de actuación de los distintas enzimas celulolíticas.	38
<b>Ilustración 12.</b> Métodos de pre-tratamiento.	41
<b>Ilustración 13.</b> Métodos de pre-tratamiento.	42
<b>Ilustración 14.</b> Estructuras de azúcares reductores.	43
<b>Ilustración 15.</b> Reacción de reducción de ácido dinitrosalicílico.	44
<b>Ilustración 16.</b> Distribución de la luz en polarimetría.	45
<b>Ilustración 17.</b> Reacción química en la Prueba de Molisch.	46
<b>Ilustración 18.</b> Reacción de Oxidación del cobre en presencia del glúcido-reductor.	46
<b>Ilustración 19.</b> Resultado negativo de la prueba de Lugol (izquierda). Resultado positivo de la prueba de Lugol (derecha).	47
<b>Ilustración 20.</b> Reacción de deshidratación y formación de furfural.	47
<b>Ilustración 21.</b> Resultados negativos de la prueba Bial (izquierda). Resultado positivo de la prueba de Bial (derecha).	48
<b>Ilustración 22.</b> Reacción de oxidación y formación de ácidos carboxílicos.	48
<b>Ilustración 23.</b> Resultado positivo de la prueba de Barfoed (izquierda). Resultado negativo de la prueba de Barfoed (derecha).	49
<b>Ilustración 24.</b> Coloración positiva de Fehling (izquierda). Coloración negativa de Fehling. (derecha)	49
<b>Ilustración 25.</b> Técnica de muestreo-Técnica de cuarteo.	50
<b>Ilustración 26.</b> Esquema general de la obtención de azúcares reductores.	51
<b>Ilustración 27.</b> Montaje de calentamiento a reflujo.	52

<b>Ilustración 28.</b> Paso a paso del desarrollo experimental de la cuantificación de celulosa.	53
<b>Ilustración 29.</b> Montaje pre tratamiento con NaOH 2N.	58
<b>Ilustración 30.</b> Ensayos de hidrólisis enzimática a distintas dosificaciones de enzima: 500µL, 250µL, 50µL y 5µL (de izquierda a derecha, respectivamente).	62
<b>Ilustración 31.</b> Proceso experimental de hidrólisis enzimática.	64
<b>Ilustración 32.</b> Aspecto visual del ENSAYO 1, ENSAYO 2 Y ENSAYO 3 al finalizar la experimentación.	66
<b>Ilustración 33.</b> Cuantificación de azúcares reductores - finalizada la reacción del reactivo DNS en un baño de ebullición.	67

## LISTA DE GRÁFICAS

	pág
<b>Gráfica 1.</b> Curva de calibración para glucosa.	69
<b>Gráfica 2.</b> Curva de calibración ajustada.	70
<b>Gráfica 3.</b> Concentración de glucosa para la determinación de la actividad enzimática.	71
<b>Gráfica 4.</b> Concentración de Glucosa vs Tiempo. Ensayo preliminar, dosificaciones de 0.1 y 1 % p/v.	74
<b>Gráfica 5.</b> Concentración de Glucosa vs Tiempo. Dosificaciones 5 y 10 % p/v.	75

## LISTA DE ECUACIONES

	pág
<b>Ecuación 1.</b> Reacción hidrólisis	36
<b>Ecuación 2.</b> Normalidad	58
<b>Ecuación 3.</b> Equivalente en gramos	59
<b>Ecuación 4.</b> Equivalente en gramos	59
<b>Ecuación 5.</b> Masa equivalente	59
<b>Ecuación 6.</b> Masa de soluto	60
<b>Ecuación 7.</b> Porcentaje celulosa	65
<b>Ecuación 8.</b> Rentabilidad	80

## LISTA DE ANEXOS

	pág
<b>Anexo A.</b> Resultados del porcentaje de cenizas y humedad	88
<b>Anexo B.</b> Proceso de elaboración del Reactivo DNS	89
<b>Anexo C.</b> Ficha técnica de la enzima Multifect B	93
<b>Anexo D.</b> Resultados - curva de calibración	95
<b>Anexo E.</b> Resultado de absorbancias – actividad enzimática	97
<b>Anexo F.</b> Resultado de absorbancias finalizado el proceso de hidrólisis enzimática (cuantificación de azúcares)	99

## GLOSARIO

**ABSORBANCIA:** relación (logarítmica) entre la intensidad de la luz que incide sobre una muestra y la intensidad de esa misma luz que es transmitida a través de esa muestra<sup>1</sup>.

**AZÚCAR REDUCTOR:** “monosacárido o disacárido que puede ceder electrones a otras moléculas y puede, por tanto, actuar como agente reductor. La presencia de un grupo cetona (-CO-) o aldehído (-CHO) libre permite a la mayoría de los monosacáridos y polisacáridos actuar como azúcares reductores”.<sup>2</sup>

**CARGAS (RELLENOS):** compuestos introducidos en la elaboración de papel para imprenta con el fin de mejorar la opacidad, blancura, lisura, imprimibilidad y bulto del papel<sup>3</sup>.

**CELULOSA:** homopolímero de cadena lineal formado por moléculas de glucosa unidas por enlaces 1,4-beta-glucosídicos. Las moléculas contiguas de glucosa están giradas 180° una con respecto a la otra. Esto hace que cada dos moléculas de glucosa contiguas (o lo que es lo mismo, una unidad de celobiosa) constituyan una unidad repetitiva<sup>4</sup>.

**CENIZAS:** es el residuo inorgánico que queda tras eliminar totalmente los compuestos orgánicos existentes en la muestra<sup>5</sup>.

**CONTENIDO DE HUMEDAD:** es la relación que existe entre el peso del agua contenida en la muestra en estado natural y el peso de la muestra secada en un horno a una determinada temperatura<sup>6</sup>.

---

<sup>1</sup> BMG LABTECH The Microplate Reader Company. Absorbancia [en línea]. Ortenberg (Germany). Renglones 1-3. Disponible en Internet: <[www.bmglabtech.com/es/tecnologico/modos-de-deteccion/absorbancia/](http://www.bmglabtech.com/es/tecnologico/modos-de-deteccion/absorbancia/)>.

<sup>2</sup> JULIAN, Inmaculada; SÁEZ, Regino y MARTINEZ Susana. Diccionarios Oxford-Complutense. QUÍMICA. Madrid: Donoso Cortés, 2003. 649 p.

<sup>3</sup> ABRIL, Alejandro. y MOGOLLÓN, Gladys. Química del papel. En: Reciclado celulósico. Argentina: Miguel Zanuttini, 2012. p. 147-192.

<sup>4</sup> LUCAS, Rosario y PÉREZ, Juan. Los materiales celulósicos. En: Biodegradación de la Celulosa y la Lignina. Jaén, 2001. p. 14-28.

<sup>5</sup> MEJIA, Johann; MUÑOZ, Andrea y VEGA, Jhonas. Determinación de humedad y ceniza. En: 2014. p. 2-15.

<sup>6</sup> MARÍN RAMOS, Almilcar, *et al.* Estudio de mecánica de suelos poroto [diapositivas]. Trujillo, 2012. 20 diapositivas.

**CURVA DE CALIBRACIÓN:** procedimiento de análisis cuantitativo que genera una representación gráfica de una señal que se mide en función de la concentración de un analito<sup>7</sup>.

**ENCOLANTE:** agente introducido en la elaboración de papel o bañado sobre el papel una vez elaborado con el fin de retardar la penetración del agua o de soluciones acuosas en la estructura del papel, evitando la excesiva penetración de tintas, permitiendo la adecuada impresión y escritura del papel<sup>8</sup>.

**ENZIMAS:** proteínas especializadas en incrementar extraordinariamente la velocidad de las reacciones que catalizan debido a que se combinan de forma específica y transitoria con los sustratos de la reacción, facilitando la estabilización o ruptura de un enlace químico<sup>9</sup>.

**HEMICELULOSA:** heteropolisacáridos altamente ramificados y generalmente no cristalinos que contiene azúcares tales como pentosas (D-xilosa, L-arabinosa), hexosas (D-galactosa, L-galactosa, D-manosa, L-ramnosa, L-fucosa) y ácidos urónicos (ácido D-glucurónico)<sup>10</sup>.

**HIDRÓLISIS:** define la descomposición y reacción de los minerales con los iones  $H_3O$  y  $OH^-$  del agua<sup>11</sup>.

**HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA:** se lleva a cabo principalmente por un consorcio de enzimas microbianas que actúan conjuntamente<sup>12</sup>, ejerciendo un efecto catalítico hidrolizante, produciendo la ruptura de enlaces.

---

<sup>7</sup> DOSAL, María y VILLANUEVA, Marcos. Introducción a la metrología química – curvas de calibración en los métodos analíticos. En: ALAIN QUERÉ. Antología de química analítica experimental. 2008. p. 18-26.

<sup>8</sup> ABRIL, Alejandro. y MOGOLLÓN, Gladys. Química del papel. En: Reciclado celulósico. Argentina: Miguel Zanuttini, 2012. p. 147-192.

<sup>9</sup> GELLA TOMAS, Francisco Javier. Medición de la concentración catalítica de enzimas. En: FUENTES ARDERIU, XAVIER; CASTIÑEIRAS LACAMBRA, MARÍA JOSÉ Y QUERELTÓ COMPAÑÓ, JOSÉ MARÍA. Bioquímica clínica y Patología Molecular. 2 ed. Barcelona, Reverté, 1998. p. 443-460.

<sup>10</sup> LUCAS y PÉREZ. Op. cit., p. 14-28.

<sup>11</sup> NÚÑEZ SOLÍS, Jorge. Meteorización. En: Fundamentos de Edafología. San José, Universidad Estatal a distancia, 1981. p. 41-45.

<sup>12</sup> MIKÁN VANEGAS, José Fernando y CASTELLANOS SUÁREZ, Diana Edith. Screening para el aislamiento y caracterización de microorganismos y enzimas potencialmente útiles para la degradación de celulosas y hemicelulosas. En: Mayo, 2004. vol. 5 no. 1., p. 58-71.

**LIGNINA:** polímero aromático heterogéneo, de unidades fenilpropano (C<sub>9</sub>) que la componen están entrelazadas al azar mediante diferentes tipos de enlaces, formando una macromolécula amorfa e insoluble en agua<sup>13</sup>.

**PAPEL MONEDA:** documento portador emitido por el banco el cual circula como medio legal de pago<sup>14</sup>.

**pH:** indicador de acidez de una sustancia. Está determinado por el número de iones libres de hidrógeno (H<sup>+</sup>)<sup>15</sup>.

**PRE TRATAMIENTO:** tratamiento que antecede al proceso principal, siendo en este caso el de hidrólisis enzimática con el fin de acondicionar el sustrato a tratar.

**SOLUCIÓN BUFFER:** solución en la cual el pH es resistente al cambio cuando se añaden ácidos o bases fuertes<sup>16</sup>.

**SOLUCIÓN PATRÓN:** es un sistema de medida con el que se intenta definir, realizar, conservar o reproducir unos valores conocidos de una magnitud con el fin de que sirvan de comparación a otros elementos de medida<sup>17</sup>.

**SUSTRATO:** molécula sobre la cual actúa una enzima.

**RIPIO:** conjunto de trozos de material de desecho.

---

<sup>13</sup> LUCAS y PÉREZ. Op. cit., p. 14-28.

<sup>14</sup> CEDEÑO, Ovidio. El Papel Moneda [diapositivas]. 7 diapositivas, color azul.

<sup>15</sup> LENNTECH. pH y Alcalinidad. LENNTECH. Medida de calidad de agua: el pH [en línea]. Delft. Renglones 6-7. Disponible en internet: < <http://www.lenntech.es/ph-y-alkalinidad.htm>>.

<sup>16</sup> ATKINS, Jones. Equilibrio acuoso. En: Principios de Química-Los caminos del descubrimiento. 3 ed. Buenos Aires, Panamericana, 2007. p. 408-443.

<sup>17</sup> GARCÍA BERMEJO, María José; COLOM VALIENTE, María Francisca y JARAMILLO SANCHEZ, Juan Antonio. Preparación de Soluciones. En: Manual del Auxiliar de Laboratorio. 2 ed. Sevilla, MAD, 2003. p. 349-355.

## RESUMEN

El presente proyecto se desarrolló en convenio con la empresa Control Ambiental de Colombia Ltda que se “dedica al tratamiento y aprovechamiento de residuos orgánicos mediante el compostaje”<sup>18</sup> manipulando actualmente el retal de papel moneda y billetes fuera de circulación desechados por el Banco de la República el cual es entregado en planta finamente picado (ripio).

El retal de papel moneda y billetes fuera de circulación es introducido directamente a las pilas de compostaje tomando entre 9 a 11 meses en degradarse, lo que genera mucho tiempo de almacenamiento y una ganancia no muy rentable para la empresa, quedando aun así pequeños fragmentos dentro del compost.

Para agilizar la degradación se propone realizar un pretratamiento con hidróxido de sodio con el fin de acondicionar el retal de papel moneda y billetes extrayendo tintas vegetales, encolante, cargas y rompiendo los enlaces de hemicelulosas y lignina que envuelven a la celulosa(compuesto de interés para ser convertido en azúcares), debido a que el retal de papel moneda y billetes está principalmente elaborado de algodón y éste a su vez en su pared celular constituido por las tres estructuras vegetales mencionadas anteriormente(hemicelulosas, lignina y celulosa), aumentando la susceptibilidad durante el proceso de la hidrólisis enzimática que rompe las largas y complejas cadenas de celulosa catalizando la formación de azúcares reductores empleando la enzima Multifect B.

La toma de la muestra a experimentar se realizó por medio de la técnica de cuarteo cuyo fin es homogenizar y tomar las muestras aleatoriamente hasta obtener la cantidad necesaria a utilizar.

El pretratamiento da inicio sumergiendo el retal de papel moneda y billetes dentro de una solución de buffer de citrato llevándolo a una temperatura de 70°C con agitación constante durante un tiempo de 1h.

El proceso de hidrólisis enzimática se lleva a cabo en un shaker con agitación constante a una temperatura 50°C y pH 5; las dosificaciones empleadas de enzima en la experimentación fueron de 0.1, 1.0, 5.0 y 10.0 % peso enzima/volumen sustrato a distintos tiempos con un máximo de 54 horas.

Una vez finalizado el proceso de hidrólisis enzimática se realiza una cuantificación de azúcares reductores utilizando el método cuantitativo del Reactivo DNS que

---

<sup>18</sup> Control Ambiental de Colombia Ltda. Quienes Somos. [en línea]. Facatativá. [citado el 12/05/2017]. Disponible en Internet: < <http://www.controlambiental.com.co/>>.

determina los azúcares presentes en las soluciones por medio de una lectura en el espectrofotómetro midiendo la intensidad de la luz (según la colorimetría de cada ensayo) comparado con un blanco.

Teniendo en cuenta las dosificaciones de enzima empleadas se obtuvo como resultado:

Dosificación 0.1%: concentración de azúcares es de 0.0012g/L en el tiempo 2h.

Dosificación 1.0%: concentración de azúcares es de 0.0508g/L en el tiempo 34h.

Dosificación 5.0%: concentración de azúcares es de 2.2625g/L en el tiempo 25h.

Dosificación 10.0%: concentración de azúcares es de 2.4600g/L en el tiempo 8h.

**Palabras Clave:** hidrólisis enzimática, retal papel moneda y billetes, enzima, pretratamiento.

## INTRODUCCIÓN

El Banco de la República para finales del 2016 registró una “impresión de billetes con una cifra total acumulada de 26.017,95 millones de piezas producidas”<sup>19</sup> y conforme éstas son introducidas al mercado, de éste también por medio de las entidades financieras son extraídos aquellos billetes cuya vida útil a finalizado.

Actualmente, Control Ambiental de Colombia Ltda es la empresa responsable de disponer de los billetes que salen de circulación del mercado, junto con el retal de papel moneda que es un sobrante obtenido durante la elaboración de los billetes en la sección de corte. La manera en la que disponen de éstos residuos es incorporándolos dentro del proceso de compostaje con el fin de degradarlos hasta el punto de obtener abono natural.

Durante dicho proceso en planta, se presenta un inconveniente en el tiempo que dura la degradación debido a que el retal de papel moneda y los billetes fuera de circulación duran alrededor de nueve a once meses dentro de las pilas de compostaje por su lenta degradación, aun así, no logrando obtener una degradación completa de dichos residuos.

Una alternativa para agilizar y ayudar a la completa degradación del retal de papel moneda y billetes fuera de circulación es convertirlos en azúcares reductores los cuales serán fácilmente digeridos por los microorganismos existentes en el suelo responsables del proceso de degradación durante el proceso de compostaje.

Este documento registra los resultados a nivel laboratorio de pretratar con NaOH el retal de papel moneda y billetes y posterior a esto, un tratamiento con enzimas catalíticas llevando a cabo una hidrólisis enzimáticas.

---

<sup>19</sup> Banco de la República. Producción anual acumulada de billetes desagregado por denominación. [en línea]. Bogotá D.C.. [citado el 12/05/2017]. Disponible en Internet: < <http://www.banrep.gov.co/es/billetes-y-monedas/estadisticas-de-produccion>>.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar una alternativa para degradar el retal de papel moneda y los billetes fuera de circulación en la Empresa Control Ambiental de Colombia Ltda.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar las características del papel moneda y los billetes.
- Seleccionar las condiciones de la hidrólisis enzimática que degrade el retal de papel moneda y los billetes.
- Realizar un análisis de costos de la propuesta.

## **1. GENERALIDADES**

El siguiente capítulo tiene como objeto dar a conocer los conceptos y fundamentos teóricos respecto a la composición y diversos métodos existentes de como pretratar y tratar el retal de papel moneda y billetes, junto con los distintos procedimientos para realizar cuantificación de azúcares reductores, dando una descripción con el fin de manifestar otras posibles alternativas, teniendo claro que se eligieron los procesos más acordes y precisos a lo requerido.

### **1.1 CONTROL AMBIENTAL DE COLOMBIA LTDA**

Es una empresa profesional de ingeniería de tratamiento y aprovechamiento de residuos y subproductos orgánicos biodegradables, certificada según la NTC ISO 14001 con presencia en Colombia y Perú, ofreciendo soluciones evitando afectaciones adversas al medio ambiente y personas.

La planta industrial para el tratamiento biológico se encuentra ubicada en el municipio de Facatativá Cundinamarca, dedicada a la producción de compost (abono natural) como una alternativa en la disposición de residuos orgánicos tales como lodos, biosólidos, residuos de podas forestales, restos agrícolas, restos orgánicos domiciliarios, rechazos de alimentos y otros orgánicos biodegradables provenientes todos del departamento de Cundinamarca.

Control Ambiental de Colombia Ltda actualmente cuenta con un sistema Software de Control que automatiza el proceso y garantiza la observación y control óptimo las 24 horas del día con tecnología de medición y control. Este sistema permite controlar los requerimientos del compostaje a través del control continuo del proceso aerobio acelerando la descomposición, reduciendo olores, asegurando ciclos consistentes de producción, mejorando la calidad del compost y reduciendo costos.

### **1.2 RETAL DE PAPEL MONEDA Y BILLETES FUERA DE CIRCULACIÓN**

**1.2.1 Descripción.** El papel moneda es un medio de cambio por cuanto se puede vender lo que se produce a cambio de dinero y a su vez con éste se obtienen bienes de consumo; actúa como unidad de cuenta porque es el numerario con referencia al cual todos los valores o precios en la economía son establecidos.

“La moneda es un depósito de valor porque admite regular las diferencias temporales entre el momento en que se reciben los ingresos y en el que se hacen las compras”<sup>20</sup>

A continuación, se da a conocer el encolado del papel, características y tipos de encolantes implementados en la producción de papel para imprenta, junto con las cargas que posiblemente se puedan encontrar dentro del retal de papel moneda y billetes debido a que Control Ambiental de Colombia Ltda no tiene información al respecto y a la poca suministrada por parte del Banco de la República por confidencialidad.

**1.2.2 Encolado del papel.** “El encolado consiste en retardar la penetración del agua o de soluciones acuosas en la estructura del papel, evitando la excesiva penetración de tintas, permitiendo la adecuada impresión y escritura del papel.

El proceso de encolado se clasifica en masa y superficial, dependiendo de donde se aplica el agente encolante (antes o después de la formación del papel)”<sup>21</sup>.

#### **1.2.2.1 Características generales de los agentes encolantes**

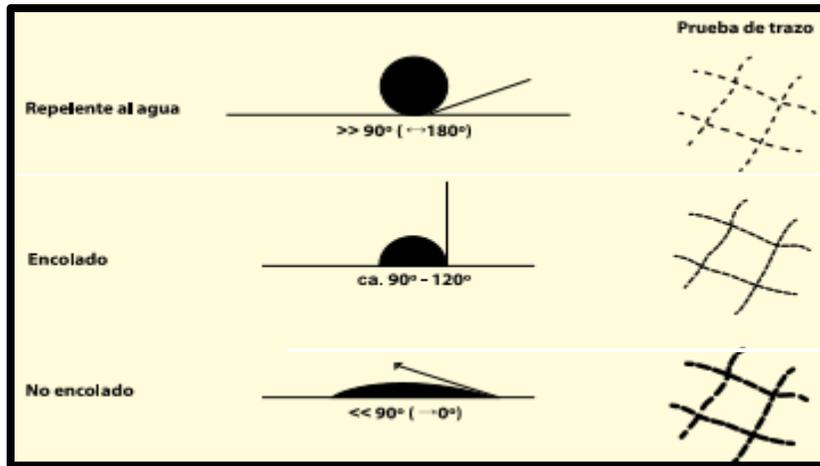
- Aumenta la hidrofobicidad de la superficie aumentando el ángulo de contacto entre el ángulo y la superficie; como se observa a continuación, se muestran los ángulos característicos para los casos extremos, repelen al agua y no encolado y el rango en que se considera que el papel está encolado.

---

<sup>20</sup> VARGAS BUENDIA, Juan Manuel. Sustitución monetaria en Colombia: costos y beneficios. Trabajo de grado Magister en Ciencias Económicas. Bogotá D.C.. Universidad Nacional de Colombia. 2002. p. 51.

<sup>21</sup> ABRIL, Alejandro. y MOGOLLÓN, Gladys. Química del papel. En: Reciclado celulósico. Argentina: Miguel Zanuttini, 2012. p. 147-192.

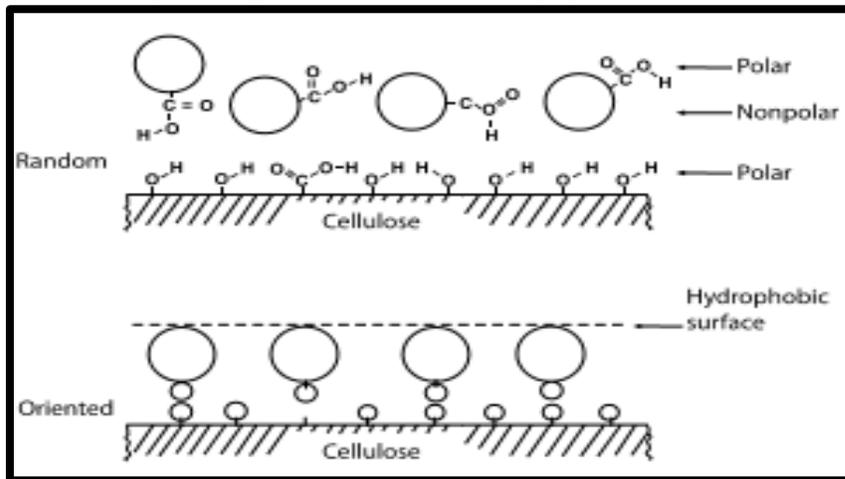
**Ilustración 1.** Prueba del ángulo de la gota y del trazo de tinta patrón.



**Fuente:** Química del papel: Reciclado celulósico<sup>19</sup>

- Están constituidos generalmente por moléculas anfipáticas (con un extremo polar y otro no polar).

**Ilustración 2.** Orientación de las moléculas del agente encolante para lograr el encolado del papel.



**Fuente:** Química del papel: Reciclado celulósico<sup>20</sup>

“El extremo polar de las moléculas del agente encolante se fija por atracción electrostática, por puentes de hidrógeno o por reacción química, con los grupos polares de los extremos no polares de la celulosa, orientándose los extremos no

polares hacia el exterior de la superficie, creando una capa hidrofóbica, que repele en agua, limitando su penetración”<sup>22</sup>.

- El agente de encolado debe distribuirse uniformemente y fijarse sobre la superficie del papel.
- Debe ser inerte frente al agua.
- No debe afectar otras propiedades del papel.
- El proceso de encolado debe ser simple, incluyendo la preparación y dosificación del agente encolante.

### 1.2.2.2 Tipos de encolantes

➤ **Encolado con colofonia.** La colofonia con adición de alumbre (sulfato de aluminio) ha sido el método tradicional de encolado; ésta se encuentra constituida por una mezcla de ácidos resínicos monocarboxilados con una estructura hidroxifenantreno alquílica, principalmente, abiético y primárico. Su fórmula empírica es  $C_{19}H_{27-33}COOH$ .

➤ **Modificaciones del proceso de encolado con colofonia.** “Se han desarrollado distintas modificaciones del proceso, entre los que se encuentran:

- **Colofonia con alto contenido de resina libre (Tipo Bewoid).** Presentan un bajo grado de saponificación (5-15%). Se afectan menos por la dureza del agua y las bajas temperaturas de secado.
- **Resinas fortificadas (Tipo Collodin).** Se obtienen por reacción de la colofonia con anhídrido maleico o fumárico, logrando la adición de un segundo grupo carboxilo a la colofonia, con lo que se fortalece su extremo polar y su capacidad de fijación a las fibras.
- **Encolado pseudoneutro.** Consiste en el empleo de aluminio de sodio, mezclas de aluminato de sodio/alumbre, policloruro de aluminio (PAC), o polielectrolitos catiónicos, como agentes de precipitación y fijación de la colofonia (de alto contenido de resina libre), permitiendo desarrollar el encolado a pH de 6,5 A 7,0. Permite el empleo del carbonato de calcio como relleno.”<sup>23</sup>

---

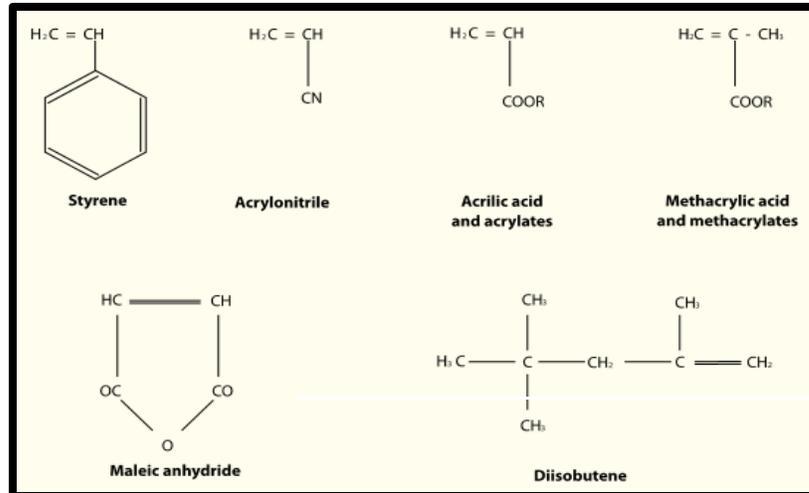
<sup>22</sup> Ibid., p. 172.

<sup>23</sup> Ibid., p. 175.

### ➤ Agentes encolantes poliméricos (PAS)

Los PAS se preparan en forma de emulsiones estabilizadas con almidones modificados. Se fijan en las superficies fibrosas por atracciones electrostáticas. Su fijación se favorece con el empleo de polielectrolitos catiónicos. A continuación, se muestran los monómeros empleados en la obtención de PAS.

**Ilustración 3.** Monómeros empleados en la obtención



**Fuente:** Química del papel: Reciclado celulósico<sup>24</sup>

**1.2.3 Rellenos o Cargas.** Los rellenos o cargas, se emplean principalmente en los papeles de imprenta, mejorando la opacidad, blancura, lisura, imprimibilidad y bulto.

**1.2.3.1 Tipos de rellenos.** En la **Tabla 1** se muestran los principales tipos de rellenos o cargas utilizados en la fabricación del papel en donde los más empleados con el caolín y el carbonato de calcio.

<sup>24</sup> Ibid., p. 179.

**Tabla 1.** Rellenos o cargas.

Relleno o carga	Composición	Fórmula
Caolín	Aluminio silicato	$Al_4(OH)_8(Si_4O_{10})$
Carbonato de calcio natural (GCC)	Tiza, Piedra caliza,	$CaCO_3$
Carbonato de calcio precipitado (PCC)	Mármol	$CaCO_3$
Talco	Carbonato de calcio	$3MgO \cdot 4SiO_2 \cdot H_2O$
Sulfato de calcio (Gypsum)	Mg-silicatos	$CaSO_4$
Dióxido de titanio	Sulfato de calcio	$TiO_2$
Óxido de aluminio hidratado	Dióxido de titanio	
Sílice precipitado		
Pigmentos plásticos		

**Fuente:** Química del papel: Reciclado celulósico<sup>25</sup>

### 1.3 ALGODÓN

El papel moneda y billetes están conformados en su mayoría por fibras de algodón por su “alta resistencia y capacidad de incorporar en su estructura, elementos de seguridad como lo son las marcas de agua, la banda de seguridad”<sup>26</sup>, entre otros.

Por ende, se debe examinar minuciosamente la composición de la pared celular del algodón con el fin de tener claro que compuesto(d) se debe(n) eliminar y que compuesto(s) puede(en) ser convertidos en azúcares reductores.

A continuación, se manifiestan las características del algodón:

“El algodón es una planta perteneciente al género *Gossypium* del cual existe una gran diversidad de especies que se ha venido dando a medida que su cultivo se ha ido extendiendo por todo el mundo.

Éste posee un tallo verde, con una altura alrededor de los 0.8-1.5 metros, dependiendo de la especie y región donde se cultive. Cuando florece, el tallo cambia su color a un rojo, tiene hojas con forma acorazonadas de cinco lóbulos de color blanco o rojo con manchas, y su fruto es una cápsula que contiene alrededor de 15 a 20 semillas envueltas en una borra muy larga y blanca, que se desarrolla y sale al abrirse de la cápsula”<sup>27</sup>.

A continuación, en la **Tabla 2** se presenta la composición química del algodón.

<sup>25</sup> Ibid., p. 180.

<sup>26</sup> GIANETTO, Marcos. Seguridad Documental. El papel y sus elementos de seguridad. [en línea]. [citado el 13/05/2017]. Disponible en Internet: <<http://seguriddocumental.blogspot.com.co/2009/04/el-papel-y-sus-elementos-de-seguridad.html>>.

<sup>27</sup> FORESTER LÓPEZ, Valeria. Propiedades y características del algodón [diapositivas]. 2014. 10 diapositivas, color negro.

**Tabla 2.** Composición química de la fibra de algodón.

<b>Componente</b>	<b>Total de Fibra (%)</b>
<b>Celulosa</b>	88-96
<b>Agua</b>	6-8
<b>Sales minerales</b>	0.7-1.6
<b>Proteínas</b>	1.1-1.9
<b>Pectinas</b>	0-7-1.2
<b>Ceras</b>	0.4-1.0
<b>Pigmentos-motas</b>	0.5-1.0

**Fuente:** Nueva variedad de algodón de fibra media con adaptación al Caribe Húmedo: Características de la planta<sup>28</sup>

Las sales minerales están compuestas de sales solubles en agua, cloruros, carbonatos, fosfatos de sodio y potasio, y sales insolubles de calcio y magnesio.

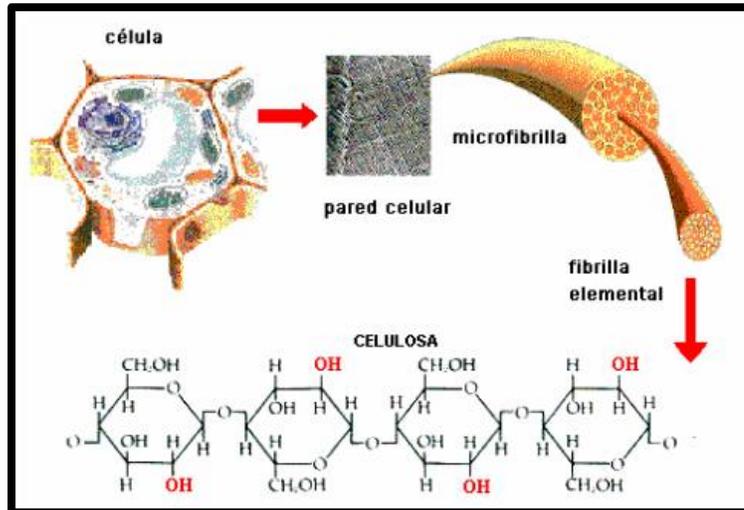
**1.3.1 Estructura de la pared celular.** La pared celular vegetal está constituida por:

- **“Componente cristalino o porción fibrosa (esqueleto).** Esta se constituye de cadenas celulósicas que pueden alcanzar 4  $\mu\text{m}$  de longitud (cadenas lineales de enlaces covalente 1-4  $\beta$ -D glucosa cuya alterna configuración espacial de las cadenas glucosídicas, la unidad repetitiva de la celulosa es la celobiosa, un enlace disacárido 1-4  $\beta$ -D glucosa), dispuestas de forma ordenada por medio de enlaces puente de hidrógeno, creando una estructura cristalina o paracristalina (que contiene algunas regiones no cristalinas); esos enlaces le otorgan propiedades cristalinas, rigidez, fortaleza a la pared y suministran resistencia contra la fuerza de tensión (tirón).

---

<sup>28</sup> CADENA, Torres, et al. Nueva variedad de algodón de fibra media con adaptación al Caribe Húmedo. En: Turipaná. Abril, 2001. p. 1-8.

#### Ilustración 4. Modelo de moléculas de celulosa.

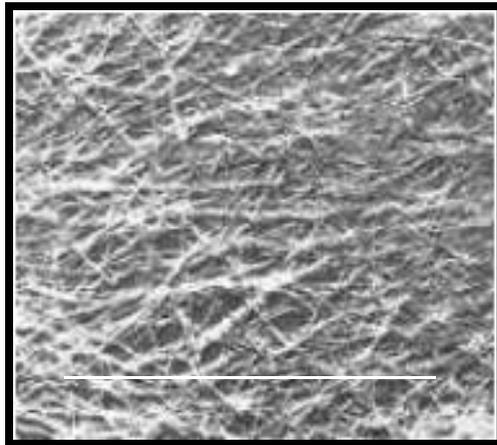


**Fuente:** Manual de Histología Vegetal: La célula vegetal<sup>29</sup>

En orden creciente de tamaño, comienza a partir de una micela celulósica o fibrilla elemental formada por la unión de 100 moléculas de celobiosa (unidad de la celulosa). Cuando se asocian 20 de estas fibrillas elementales se forma una microfibrilla (observable con el microscópico electrónico, 10-25 nanómetros). La agregación de 250 microfibrillas, constituye una macrofibrilla (observable con el microscópico óptico). La agregación de 1500 microfibrillas constituye una fibra de celulosa (observable con lupa), elemento básico del componente cristalino

Los diseños formados por las microfibrillas son variables. En la pared primaria las fibrillas están entrelazadas, dispuestas aparentemente al azar; en la pared secundaria están dispuestas paralelamente.

**Ilustración 5.** Pared primaria.



**Fuente:** Anatomía vegetal<sup>29</sup>

**Ilustración 6.** Pared secundaria.



**Fuente:** Introductory botany: plants, people, and environment<sup>30</sup>

La separación de la pared secundaria en capas resulta principalmente de la orientación de las fibrillas: en una casi horizontal, en la siguiente casi vertical, y en la tercera nuevamente casi horizontal.

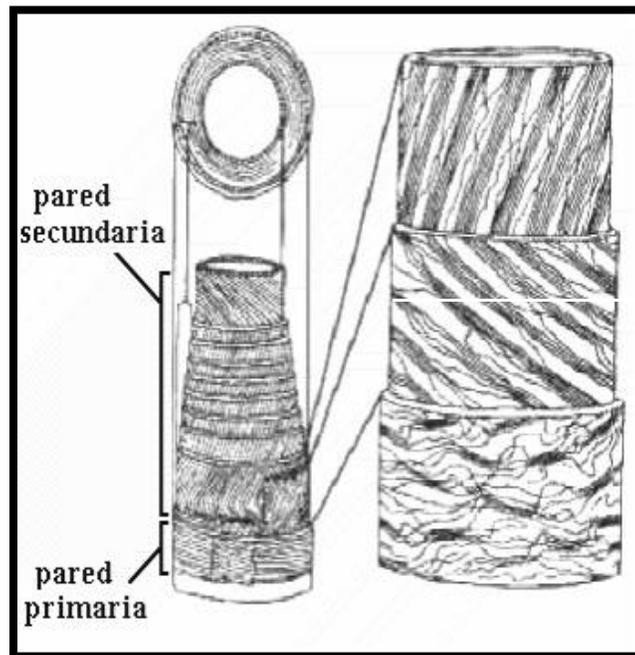
---

<sup>29</sup> FAHN, A. Anatomía Vegetal. En: Blume Ediciones. Madrid, 1978.

<sup>30</sup> BERG, Linda. Introductory botany: plans, people, and environment. 2 ed. En: Belmont, Calif. 2008.

En las fibrillas de algodón la mayor parte de la pared secundaria consiste de microfibrillas dispuestas helicoidalmente en un ángulo de 45 grados con respecto al eje mayor de la célula.

**Ilustración 7.** Diagrama de las capas de la pared celular de una fibra de algodón.



**Fuente:** Anatomía Vegetal<sup>31</sup>

- **Matriz de la pared celular.** Está compuesta por tres tipos de macromoléculas: hemicelulosas, pectinas y glucoproteínas estructurales (puede lignificarse). Las hemicelulosas son polisacáridos no celulósicos flexibles (xilanos, glucanos, galactanos, mananos, fructanos, xiloglucanos, glucomananos, arabinoxilanos, calosaglucanos) compuestos producidos por los dictiosomas. Revisten las fibrillas de celulosa y cristalizan con ella, uniéndolas; por lo tanto, forman cadenas que atan a las microfibrillas de celulosa juntas formando una cadena cohesiva actuando como un revestimiento resbaladizo que impide el contacto directo entre microfibrillas.”<sup>32</sup>

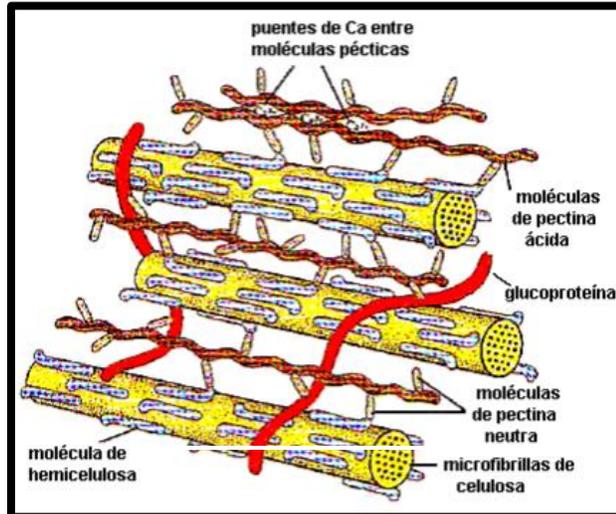
Las microfibrillas se combinan mediante las hemicelulosas, uniéndose químicamente a la celulosa creando una estructura llamada macrofibrilla. La

<sup>31</sup> ESAU, Katherine. Anatomía Vegetal. En: Barcelona, Ediciones Omega, 1972. p. 779.

<sup>32</sup> ALONSO PEÑA, José. La célula vegetal. En: Manual de Histología Vegetal. España, Mundi-Prensa, 2011. p. 15-40.

hemicelulosas y las ligninas unen las microfibrillas de celulosa, al ser altamente hidrófilas manteniendo la hidratación de las paredes. La lignina es un polímero heterogéneo de carácter fenólico con diferentes grupos y enlaces químicos.

**Ilustración 8.** Complejo de celulosa.



**Fuentes:** Biología de las plantas<sup>33</sup>

En la Ilustración 12 se observa de forma esquemático la relación que existe entre estos tres compuestos (celulosa, hemicelulosa y lignina).

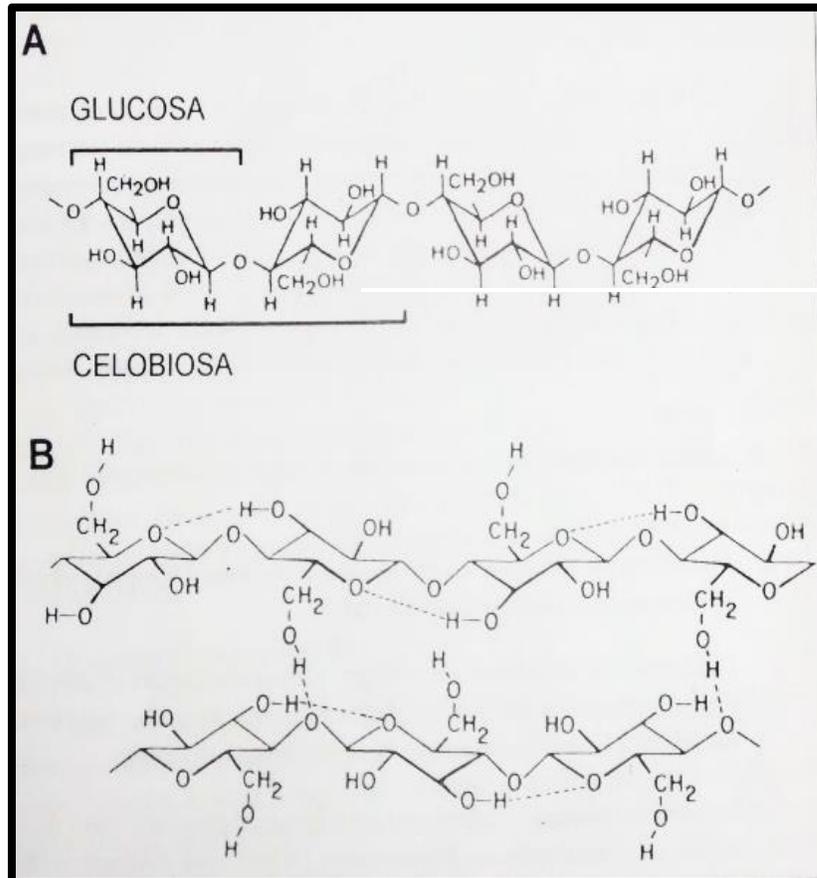
## 1.4 CARACTERÍSTICAS DE LA CELULOSA

La celulosa es el compuesto biológico de naturaleza polimérica más abundante en la naturaleza. Es un componente fundamental de la pared de las células vegetales, donde se encuentra íntimamente asociada con otros polisacáridos.

**1.4.1 Composición y estructura de la celulosa.** “La celulosa es un homopolímero de cadena lineal formado por moléculas de glucosa por enlaces 1,4- $\beta$ -glucosídicos. Las moléculas contiguas de glucosa están giradas 180° una con respecto a la otra. Esto hace que cada dos moléculas de glucosa contiguas (o lo que es lo mismo, una unidad de celobiosa) constituyen una unidad respectiva. Todas las moléculas de glucosa presentan una conformación en silla y, debido a la configuración beta, todos los grupos hidroxilo están en posición ecuatorial.

<sup>33</sup> HAMILTON RAVEN, Peter; EVERT, Ray y EICHHORN, Susan. Biología de las plantas. 2 ed. Reverte. En: Barcelona, 1992. p. 773.

**Ilustración 9.** Estructura básica de la celulosa. a) Composición de la cadena de celulosa. b) Disposición de las cadenas de celulosa, mostrando los puentes de hidrógeno inter e intramoleculares que estabilizan la estructura.



**Fuente:** Fuente: Biodegradación de la celulosa y la lignina: los materiales celulósicos<sup>35</sup>

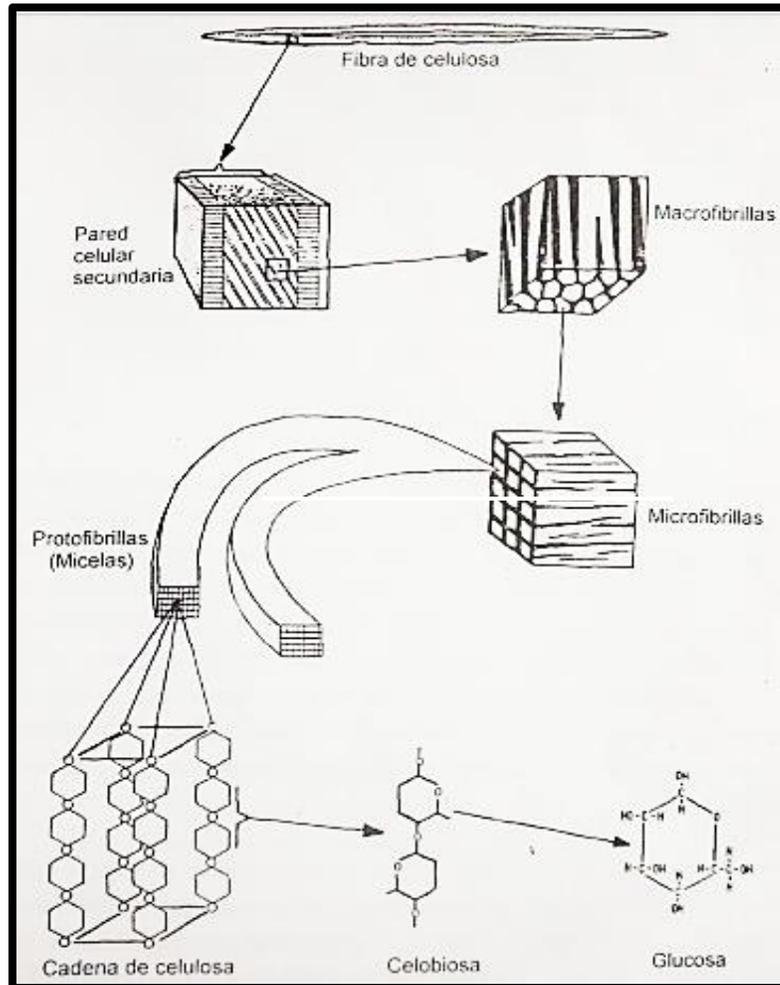
En la **Ilustración 13** a) la celulosa presenta una estructura en capas, donde las cadenas sencillas en una capa se unen por puentes de hidrógeno intermoleculares y las capas se unen entre sí por enlaces tipo Van der Waals, ilustración 13 b).

Los aspectos más importantes de la estructura física de la celulosa son (Veiga et al., 1987):

- Las cadenas poliméricas de la celulosa natural muestran diferentes grados de ordenamiento unas con respecto a otras.
- La fracción menos ordenada del polímero no muestra ninguna regularidad, y se conoce como “región amorfa” siendo fácilmente hidrolizable.

- La fracción altamente ordenada del polímero se conoce como “región cristalina”, y es muy resistente a la penetración por solventes, enzimas y reactivos.”<sup>34</sup>

**Ilustración 10.** Organización de la celulosa observada a distintos niveles.



**Fuente:** Fuente: Biodegradación de la celulosa y la lignina: los materiales celulósicos<sup>35</sup>

**1.4.2 Comportamiento químico de la celulosa.** En los tratamientos químicos de las fibras de celulosa, según sea la naturaleza de los agentes químicos y las condiciones de reacción, los reactivos pueden penetrar solamente en los espacios intermicelares.

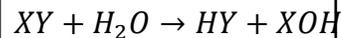
<sup>34</sup> GEISSMAN, T.A. Carbohidratos. La química de los azúcares y los compuestos relacionados. En: Principios de la química orgánica. 2 ed. Los Ángeles: 1974. p. 529-566.

La inhibición con agua o álcalis va acompañada por una hinchazón de la fibra, lo cual es un proceso intermicelar; mientras que en las reacciones con ácidos y álcalis concentrados se trata de proceso que implican reacciones intramicelares

La inhibición con agua por falta de fuerzas afines no consigue penetrar en las zonas cristalinas en las fibrillas primarias; en cambio, las reacciones intramicelares que conducen a derivados de la celulosa tienen lugar en todas las zonas de la fibra, tanto cristalinas como amorfas. Los grupos activos de la cadena macromolecular entran en reacción con secuencia fortuita. Solamente las primeras etapas de la reacción tienen lugar preferentemente en las zonas menos ordenadas (zonas amorfas) de las fibrillas primarias y en las cadenas marginales de la celulosa de los espacios capilares de la fibra. Desde allí la reacción sigue alcanzando las zonas cristalinas de modo que el proceso en conjunto abarca todas las zonas de la fibra. La velocidad del proceso total depende de la morfología de la fibra considerada y de la velocidad de aporte del reactivo desde el medio reaccionante a los puntos activos de reacción.<sup>35</sup>

## 1.5 HIDRÓLISIS

### Ecuación 1. Reacción hidrólisis



La hidrólisis se produce llevando a cabo la reacción química Ec 1. Entre una molécula de agua y otra molécula, en la cual la molécula de agua efectúa una doble descomposición con otro compuesto, el hidrógeno va a un componente y el hidróxido a otro.

La etapa del hidrólisis provoca la ruptura de los polímeros de celulosa y hemicelulosas, obteniéndose monómeros; la hidrólisis completa de celulosa da exclusivamente el monómero D-glucosa, mientras que a partir de la celulosa se obtienen un conjunto de pentosas y hexosas como manosa, glucosa, xilosa, etc.

**1.5.1 Hidrólisis enzimática.** La hidrólisis enzimática de la celulosa es una reacción catalítica heterogénea, caracterizada por un reactivo insoluble (celulosa) y un catalizador soluble (celulasas) en donde las características del sustrato constituyen un factor limitante debido a que la enzima hidroliza rápidamente la celulosa amorfa y lentamente la celulosa cristalina.

“En la hidrólisis enzimática es posible evidenciar las siguientes etapas:

---

<sup>35</sup> NOMBELA, Joaquín. Algodonero, sus clases, sus especies y variedades. En: Manual del cultivo del algodón de su fabricación y de los diversos usos a que se aplica. París: 1863. p. 19-41.

- Las moléculas de enzima se transfieren de la solución en la que se encuentran suspendidas a la superficie del sustrato.
- Adsorción de las moléculas y formación del complejo enzima-sustrato.
- Transferencia de las moléculas de agua hacia los centros activos del complejo.
- La reacción toma lugar y los productos obtenidos (glucosa y celobiosa) son transferidos desde la superficie del sustrato hasta el medio acuoso.
- Descomposición final de las cadenas de celobiosa formadas en glucosa.”<sup>36</sup>

La hidrólisis enzimática posee ventajas de operación a condiciones de fácil manejo, “no genera corrosión, bajo consumo de enzima y baja toxicidad de los hidrolizados.”<sup>37</sup>

Aunque a una velocidad mucho más lenta que la hidrólisis ácida y requiere de un pre-tratamiento con el fin de romper la interferencia de la lignina y hemicelulosas, dejando así vía libre de la celulasa a la celulosa.

**1.5.1.1 Enzima.** Las enzimas son moléculas de naturaleza proteica que actúan como catalizadores de reacciones; es necesaria la presencia de un catalizador (sustancia que facilita la reacción aumentando la velocidad a la cual se desarrolla), que es específico para determinada reacción (de lo contrario podrían ocurrir reacciones no deseables). Esto quiere decir que cada enzima actúa sobre un sustrato que tienen en común una cierta identidad molecular.

### 1.5.1.2 Aspectos enzimáticos

➤ **Enzimas implicadas en la degradación de la celulosa.** “El concepto de enzima múltiple precediendo en muchos años al aislamiento de las endo y exo-glucanasas. El primero, llamado  $C_1$ , ataca la celulosa nativa para romper los agregados y producir cadenas lineales de unidades de anhidroglucosa; estas son atacadas  $C_x$  ( $\beta$ -1,4-glucanasa) que las hidroliza al disacárido celobiosa. La celobiosa puede ser convertida en glucosa por la  $\beta$ -glucosidasa.

---

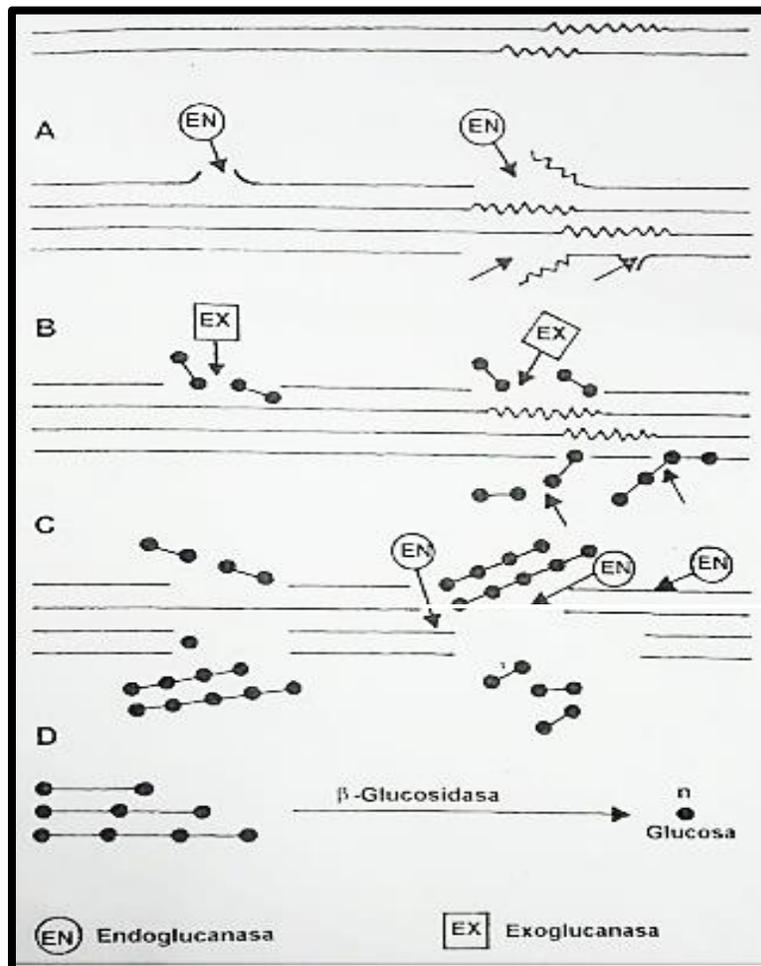
<sup>36</sup> GARAVITO, Diana Lorena y GONZALÉZ, Yimmy Germán. Análisis experimental de la enzima celulasa en la hidrólisis de residuos celulósicos. Trabajo de Grado Ingeniero Químico. Bogotá D.C.: Fundación Universidad de América. Facultad de Ingeniería, 2004. 156 p.

<sup>37</sup> DAGNINO, Eliana et al. Hidrólisis enzimática de cascarilla de arroz pre tratada con ácido diluido para evaluar la eficacia de etapa de pre tratamiento. En: Febrero, 2012, p. 23-28.

Los complejos celulolíticos son capaces de llevar a cabo tres tipos básicos de reacciones. Estos tipos de enzimas se clasifican de acuerdo con su modo de acción de la siguiente manera:

- Exo- $\beta$ -1,4-gluconasa o  $\beta$ -1,4-glucano celobiohidrolasa,  $C_1$ .
- Endo-  $\beta$ -1,4-gluconasa o  $\beta$ -1,4-glucanohidrolasa,  $C_x$ .
- Beta-1,4-glucosidasa.

**Ilustración 11.** Representación esquemática de los sitios de actuación de los distintas enzimas celulolíticas.



**Fuente:** Biodegradación de la celulosa y la lignina: los materiales celulósicos<sup>35</sup>

En la **Ilustración 11**, se muestra de forma esquemática los sitios de ataque de las principales enzimas celulolíticas.

Las endoglucanasas atacan las regiones amorfas de la celulosa, liberando extremos de cadena para el ataque de las exoglucanasas; éstas liberan residuos de celobiosa. Las  $\beta$ -glucosidasas actúan sobre los extremos libres y sobre la celobiosa, liberando moléculas de glucosa.

- **Endoglucanasas.** Actúan sobre el interior de las cadenas de celulosa produciendo cortes al azar; éstas hidrolizan la celulosa con un alto grado de polimerización para producir glucosa, celobiosa y otros oligómeros solubles en agua. Estos oligómeros sirven como sustrato para la enzima, liberando productos finales como glucosa, celobiosa y pequeñas cantidades de triosas. Las endoglucanasas actúan mal sobre la celulosa cristalina.
- **Celobiohidrolasas.** Atacan las cadenas de celulosa por los extremos no reductores terminales liberando celobiosa como único producto de hidrólisis. Estas muestran una fuerte actividad hacia la celulosa cristalina, pero presentan una actividad muy baja hacia la carboximetilcelulosa. La fibra de algodón, que es una celulosa pseudocristalina con un alto número de puentes de hidrógeno, y un grado de polimerización en torno a 10.000 es hidrolizada de forma lenta, ya que contiene relativamente pocos extremos libres.
- **Beta-glucosidasas.** Se considera como uno de los componentes del complejo celulítico debido al importante papel que tiene en la hidrólisis de la celobiosa a glucosa<sup>38</sup>.

**1.5.1.3 Actividad enzimática.** La especificidad enzimática se demuestra por el hecho de que, a partir del mismo sustrato, se forman diferentes productos finales cuando actúan diferentes enzimas. El efecto de las enzimas se ve influenciado por la temperatura, el tiempo de exposición a dicha temperatura, el pH, la concentración de productos y la presencia de actividades e inhibidores.

**1.5.1.4 Pretratamiento para aumentar la susceptibilidad del papel moneda y billetes.** La principal barrera es la presencia de hemicelulosas y lignina, las cuales dificultan el ataque enzimático; partiendo de esto es indispensable realizar una etapa que permita aumentar la susceptibilidad del retal de papel moneda y billetes para alcanzar una mayor conversión de celulosa a azúcares reductores.

---

<sup>38</sup> LUCAS, Rosario y PÉREZ, Juan. Los materiales celulósicos. En: Biodegradación de la Celulosa y la Lignina. Jaén, 2001. p. 14-28.

Por lo tanto, el pretratamiento tiene como fin desintegrar la matriz compuesta por las hemicelulosas y lignina de tal manera que la celulosa reduzca su grado de cristalinidad y aumente la celulosa amorfa, que es la más adecuada para el posterior ataque enzimático. Además, el pretratamiento permite que los rendimientos en la hidrólisis enzimática de la celulosa aumenten<sup>39</sup>.

A continuación, se dan a conocer varios tipos de pretratamientos implementados según la literatura consultada, siendo éstos de carácter químico, físico y biológicos que se observan en las **Ilustraciones 12 y 13**.

---

<sup>39</sup> FORERO GOMEZ, Fabián Enrique; LOPEZ VELANDIA, Roberto Ribelino. OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE BRÓCOLI Y CÁSCARA DE ARVEJA EMPLEANDO LA ENZIMA MULTIFECT 720 DE CARÁCTER BÁSICO A NIVEL DE LABORATORIO. Ingeniero Químico. Bogotá D.C.. Fundación Universidad de América. 2007. 47 p.

## Ilustración 12. Métodos de pre-tratamiento.

Métodos	Procedimiento/Agentes	Observaciones	Ejemplos de materiales pretratados	Referencia
<b>Pretratamientos físicos</b>				
Pulverizado mecánico	Reducción a astillas, trituración, molienda.	Molinos: vibratorio de bolas (tamaño final: 0,2-2mm), de cuchillas o martillo (tamaño final: 3-6mm).	Residuos de madera y forestales (paja, madera dura), desechos de maíz, bagazo de caña, timothy, alfalfa.	Sun y Cheng, 2002; Rivers y Emert, 1988; Cadoche y López, 1989; Papatheofanous <i>et al.</i> , 1998; Alvo y Belkacemi, 1997.
Pirólisis	T>300°C	Formación de productos volátiles y carbón. Residuos de la pirólisis pueden someterse a hidrólisis ácida suave (1N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , T=97°C, 2,5h ) para producir 80-85% AR (>50% de glucosa). Puede realizarse al vacío: 400°C, p=1mm Hg, 20min (algodón de desecho).	Madera, algodón de desecho.	Sun y Cheng, 2002; Yu y Zhang, 2003.
<b>Pretratamientos físico-químicos</b>				
Explosión a vapor	Vapor saturado a 160-260°C, p=0,69-4,85 MPa por varios segundos o minutos, luego descompresión hasta presión atmosférica.	Altas concentraciones de sólidos. Hidrólisis del 80-100% de la hemicelulosa, destrucción de parte de la xilosa obtenida, formación de inhibidores, se requiere posterior lavado con agua. Al combinarse con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , SO <sub>2</sub> , o CO <sub>2</sub> mejora la eficiencia de la posterior hidrólisis enzimática, disminuyendo inhibidores. Reducción de tamaño con menor gasto energético comparado con pulverización. Ocurre cierta despolimerización de la celulosa. La lignina no se solubiliza o lo hace muy poco, pero se redistribuye.	Bagazo, madera blanda, paja de arroz, madera de aspen, madera de eucalipto.	Sun y Cheng, 2002; Kaar <i>et al.</i> , 1998; Moniruzzaman, 1996; De Bari <i>et al.</i> , 2002; Heitz <i>et al.</i> , 1987; Söderström <i>et al.</i> , 2003; Lynd <i>et al.</i> , 2002.
Agua líquida caliente (LHW)	Agua caliente presurizada, T=170-230°C, 1-46min.	Concentraciones de sólidos <20%. Ocurre cierta despolimerización de la celulosa. Hidrólisis del 80-100% de la hemicelulosa, >50% oligómeros. Solubilización parcial de la lignina (20-50%). Conversión durante la hidrólisis de celulosa >90%. Baja o nula formación de inhibidores.	Bagazo de caña.	Lynd, 1996; Laser <i>et al.</i> , 2002; Lynd <i>et al.</i> , 2002.
Explosión de fibra con amoníaco (AFEX)	Dosis 1-2kg de amoníaco/kg de biomasa seca, 90°C, 30min.	Se requiere recuperación de amoníaco, no produce inhibidores. Conversión durante la hidrólisis de celulosa >90% (bagazo y hierba de Bermuda). Para biomasa con alto contenido de lignina no es muy eficiente (conversión de celulosa <50%). Ocurre cierta despolimerización de la celulosa. Hidrólisis del 0-60% de la hemicelulosa en dependencia de la humedad, más del 90% oligómeros. Ocurre cierta solubilización de la lignina (~10-20%).	Materiales herbáceos (paja de trigo y cebada, cascari-lla de arroz, desechos de maíz, switchgrass), residuos sólidos urbanos, papel periódico, alfalfa, astillas de aspen y bagazo.	Sun y Cheng, 2002, Dale <i>et al.</i> , 1996, Lynd <i>et al.</i> , 2002.
Explosión con CO <sub>2</sub>	Dosis de 4 kg CO <sub>2</sub> /kg de fibra, p=5,62 MPa.	Conversión a glucosa durante la hidrólisis de celulosa >75% (alfalfa). No forma compuesto inhibitorios.	Alfalfa, mezcla de papel reciclado, bagazo de caña.	Sun y Cheng, 2002.

**Fuente:** PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE ALCOHOL CARBURANTE I: OBTENCIÓN A PARTIR DE DIFERENTES MATERIAS PRIMAS<sup>40</sup>

<sup>40</sup> SANCHÉZ, Óscar Julián y CARDONA, Carlos Ariel. PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE ALCOHOL CARBURANTE I: OBTENCIÓN A PARTIR DE DIFERENTES MATERIAS PRIMAS. En: Noviembre, 2005. vol. 30 no. 11. p. 671-678.

### Ilustración 13. Métodos de pre-tratamiento.

TABLA III (Continuación)

Métodos	Procedimiento/Agentes	Observaciones	Ejemplos de materiales pretratados	Referencia
<b>Pretratamientos químicos</b>				
Ozonólisis	Ozono, reacción a temperatura y presión ambientales.	Degradación principalmente de lignina. Conversión durante la hidrólisis de celulosa: 57% (aserrín). No se forman inhibidores.	Paja de trigo, bagazo, heno verde, cacahuete, pino, paja de algodón y aserrín de álamo.	Sun y Cheng, 2002.
Hidrólisis con ácido diluido	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , HCl, HNO <sub>3</sub> al 1-5%. Procesos de flujo continuo para baja carga de sólidos (5-10% peso sustrato/peso mezcla) a T=160-200°C; procesos por lotes a alta carga de sólidos (10-40%) a T=120-160°C. Presiones cercanas a 1 MPa.	Hidrólisis del 80-100% de la hemicelulosa, altas conversiones de xilano a xilosa. La alta temperatura es favorable para la hidrólisis de celulosa. Se requiere neutralizar el pH para la posterior hidrólisis enzimática. Ocurre cierta despolimerización de la celulosa. La lignina no se solubiliza o lo hace muy poco, pero se redistribuye.	Desechos de maíz, bagazo de caña, madera de álamo, switchgrass, paja de trigo, astillas de álamo.	Sun y Cheng, 2002; Schell <i>et al.</i> , 2003; Rodríguez-Chong <i>et al.</i> , 2004; Esteghlalian <i>et al.</i> , 1997; Wooley <i>et al.</i> , 1999; Lynd <i>et al.</i> , 2002.
Hidrólisis con ácido concentrado	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 10-30%, 170-190°C, relación 1:1,6 sólido-líquido. Ácido peracético 21-60%, sistema tipo silo.	Se requiere la recuperación del ácido. Tiempos de residencia mayores que en la hidrólisis con ácido diluido.	Bagazo de caña, aserrín de madera dura.	Cuzens y Millar, 1997; Teixeira <i>et al.</i> , 1999.
Hidrólisis alcalina	NaOH diluido, 24 h, 60°C	Remoción de lignina 24-55% para madera dura con contenido inicial de lignina del 20%, difícil remoción para maderas blandas con contenidos de lignina > 26%. Hidrólisis de > 50% de la hemicelulosa. Sustancial hinchamiento de la celulosa. Conversión durante la hidrol. de celulosa: 78,2% (paja de arroz), 67,1% (bagazo). Conversión durante la hidrol. de celulosa: proceso convencional, aprox. 54%; NaOH+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , aprox. 65% (hojas de caña de azúcar).	Madera dura, pajas con bajo contenido de lignina (10-18%), desechos de maíz, bagazo de caña, hojas de caña de azúcar.	Sun y Cheng, 2002; Rivers y Emert, 1988; Hari Krishna <i>et al.</i> , 1998; Lynd <i>et al.</i> , 2002.
Deslignificación oxidativa	Peroxidasa y H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> al 2%, 20°C, 8h.	Solubilización del 50% de la lignina y de casi la totalidad de la hemicelulosa. Conversión durante la hidrólisis de celulosa: 95% (aserrín).	Bagazo de caña.	Sun y Cheng, 2002.
Proceso organosolv	Solventes orgánicos (metanol, etanol, acetona, etilenglicol, trietilenglicol, entre otros) o su mezcla con 1% de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> o HCl.	Ruptura de la lignina interior y de las uniones de hemicelulosa. Solubilización casi total de la lignina. Hidrólisis casi total de la hemicelulosa. Altos rendimientos de xilosa. Recuperación de solventes y su remoción del sistema para no inhibir los procesos biológicos subsiguientes.	Madera de álamo.	Sun y Cheng, 2002; Rezzoug y Capart, 1996; Lynd <i>et al.</i> , 2002.
<b>Pretratamiento biológico</b>				
Pretratamiento con hongos	Hongos de la pudrición blanca, blanda y parda. Producción de celulosas por fermentación en sustrato sólido.	Los hongos producen celulosas, hemicelulasas y enzimas degradadoras de lignina: ligninasas, lignin-peroxidadas, polifenoloxidadas, lacasas y enzimas reductoras de quinonas. Proceso muy lento: <i>Pleurotus ostreatus</i> convierte el 35% de la paja de trigo en azúcares reductores en cinco semanas. Hongos de la pudrición parda degradan celulosa Hongos de la pudrición blanca y blanda degradan celulosa y lignina.	Paja de trigo, desechos de maíz.	Sun y Cheng, 2002; Tengerdy y Szakacs, 2003.

**Fuente:** PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE ALCOHOL CARBURANTE I: OBTENCIÓN A PARTIR DE DIFERENTES MATERIAS PRIMAS<sup>36</sup>

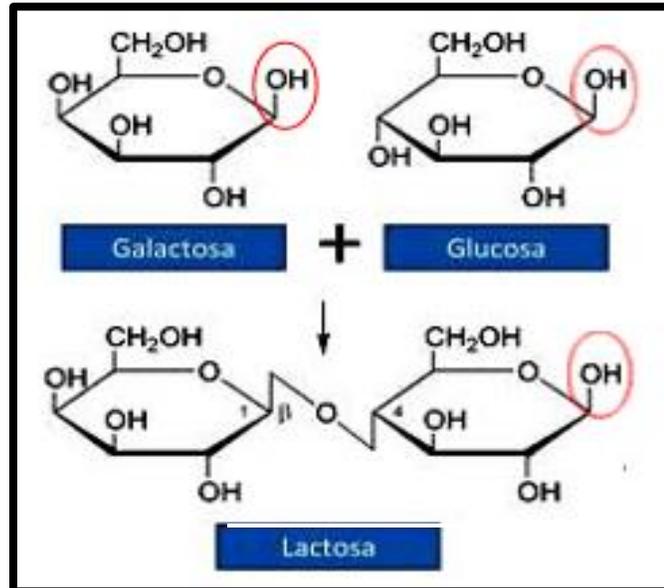
En las **Ilustraciones 12 y 13** se muestran diversos pretratamientos empleados en materiales que contengan lignina, hemicelulosa y celulosa junto con una breve descripción de cada uno de ellos y ejemplos de los materiales que han sido tratados.

### 1.6 AZÚCARES REDUCTORES

“Los azúcares reductores son aquellos azúcares que poseen su grupo carbonilo (grupo funcional), intacto, un grupo hemiacetal (una interacción entre C-2 y C-5,) que le confiera la característica de poder reaccionar con otros compuestos. En solución acuosa, dicho grupo libre tiene la capacidad de reducción de agentes

oxidantes. Las formas cíclicas hemiacetales de los azúcares tiene la potencialidad de generar trazas de la forma abierta (grupos aldehídos libres).

**Ilustración 14.** Estructuras de azúcares reductores.



**Fuente:** Obtención de jarabes azucarados a partir de la hidrólisis química de residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis l var valencia*) y papa (*solanum tuberosum*) variedad Diacol R-12 para ser empleados en la industria de alimentos<sup>37</sup>

Azúcares reductores son aquellos que como la glucosa, fructosa, lactosa y maltosa presentan un carbono libre en su estructura y pueden reducir, en determinadas condiciones, a las sales cúpricas.”<sup>41</sup>

A continuación, se dan a conocer distintos métodos de determinación de azúcares reductores:

<sup>41</sup> GERENA, Flor. Obtención de jarabes azucarados a partir de la hidrólisis química de residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis l var valencia*) y papa (*solanum tuberosum*) variedad Diacol capiro R-12 para ser empleados como edulcorantes en la industria de alimentos. Trabajo de grado Ingeniería de Alimentos. Duitama: Universidad Nacional Abierta y a Distancia “UNAD”. 2013. 116 p.

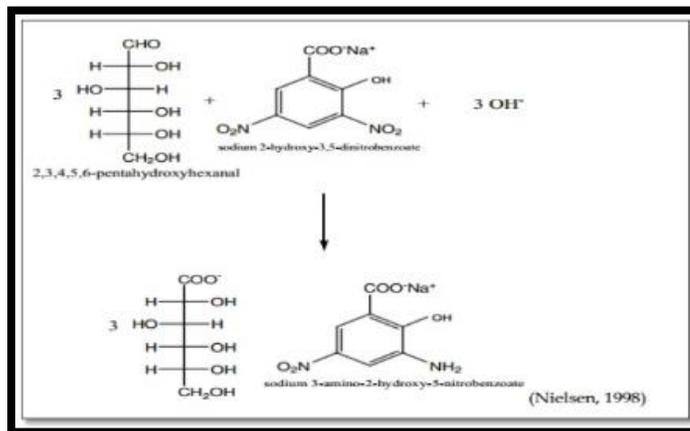
## 1.6.1 Métodos Cuantitativos

**1.6.1.1 Método de Fenol-Sulfúrico por espectrofotometría UV.** La reacción de color para medir la concentración de carbohidratos solubles por espectrofotometría se basa en la utilización del método colorimétrico de fenol-sulfúrico que depende de la deshidratación de sacáridos derivados de hidrolizados a furfural que transcurre en el proceso de la reacción. Los derivados del furfural del fenol coloreado absorbe la luz en el rango visible a una longitud de onda 490 nm.

**1.6.1.2 Método de Ácido Dinitrosalicílico DNS.** “En disolución alcalina el azúcar se hidroliza produciendo un compuesto que se reduce a un grupo nitro del DNS, para dar el producto monoamino correspondiente. Esta reacción da un producto colorido en solución alcalina. La reacción que se lleva a cabo es la siguiente”<sup>42</sup>

**Ilustración 15:**

**Ilustración 15.** Reacción de reducción de ácido dinitrosalicílico.



**Fuente:** Sustained oscillations in glycolysis: an experimental and theoretical study of chaotic and complex periodic behavior and of simple oscillations<sup>43</sup>

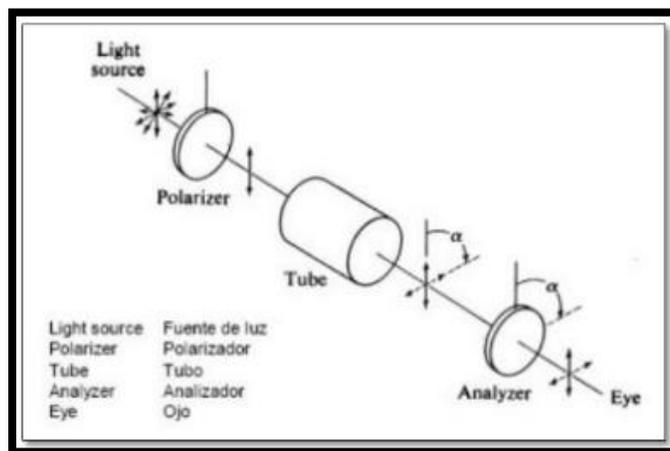
**1.6.1.3 Método Óptico de Polarimetría.** “Se coloca un tubo de muestra que contiene un líquido en solución, entre dos elementos polarizantes. El primer elemento (polarizador) polariza la luz antes de que este pase a través de la muestra.

<sup>42</sup> CRISTANCHO, Leidy y MONROY, Ricardo. Métodos cuantitativos. En: Manual de métodos generales para determinación de carbohidratos. Bogotá D.C.: UPTC, 2014. p. 5-17.

<sup>43</sup> NIELSEN, K.; SØRENSEN, P. y BUSSE, H. Sustained oscillations in glycolysis: an experimental and theoretical study of chaotic and complex periodic behavior and of simple oscillations. En: 1998. p. 49-62.

El segundo elemento (analizador) puede girarse para contrarrestar cualquier rotación por la muestra y por tanto, localiza la posición angular resultante del plano de la luz, y por lo tanto la cantidad de rotación causada por la muestra, donde se expresa sobre una escala diferente que se denota como  $^{\circ}Z$ . A continuación, se presenta un esquema de polarizado de una muestra de azúcar en solución.

**Ilustración 16.** Distribución de la luz en polarimetría.



**Fuente:** Análisis Polarimétrico<sup>44</sup>

**1.6.1.4 Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) de glucosa, sacarosa y fructosa.** La muestra se introduce en pequeños volúmenes a la corriente de la fase móvil bombeados con alta presión a una columna rellena de fase estacionaria y allí el analito se retarda preparándose por medio de interacciones químicas con la fase estacionaria mientras atraviesa la columna. El retardo se conoce como tiempo de retención, único para cada analito.

Para la separación de carbohidratos como sacarosa, glucosa y fructosa se utiliza una columna de separación rellena de una resina de intercambio catiónico con base cálcica, que exhiben propiedades como intercambio de ligandos y exclusión por tamaños.

La muestra diluida es previamente filtrada para la inyección en la columna, dependiendo de la geometría de los hidroxilos de los diferentes azúcares, estos interactúan con los cationes de la resina por afinidad, variando gradualmente los resultados de los tiempos de elución de las diferentes especies. El método se

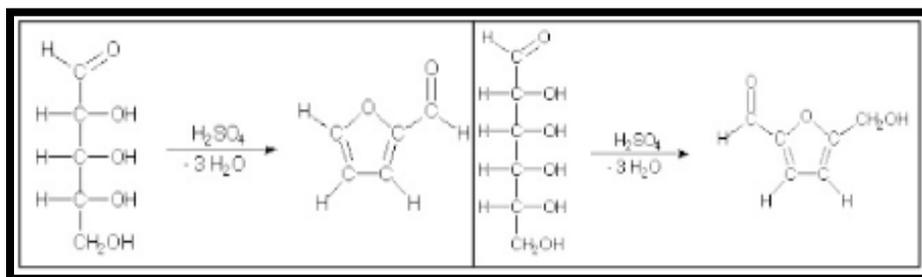
<sup>44</sup> CLAROS, Johan. Análisis Polarimétrico-Fundamento teórico [en línea]. Bogotá. Renglón 30. Disponible en Internet: < <https://es.scribd.com/doc/89862717/Analisis-polarimetrico>>.

aplica a moléculas de bajo peso molecular relativo, que puedan entrar en los poros de la resina y establecer enlaces temporales con los iones contrarios. Las moléculas largas no entran fácilmente en los poros y ellas eluyen con mayor rapidez. La estimación que luego lo relaciona al obtenido por un estándar.

## 1.6.2 Métodos Cualitativos

**1.6.2.1 Prueba de Molisch.** Es la prueba específica para determinar la presencia de carbohidratos en una muestra, al deshidratar el glúcido (monosacáridos-alta reacción y disacáridos, polisacáridos-baja reacción) forma furfural; este al reaccionar con  $\alpha$ -Naftol produce un complejo de color morado. A continuación, en la **Ilustración 17**, se presenta la reacción química.

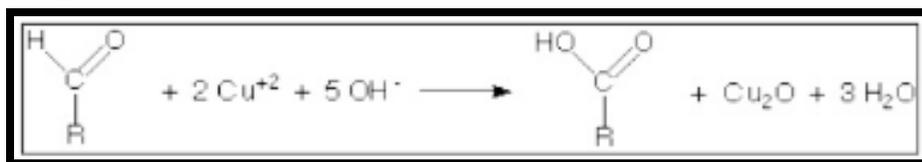
**Ilustración 17.** Reacción química en la Prueba de Molisch.



**Fuente:** Carbohydrates<sup>45</sup>

**1.6.2.2 Prueba de Benedict.** Cuando un carbohidrato posee en su estructura un grupo carbonilo libre (C=O) esta reducirá el reactivo de Benedict por oxidación con los iones cobre en una solución de pH alcalino y la acción del calor (punto de ebullición); forma ácido carboxílico; al reaccionar se puede denominar como azúcar reductor. La reacción de oxidación del cobre se presenta en la **Ilustración 18**.

**Ilustración 18.** Reacción de Oxidación del cobre en presencia del glúcido-reductor.

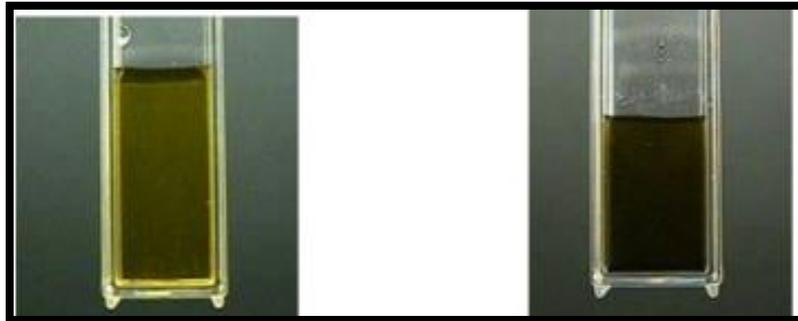


**Fuente:** Carbohydrates<sup>41</sup>

<sup>45</sup> HARPER COLLEGE. Carbohydrates. Virtual Quemistry Lab [en línea] Illinois, USA. Disponible en Internet: < <http://www.harpercollege.edu/tm-ps/chm/100/dgodambe/thedisk/carbo/carbo.htm>>.

**1.6.2.3 Prueba de Lugol.** La interacción del yodo o yodo potásico con el almidón forma coloraciones azules oscuras, debido a la ocupación de los espacios libres del glúcido, este es un glúcido alterado, al cual, sus propiedades físicas son modificadas, como la no absorción lumínica. A continuación, se presenta los resultados visuales positivos y negativos de la prueba en la **Ilustración 19**.

**Ilustración 19.** Resultado negativo de la prueba de Lugol (izquierda). Resultado positivo de la prueba de Lugol (derecha).

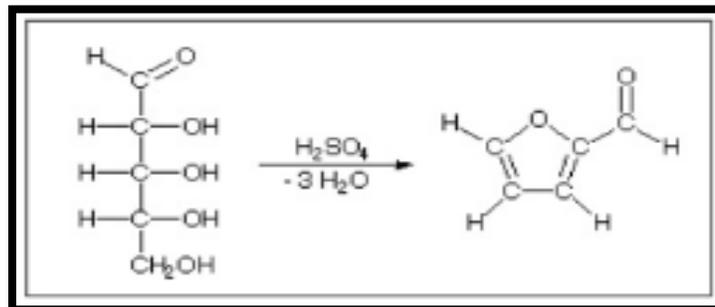


**Fuente:** Carbohydrates<sup>41</sup>

**1.6.2.4 Prueba de Bial.** Esta prueba detecta la pentosa. El reactivo deshidrata las pentosas formando furfural (derivados de las pentosas). Estos derivados de las pentosas además reaccionan con orcinol y los iones de hierro presentes en el test reactivo, general productos de color azul.

En la **Ilustración 20**, se representa la reacción de deshidratación y formación de furfural.

**Ilustración 20.** Reacción de deshidratación y formación de furfural.



**Fuente:** Carbohydrates<sup>41</sup>

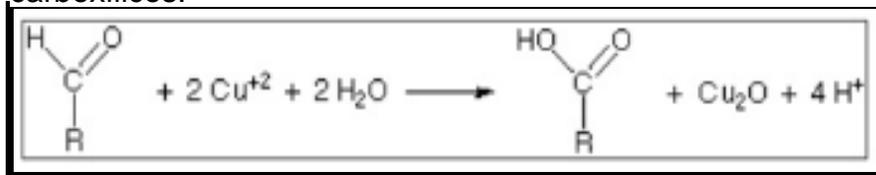
**Ilustración 21.** Resultados negativos de la prueba Bial (izquierda). Resultado positivo de la prueba de Bial (derecha).



**Fuente:** Carbohydrates<sup>41</sup>

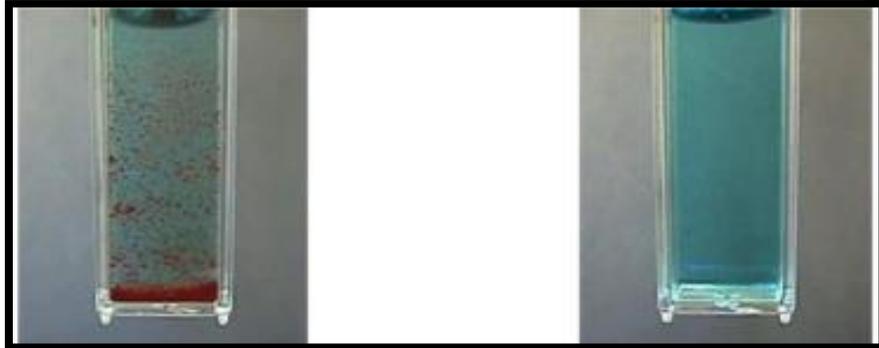
**1.6.2.5 Prueba de Barfoed.** Se utiliza para detectar monosacáridos reductores en disolución. Los monosacáridos reductores son oxidados por el ion de cobre, formándose ácido carboxílico y una precipitación rojiza de ion cobre. Los disacáridos reductores tienen la misma reacción, pero lo hacen más lento. A continuación, se da a conocer la reacción de oxidación en la **Ilustración 22**.

**Ilustración 22.** Reacción de oxidación y formación de ácidos carboxílicos.



**Fuente:** Carbohydrates<sup>41</sup>

**Ilustración 23.** Resultado positivo de la prueba de Barfoed (izquierda). Resultado negativo de la prueba de Barfoed (derecha).



Fuente: Carbohydrates<sup>41</sup>

**1.6.2.6 Prueba de Fehling.** La prueba reduce el cobre ( $Cu^{++}$ ) por oxidación con los todos los azúcares reductores, siempre que esté medio alcalino con una presencia de tartrato de sodio y potasio para permitir la estabilización del cobre.<sup>46</sup>

En la Ilustración 28 se representa los resultados visuales (positivo y negativo) de la prueba.

**Ilustración 24.** Coloración positiva de Fehling (izquierda). Coloración negativa de Fehling. (derecha)



Fuente: Manual de métodos generales para determinación de carbohidratos: Métodos cuantitativos

---

<sup>46</sup> Ibid., p.18.

## 2. METODOLOGÍA

El presente proyecto se desarrolla en los laboratorios del Centro de Gestión Industrial del Sena, cuyo fin es obtener azúcares reductores a partir del retal de papel moneda y billetes fuera de circulación.

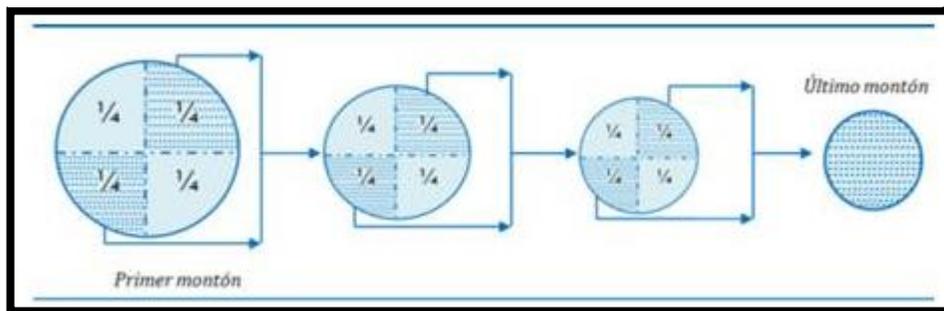
El desarrollo experimental consta de dos etapas principales que consisten en pretratamiento e hidrólisis enzimática. Para llevarlo a cabo es necesario seleccionar la muestra de billetes fuera de circulación y retal de papel moneda, luego realizar una evaluación a la muestra seleccionada dentro de la cual se determina una cuantificación de celulosa; posteriormente se hace una evaluación de enzima determinando así la actividad enzimática de ésta misma, una curva de calibración y por último una cuantificación de azúcares reductores.

Una vez terminado lo anteriormente mencionado se inicia con la primera etapa del desarrollo experimental, el pretratamiento el cual se realiza con hidróxido de sodio y luego la hidrólisis enzimática cuya enzima seleccionada fue Multifect B.

### 2.1 EVALUACIÓN DEL SUSTRATO

Se toma una muestra representativa del retal de papel moneda y billetes fuera de circulación, por medio de la técnica de cuarteo, la cual consiste en homogenizar la muestra y formar un círculo uniforme dividiéndolo en cuatro partes iguales. De allí se eliminan dos partes diagonalmente opuestas de manera aleatoria. Luego se mezcla el material restante y se cuartea sucesivamente hasta conseguir la cantidad necesaria como se muestra a continuación en la **Ilustración 25**.

**Ilustración 25.** Técnica de muestreo-Técnica de cuarteo.



**Fuente:** Método para la caracterización<sup>47</sup>

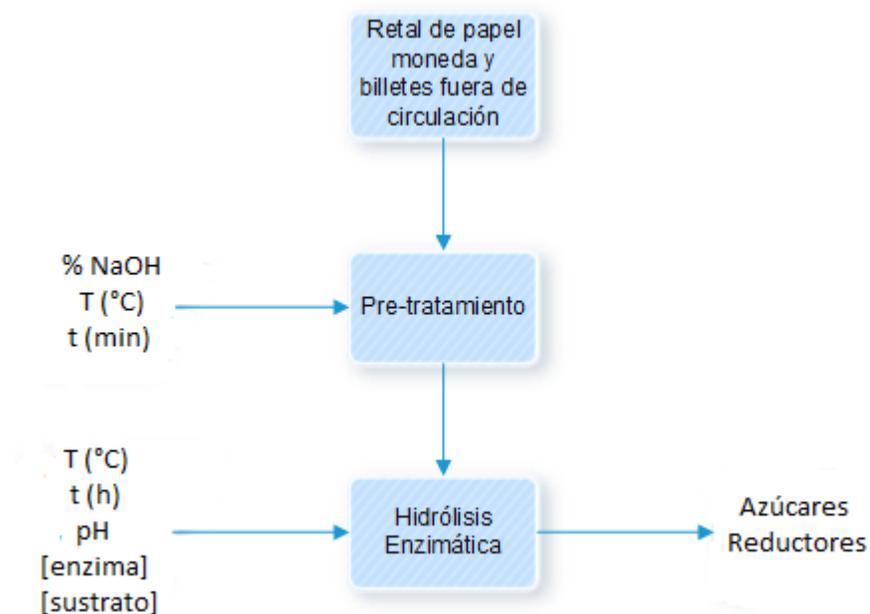
<sup>47</sup> Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Lección 10. Método para la Caracterización. [Consultado el 11/15/2016]. Disponible en Internet: <[http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358012/ContLin/leccin\\_10\\_mtodo\\_para\\_la\\_caracterizacin.html](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358012/ContLin/leccin_10_mtodo_para_la_caracterizacin.html)>.

En el caso del retal de papel moneda y billetes fuera de circulación no es necesario realizar una trituración debido a que estos vienen finamente picados por medidas según su forma: rectangular (largo: 1-1.5 cm, ancho: 2-3 mm).

## 2.2 ESQUEMA GENERAL DE LA OBTENCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES

En el siguiente esquema se muestra el proceso de obtención de azúcares reductores, teniendo en cuenta las etapas principales mencionadas anteriormente junto con sus variables correspondientes:

**Ilustración 26.** Esquema general de la obtención de azúcares reductores.



**2.2.1 Cuantificación de Celulosa.** Para realizar la cuantificación de celulosa se selecciona un método efectivo y confiable por medio del cual se pueda en primera instancia romper y posteriormente eliminar las cargas, el encolante, tintas vegetales, hemicelulosas y lignina (compuestos cuya macromolécula acaparan en forma de saco a la celulosa) con el fin de dejar libre a la celulosa y así poder realizar la cuantificación de ésta.

El método modificado de Kurschner Hoffer es empleado para cuantificar celulosa en vegetales, frutas y madera cuya composición química contiene barreras como los son las hemicelulosas y lignina. Éste método se emplea en el papel moneda y

billetes debido a que maneja montajes de calentamiento a reflujo a altas temperaturas, junto con el ácido nítrico y el hidróxido de sodio, sustancias fuertes que ayudan a descomponer el mayor obstáculo para obtener la celulosa siendo éste el encolado del papel.

Para llevar a cabo la cuantificación de celulosa se toma 1 g de muestra (peso realizado en una balanza analítica Pioneer, OHUS), a la cual se le adicionan 20 mL de etanol y 5 mL de ácido nítrico<sup>48</sup>. Una vez homogenizados se somete a calentamiento a reflujo durante 1 hora y 50 minutos; luego se realiza una filtración al vacío y se lava con agua tipo 1; nuevamente se somete a calentamiento a reflujo en agua durante 1 hora, se filtra al vacío y se lava con agua tipo 1. Posteriormente se adiciona hidróxido de sodio 0,4 N y se lleva a reflujo durante 1 hora, se filtra al vacío y se lava con agua tipo 1. El producto se seca en un horno a 50°C durante una hora. El montaje se puede apreciar en la siguiente ilustración<sup>49</sup>.

**Ilustración 27.** Montaje de calentamiento a reflujo.



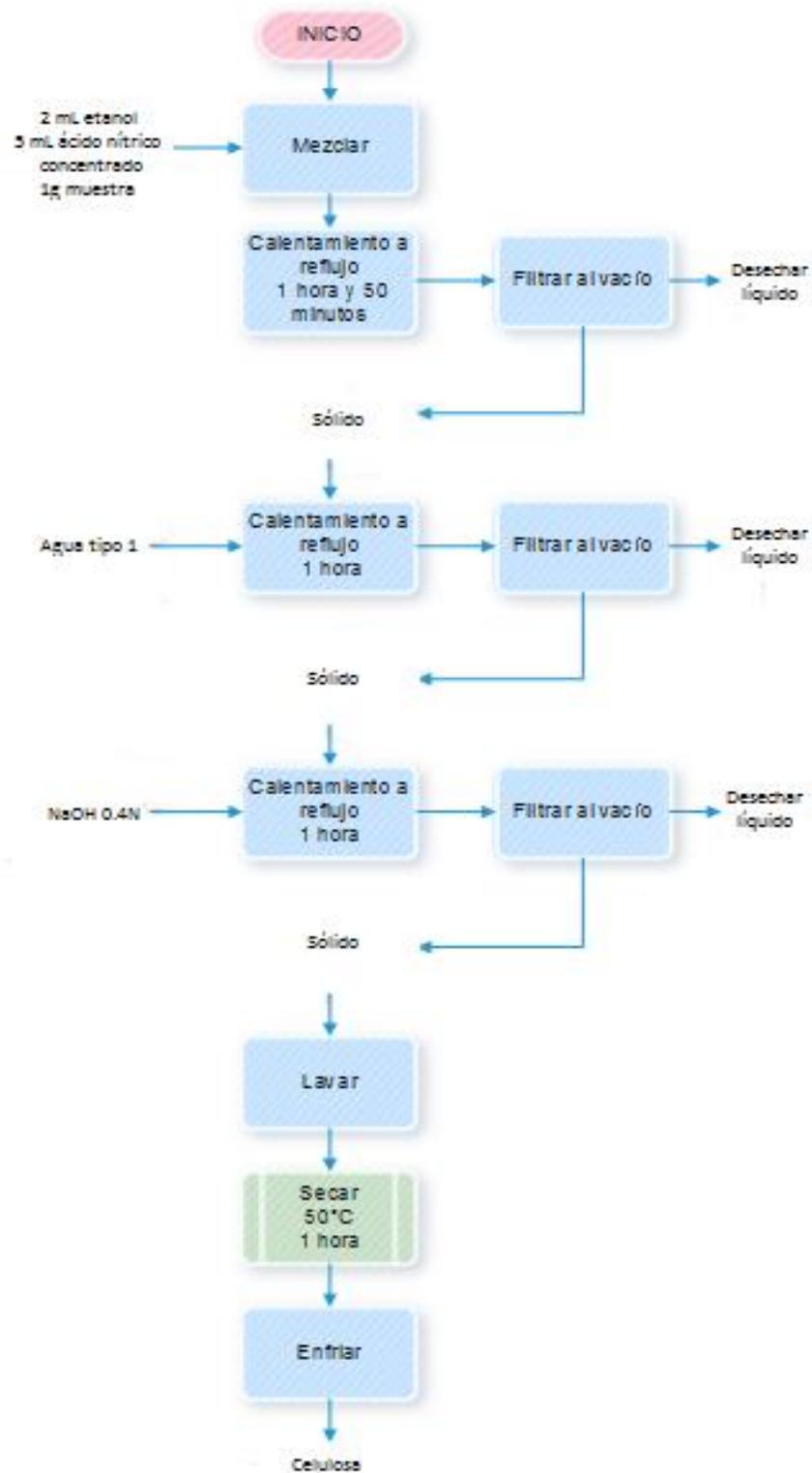
A continuación, se presenta el proceso anteriormente descrito por medio de un esquema, en la **Ilustración 28**.

---

<sup>48</sup> PINTO, Paula; EVTUGUIN, Dmitry; PASCOAL, Carlos. Chemical composition and structural features of the macromolecular components of plantation Acacia mangium Wood. *En:* 2005. No. 53,. p. 7856-7862.

<sup>49</sup> BAUTISTA, Roberto; HONORATO, Jose. Composición química de la madera de cuatro especies del género *Quercus*. *En:* Marzo, 2006. p. 25-31

**Ilustración 28.** Paso a paso del desarrollo experimental de la cuantificación de celulosa.



Tanto el porcentaje de humedad como el porcentaje de cenizas del retal de papel moneda y billetes fuera de circulación se realizaron por medio del método de gravimetría a cargo del INSTITUTO DE HIGIENE AMBIENTAL LTDA, empresa contratada por Control Ambiental de Colombia Ltda, cuyos resultados se pueden observar en el **ANEXO A**.

**2.2.2 Determinación de Humedad.** El método consiste en la pérdida de peso de la muestra por calentamiento en una estufa, refiriendo su peso al peso total de la muestra y expresada como porcentaje.

- **Procedimiento:** pesar en un crisol previamente tarado de 1 a 1.5 g de muestra homogénea; se procede a colocar al crisol junto con la muestra en la estufa manteniendo la temperatura  $T_1$ . Después de transcurrir el tiempo requerido, se lleva el crisol al desecador en donde se deja alcanzar la temperatura ambiente. Posterior a esto, se pesa en la balanza analítica y se vuelve a dejar en la estufa durante un tiempo determinado; una vez culminado el tiempo se retira de la estufa y se deja enfriar nuevamente en el desecador. Por último, se pesa nuevamente y se repite el procedimiento hasta alcanzar un pesaje constante.

**2.2.3 Determinación de Cenizas.** Las cenizas permanecen como residuos luego de la calcinación de la materia; la calcinación debe efectuarse a una temperatura adecuada, que sea lo suficientemente alta como para que la materia se destruya totalmente pero que la temperatura no sea excesiva para evitar que los compuestos inorgánicos sufran alteración (fusión, descomposición, volatilización o cambio de estructura).

- **Procedimiento:** pesar un crisol y agregar los gramos de muestra a tratar; con la ayuda de pinzas llevar el crisol a la mufla, la cual debe estar previamente calentada a una temperatura  $T_1$  durante el tiempo requerido. Una vez transcurrido el tiempo, se enfrían el crisol dentro de un desecador, para luego ser llevados y pesados en una balanza analítica. El peso se anota y se realizan los cálculos correspondientes.

### **2.3 CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES – DNS**

Es importante disponer de un método para cuantificar bajas concentraciones de azúcares reductores totales por lo que se emplea la metodología basada en el uso del ácido 3,5-dinitrosalicílico debido a que los determina espectrofotométricamente, donde la principal ventaja radica en la alta sensibilidad.

A continuación, se da a conocer los compuestos necesarios para obtener el reactivo DNS y la metodología que se debe llevar a cabo para realizar la cuantificación de azúcares reductores y la posterior lectura en el espectrofotómetro.

#### ❖ **Reactivos DNS**

- Ácido dinitrosalicílico 1%
- Hidróxido sódico 1%
- Sales de Rochelle (Tartrato Na-K) 1%

El reactivo que es bastante inestable debe tener un color amarillo anaranjado. El procedimiento de elaboración del reactivo DNS se puede visualizar en el **ANEXO B**.

#### ❖ **Procedimiento**

Se añaden 1 mL del reactivo DNS, 1 mL de muestra en un tubo de ensayo y se completa a 5 mL con agua tipo 1. Se colocan las muestras en un baño de agua en ebullición durante 15 minutos y se enfría en un baño de agua fría.

Para elaborar el blanco, se toman 2 mL del reactivo DNS y se completa con agua tipo 1 hasta 10 mL.

Una vez las muestras en los tubos de ensayo se hayan enfriado se prosigue a realizar la lectura en el espectrofotómetro (marca: Shimadzu, serial: A114551503399, modelo: UV-1800)

### **2.4 CURVA DE CALIBRACIÓN**

En la curva de calibración se propone un rango de disoluciones de glucosa amplio con el fin de que en las lecturas futuras de absorbancia luego del proceso de hidrólisis en el espectrofotómetro, estas estén dentro del rango propuesto para así poder hallar la concentración de glucosa (azúcares reductores). Por ende, la curva de calibración es un referente con concentraciones conocidas de glucosa que se emplea para determinar la concentración de azúcares reductores desconocidos.

Para dar inicio al procedimiento, se toman 0.5 g de glucosa (peso tomado en una balanza analítica Pioneer, OHUS), esta se diluye y es aforada en un balón de 100 mL. A cada uno de los ensayos se les adiciona 50 mL de agua tipo 1.

A partir de ésta disolución se realizan siete disoluciones a las siguientes concentraciones:

**Tabla 3.** Curva de calibración de glucosa

<b>Concentración Inicial de Glucosa (0.5g/100mL agua)</b>	<b>Diluciones de Glucosa (mg/mL)</b>
1	0.02
2	0.04
5	0.1
10	0.2
15	0.3
20	0.4
25	0.5

Las muestras junto con el blanco son llevadas al espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm. En primera instancia, se toman las dos celdas de cuarzo (en las cuales se realizan las lecturas de cada muestra) y se purgan con el blanco, luego se lee la intensidad de luz captada por éste. Se deja una de las celdas de cuarzo con el blanco, la otra se lava y se purga con la concentración de glucosa más baja y se realiza la lectura (allí la intensidad de la luz que sale de cada muestra es captada la cual depende de la concentración de azúcares y comparada con la intensidad de luz obtenida por el blanco) de la primera muestra, y así sucesivamente con todas las concentraciones de glucosa.

## **2.5 Evaluación de la Enzima – Multifect B**

Multifect B es un complejo enzimático constituido por celulasas y B-glucanasas cuya función es realizar la ruptura de la celulosa y celobiosa generando compuestos de menor tamaño, siendo afines con aplicaciones típicas de en pulpas de papel, las cuales trabajan bajo condiciones especificadas en la ficha técnica de la enzima. Ver **ANEXO C.**

Con la evaluación de la enzima Multifect B se busca corroborar las condiciones de trabajo de ésta con base a las dadas en la ficha técnica.

**2.5.1 Determinación de la Actividad Enzimática – Multifect B.** Este método permite medir la actividad de la enzima sobre un sustrato en el cual se presenta una fracción de celulosa cristalina y otra fracción de celulosa amorfa de proporciones variables y desconocidas<sup>50</sup>.

La determinación de la actividad de la enzima se realiza por medio del método del papel filtro, a continuación se muestran las especificaciones de éste:

---

<sup>50</sup> JAEN ALFONSE, M., et al. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DEL COMPLEJO CELULLÍTICO PRODUCIDO POR *Trichoderma reesie*. HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA CELULOSA. En: 1986. Ciemat.597. Sp ISSN 0081-3397. p. 1-19.

- Especificaciones papel filtro cuantitativo grado 391
- Marca: Munktell
- Diámetro: 90 mm
- 84 g/m<sup>2</sup> y Qty: 100
- Art. N° 3.104.090 Lot. N° 10-077

El procedimiento inicia tomando 0.5 g de papel filtro finamente picado, mezclándolo con 20 mL de buffer de citrato (0.05M, pH 5) y 5 µL de enzima en un vaso precipitado de 50 mL. Se agita manualmente durante 10 segundos cada 10 minutos. Luego se incuba durante 30, 75 y 120 min a 50°C, (tomando muestras al finalizar cada uno de los tiempos) en una plancha calefactora, se inactiva la enzima en un baño de agua en ebullición por un minuto.

Paralelamente se realiza el mismo procedimiento anteriormente mencionado, pero con ausencia del papel filtro, con el fin de hacer un blanco de enzima para cada lectura.

Posterior a esto, se determinan los azúcares obtenidos por el método del Reactivo DNS.

## **2.6 PRETRATAMIENTO CON HIDRÓXIDO DE SODIO**

Antes de proceder a realizar el proceso de hidrólisis enzimática es necesario acondicionar el retal de papel moneda y billetes según información bibliográfica con base a su composición química y aditivos presentes. De acuerdo a la escasa información suministrada por el Banco de la República e información bibliográfica consultada, se conoce que el principal componente del papel moneda es el algodón junto con algunos aditivos, cargas y encolante en menor cantidad, tal como se ve en el capítulo anterior. Por ende se debe elegir un pretratamiento que logre descomponer los aditivos, cargas, encolante hemicelulosa y lignina (éstos dos últimos componen la pared celular del algodón entrelazando y abrazando en forma de saco a la celulosa) con una sustancia lo suficientemente fuerte.

Para ello, se tienen dos opciones, la primera es tratar el papel moneda y billetes con ácido, siendo los más empleados el nítrico, cítrico y sulfúrico a temperatura; la segunda opción en vez de aplicar ácido se maneja con hidróxido de sodio o hidróxido de potasio a temperatura. La opción, según referencias bibliográficas que mejor efecto tiene es la primera, pero se decide manejar la segunda opción debido a que ésta propuesta posiblemente se implementen en campo y por disminuir contaminación directa al suelo en el proceso de compostaje, se opta manejar el hidróxido de sodio cuyo impacto ambiental es menor.

Se elige como compuesto alcalino para implementar en el pretratamiento es el hidróxido de sodio debido a que éste es menos costoso y se requieren menores cantidades para alcanzar la concentración de 2N necesaria.

Una vez se despojen del retal de papel moneda y billetes la mayor parte de aditivos, cargas y encolantes, la segunda función del hidróxido de sodio es romper los enlaces de lignina, hemicelulosas y enlaces glucosídicos de la celulosa quedando libre para ser convertida en azúcares reductores por medio del proceso de hidrólisis enzimática.

**Ilustración 29.** Montaje pre tratamiento con NaOH 2N.



Se toman 20 g de muestra y se depositan en 1 L de hidróxido de sodio 2N contenido en un beaker de 2L.

Para preparar 1L de NaOH 2N, se debe determinar la cantidad de gramos de NaOH a emplear utilizando la siguiente ecuación:

**Ecuación 2.** Normalidad

$$N = \frac{Eq - g}{V}$$

Donde:

N: Normalidad

Eq-g: Equivalente en gramos

V: Volumen de la solución

Despejando Eq-g y reemplazando:

**Ecuación 3. Equivalente en gramos**

$$Eq - g = N * V$$

$$Eq - g = 2N * 1L$$

Donde la conversión de la normalidad es:  $N = \frac{\text{moles del soluto}}{\text{Litros de la solución}}$

Dando como resultado:

$$Eq - g = 2 \text{ mol}$$

Ahora el equivalente en gramos es igual a:

**Ecuación 4. Equivalente en gramos**

$$Eq - g = \frac{\text{masa del soluto}}{\text{masa} - eq}$$

Donde:

Masa-eq: Masa equivalente, y es igual a:

**Ecuación 5. Masa equivalente**

$$\text{masa} - eq = \frac{\bar{M}}{\theta}$$

Donde:

$\bar{M}$ : peso molecular

$\theta$ : 1

Reemplazando el peso molecular del NaOH que es de 39.97g/mol, se obtiene que la masa-eq es igual 39.97g/mol.

Reemplazando masa-eq en la Ec. 3 se calcula la masa del soluto:

### Ecuación 6. Masa del soluto

$$masa\ soluto = Eq - g * masa - eq$$

$$masa\ soluto = (2mol) \left( \frac{39.97g}{mol} \right)$$
$$masa\ soluto = 80g\ NaOH$$

Se requieren 80g de NaOH disueltos en 1L de agua destilado, por lo tanto, para preparar 2L de NaOH 2N se requieren 160g de NaOH.

Posterior a esto, con la ayuda de un agitador magnético se agita la solución durante 1 hora<sup>51</sup> a una temperatura aproximada de 70°C<sup>52</sup>. La temperatura se alcanzó por medio de una plancha calefactora (marca:Thermo Scientific).

Finalizado el tiempo, se realiza una filtración y se deja secar a temperatura ambiente<sup>53</sup>.

## 2.7 HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

Para llevar a cabo la hidrólisis enzimática se adquiere una enzima que es empleada con base a la ficha técnica de ésta; la enzima es adquirida por medio de una importadora y distribuidora Merquiand S.A.

Es importante resaltar que las condiciones de trabajo dependen directamente de las especificaciones de la enzima, por lo cual para definir el pH y la temperatura del proceso se recurre a la ficha técnica.

Se acoge la hidrólisis enzimática como proceso de degradación del retal de papel moneda y billetes por ser un proceso amigable con los suelos y en el proceso de compostaje que se maneja en Control Ambiental de Colombia Ltda, debido a que aparte del buffer de citrato que se utiliza, se emplea la enzima Multifect B, la cual

---

<sup>51</sup> FORERO GOMEZ, Fabián Enrique; LOPEZ VELANDIA, Roberto Ribelino, OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE BRÓCOLI Y CÁSCARA DE ARVEJA EMPLEANDO LA ENZIMA MULTIFECT 720 DE CARÁCTER BÁSICO A NIVEL DE LABORATORIO, Op. cit. p. 58.

<sup>52</sup> GONZALEZ, S.; SOTO, N.; RUTIAGA, O.; MEDRANO, H.; RUTIAGA, J.; LÓPEZ, J.. Optimización del proceso de hidrólisis de hidrólisis enzimática de una mezcla de pajas de frijol de cuatro variedades (pinto villa, pinto saltillo, pinto mestizo y flor de mayo). En: Febrero, 2011, vol. 10, no 1,. p. 17-28.

<sup>53</sup> MALAGÓN, Martha. Obtención de etanol a partir de brócoli y cáscara de arveja empleando la enzima Multifect 720 de carácter básico a nivel de laboratorio. En: Septiembre, 2009. p. 1-12.

aparte de ayudar con la degradación del sustrato en estudio, ayudaría a la degradación de otro tipo de sustancias manejadas en la planta.

La hidrólisis enzimática tiene como objeto lograr y acelerar la degradación de la celulosa (de la cual está compuesto en su mayoría el retal de papel moneda y billetes) hasta azúcares reductores, los cuales son más fácil de ser descompuestos por los microorganismos del suelo empleados en el proceso de compostaje en Control Ambiental de Colombia Ltda.

Por disposición de equipos en el laboratorio del Centro de Gestión Industrial SENA, no se realiza un diseño de experimentos, por lo cual con base a referenciación bibliográfica y ficha técnica de la enzima se opta por manejar el pH y temperatura como parámetros fijos y la dosificación y tiempo como parámetros variables.

A continuación, se da a conocer como es llevado a cabo el proceso de hidrólisis enzimática.

Se tienen 4 parámetros, dos de ellos son fijos durante la experimentación y dos son variables:

❖ Fijos:

- pH 5
- Temperatura 50°C

❖ Variables:

- Dosificación enzima: La relación enzima/sustrato es de 0.075% peso enzima/peso sustrato. A continuación, en la **Tabla 4** se muestran las dosificaciones empleadas en la experimentación para 5g de muestra.

**Tabla 4.** Dosificación de enzima para 5 g de muestra

<b>Relación Enzima/Sustrato (%P/V)</b>	<b>Dosificación Enzima (µL)</b>
0.1	5
1.0	50
5.0	250
10.0	500

- Tiempo de Reacción: 0h, 1h, 2h, 4h, 8h, 25h, 34h y 54h.

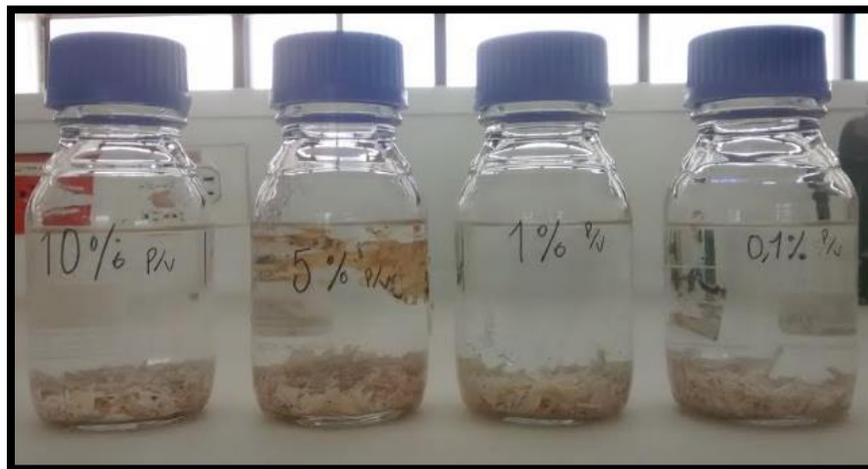
En cuatro recipientes schott de 250 mL en cada uno de ellos se agrega 5 g de muestra pre tratada, 200 mL de buffer de citrato (0.05M, pH 5) y la dosificación de enzima correspondiente (se emplean micropipetas de 5-50  $\mu$ L y de 100-1000  $\mu$ L para mayor exactitud) mostradas en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Dosificación de enzima para la hidrólisis enzimática.

N° Schott	Buffer de citrato (mL)	Dosificación enzima ( $\mu$ L)
1	200	5
2	200	50
3	200	250
4	200	500

En la **Ilustración 30** se muestra cada ensayo en el tiempo 0 h.

**Ilustración 30.** Ensayos de hidrólisis enzimática a distintas dosificaciones de enzima: 500 $\mu$ L, 250 $\mu$ L, 50 $\mu$ L y 5 $\mu$ L (de izquierda a derecha, respectivamente).



Los cuatro ensayos se disponen en un shaker incubador (marca: innova 40) en el cual se regula la temperatura a 50°C y una agitación considerable que se elige a criterio visual (cuando se vean que la muestra pretratada se agite lo suficiente de arriba hacia abajo y viceversa, generando mayor contacto con la enzima) siendo ésta de 170 RPM.

Una vez se vayan culminando los tiempos estipulados, se retiran pequeñas cantidades de muestra, se inactiva la enzima elevando la temperatura alrededor de

los 85°C y se realiza una centrifugación (con el fin de que el sobrenadante no afecte la lectura en el espectrofotómetro). La centrifugación se lleva a cabo en una microcentrífuga a 1000 RPM durante 10 minutos.

Luego se realiza una determinación de azúcares reductores por el método del Reactivo DNS.

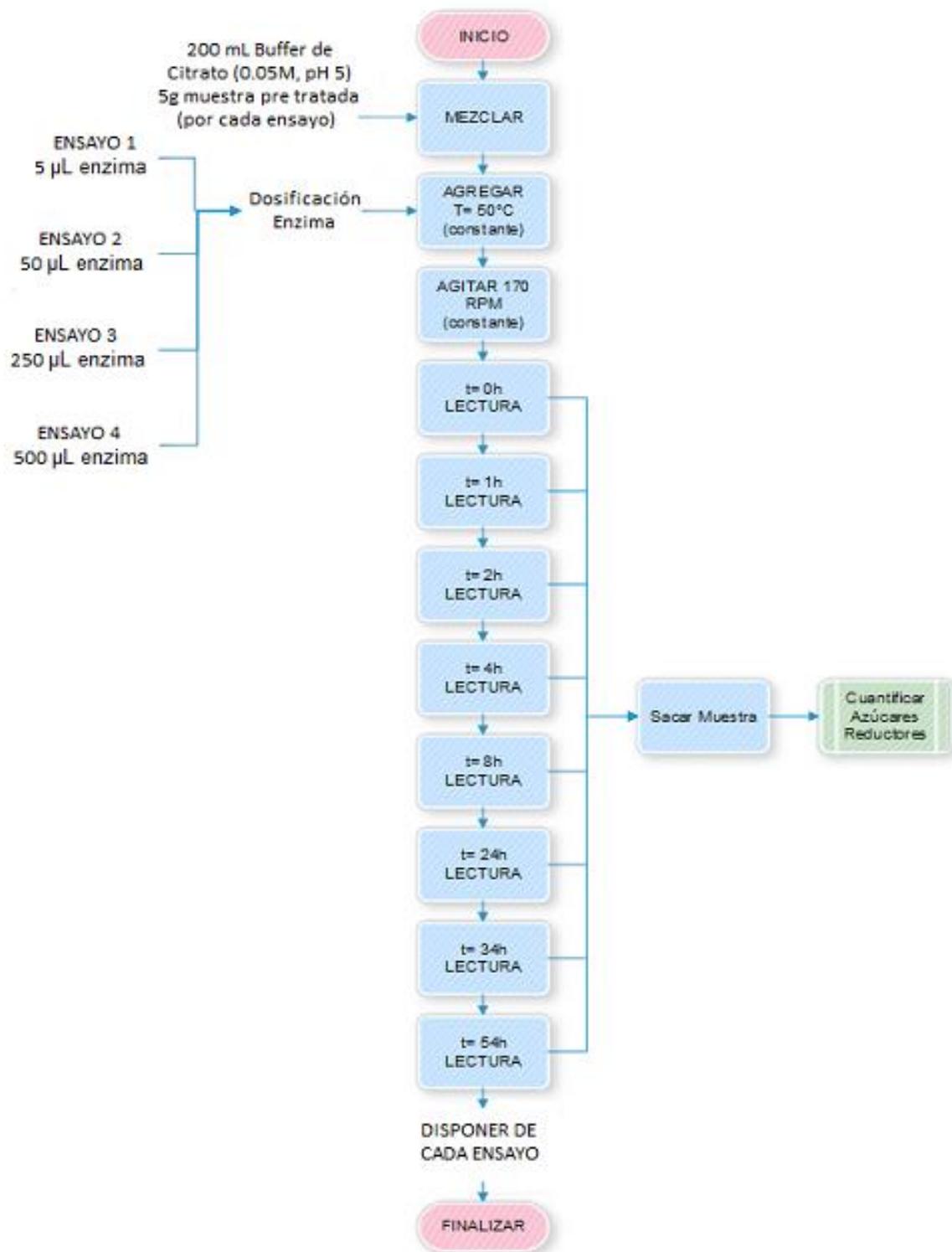
Para ejecutar el procedimiento de hidrólisis enzimática, se realiza una prueba preliminar bajo las siguientes condiciones: T= 50°C, pH 5, 0.1% p/v relación enzima/sustrato y tiempos de 0h, 1h, 14h, 18h, 38h, 47h y 55h en una plancha de calentamiento con agitación magnética constante, con el fin de observar el comportamiento de la enzima.

A continuación en la Ilustración 31, se muestra un esquema general del proceso de hidrólisis enzimática<sup>54</sup>.

---

<sup>54</sup> BAYITSE, Richard; HOU, Xiaoru; BJERRE, Anne-Belinda; SAALIA, Firibu. Optimisation of enzymatic hydrolysis of cassava peel to produce fermentable sugar. En: Marzo, 2015. p. 1-7.

**Ilustración 31.** Proceso experimental de hidrólisis enzimática.



### 3. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

En el presente capítulo se detallan los resultados obtenidos durante el desarrollo experimental a nivel laboratorio, permitiendo establecer las mejores condiciones obtenidas en el proceso de hidrólisis enzimática para la obtención de azúcares reductores.

#### 3.1 EVALUACIÓN DEL SUSTRATO

**3.1.1 Cuantificación de Celulosa.** A continuación, se evidencia el porcentaje de celulosa en cada uno de los ensayos, aproximadamente 1 g de retal de papel moneda y billetes fuera de circulación.

##### Ecuación 7. Porcentaje celulosa

$$\%Celulosa = \left( \frac{PPCS - PPS}{PM} \right) * 100$$

Donde:

PPCS: peso de la muestra tratada y el papel filtro seco

PPS: peso del papel filtro seco (con el cual se filtró la muestra)

PM: peso inicial de la muestra

La experimentación se llevó a cabo por triplicado obteniendo los siguientes resultados y porcentajes de celulosa.

**Tabla 6.** Cuantificación de celulosa.

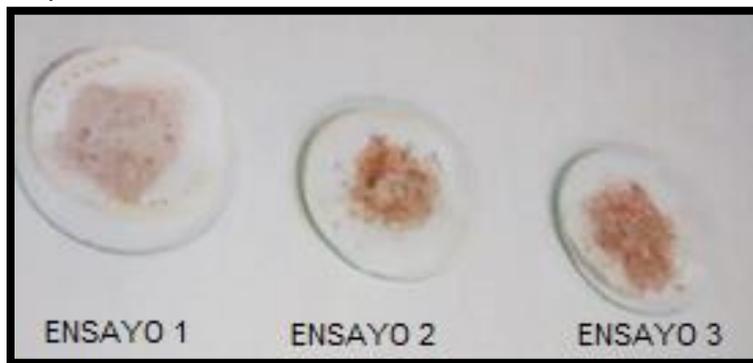
	<b>PM (g)</b>	<b>PPS (g)</b>	<b>PPCS (g)</b>	<b>% Celulosa</b>
<b>ENSAYO 1</b>	0.9984	0.5401	1.0221	48.27
<b>ENSAYO 2</b>	0.9993	0.5002	1.2303	73.06
<b>ENSAYO 3</b>	0.9998	0.5190	1.2290	71.01

Se observa que el ENSAYO 1 tiene un porcentaje de celulosa bastante lejano a los otros dos ensayos, lo cual se pudo ver reflejado desde un comienzo en su comportamiento en la experimentación. Durante el calentamiento a reflujo la solución junto con la muestra en el ENSAYO 1 fue mucho más densa y oscura que las demás, notando pequeñas cantidades de sustancias ajenas a la experimentación lo que se pudo haber dado a una contaminación siendo esta lo más probable tierra y similares, debido a que la muestra en su totalidad de retal de

papel moneda y billetes fuera de circulación dada por Control Ambiental de Colombia Ltda, venía con pequeños fragmentos de tierra a lo que se infiere que la muestra del retal de papel moneda y billetes fuera de circulación estaban en parte mezclados en la pila de compost.

A continuación, se muestra en la **Ilustración 32** el aspecto visual de cada ENSAYO al terminar la experimentación, en la que se observa la decoloración de las muestras en la mayoría de la superficie.

**Ilustración 32.** Aspecto visual del ENSAYO 1, ENSAYO 2 Y ENSAYO 3 al finalizar la experimentación.



De los ENSAYOS 2 y 3 se obtuvo un resultado similar teniendo como promedio de éstos dos un 72.035% de celulosa de 0.999955 g de muestra tomada, lo cual es un muy buen resultado indicando éste que el porcentaje de celulosa es alto y viable hasta el momento para obtener azúcares reductores.

**3.1.2 Determinación de Humedad.** La determinación de humedad del retal de papel moneda y billetes fuera de circulación no fue necesario hallar, debido a que Control Ambiental de Colombia Ltda tiene ese dato dentro de la caracterización del retal de papel moneda y billetes fuera de circulación realizada por el INSTITUTO DE HIGIENE AMBIENTAL LTDA.

La humedad es expresada en porcentaje con un valor de 4.72% lo cual es bajo y no influyente dentro de los procesos de pretratamiento e hidrólisis enzimática debido a que en ambos el retal de papel moneda y billetes permanece en constante contacto con NaOH y Buffer de Citrato respectivamente, no se necesita que la muestra esté seca, de lo contrario, siempre está húmeda.

**3.1.3 Determinación de Cenizas.** Al igual que la determinación de humedad, la determinación de cenizas del retal de papel moneda y billetes fuera de circulación

no fue necesario hallarla debido a que Control Ambiental de Colombia Ltda tiene ese dato dentro de la caracterización del retal de papel moneda y billetes fuera de circulación realizada por el INSTITUTO DE HIGIENE AMBIENTAL LTDA.

Las cenizas son expresadas en porcentaje con un valor de 4.76%, lo cual equivale al residuo inorgánico, en este caso, metales después de quemar el retal de papel moneda y billetes fuera de circulación como lo son: plomo, cadmio, zinc, cromo, níquel, bario, cobre, plata, mercurio y manganeso.

El contenido de cenizas de un 4.76% indica el bajo contenido de los metales presentes lo cual no llega a ser influyente en el comportamiento de la enzima.

### 3.2 CURVA DE CALIBRACIÓN

Para construir la curva de calibración se hicieron siete muestras a partir de una concentración de glucosa de 0.5 g glucosa / 100 mL agua tipo 1, las cuales se muestran en la Ilustración 33 junto con sus respectivas absorbancias. La lectura de cada muestra de glucosa se realizó por triplicado en el espectrofotómetro a 540 nm.

**Ilustración 33.** Cuantificación de azúcares reductores - finalizada la reacción del reactivo DNS en un baño de ebullición.



En la **Ilustración 33**, se muestran las siete muestras de concentración de glucosa junto con el blanco una vez finalizado el tiempo de reacción en un baño en ebullición de agua. Se observa la variación en la gama de la coloración de cada muestra en donde la más clara es el blanco debido a que no tiene glucosa en la solución. De la muestra 1 a la 7 la coloración rojizo-naranja se va intensificando indicando así mayor

presencia de glucosa en la solución tal cual se observa en la **Tabla 7** la absorbancia de cada muestra.

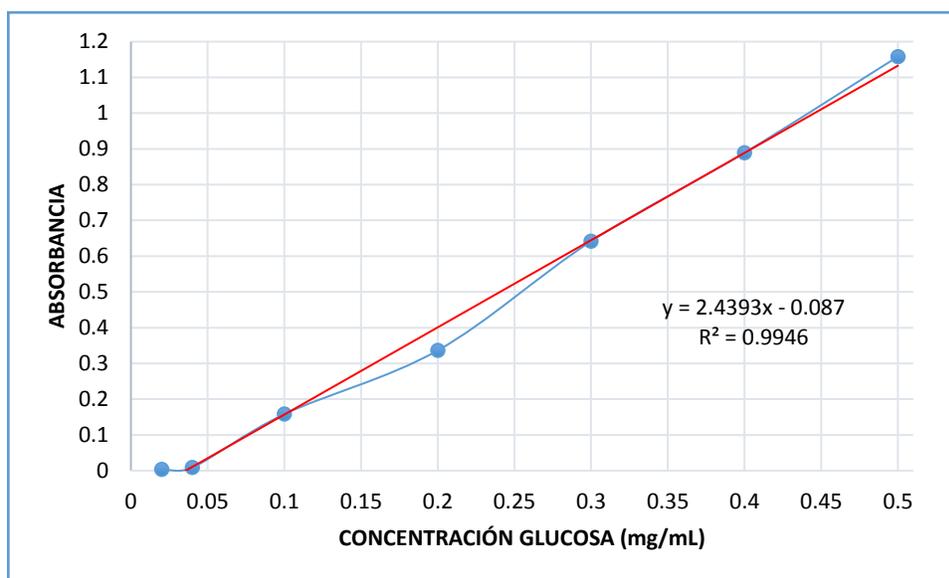
**Tabla 7.** Concentraciones de glucosa con sus respectivas absorbancias.

<b>Concentración glucosa (mg/mL)</b>	<b>Absorbancia</b>
	0.0045
0.02	0.0044
	0.0043
<b>Promedio</b>	<b>0.0044</b>
	0.0087
0.04	0.0087
	0.0087
<b>Promedio</b>	<b>0.0087</b>
	0.1582
0.1	0.1582
	0.1582
<b>Promedio</b>	<b>0.1582</b>
	0.3364
0.2	0.3364
	0.3364
<b>Promedio</b>	<b>0.3364</b>
	0.6414
0.3	0.6416
	0.6419
<b>Promedio</b>	<b>0.6416</b>
	0.8896
0.4	0.8891
	0.8893
<b>Promedio</b>	<b>0.8893</b>
	1.1581
0.5	1.1580
	1.1582
<b>Promedio</b>	<b>1.1581</b>

En el **ANEXO D** se encuentra las anteriores concentraciones de glucosa con sus respectivas absorbancias dada por el programa intrínseco en el espectrofotómetro.

En la **Gráfica 1** se muestra la curva de calibración para glucosa:

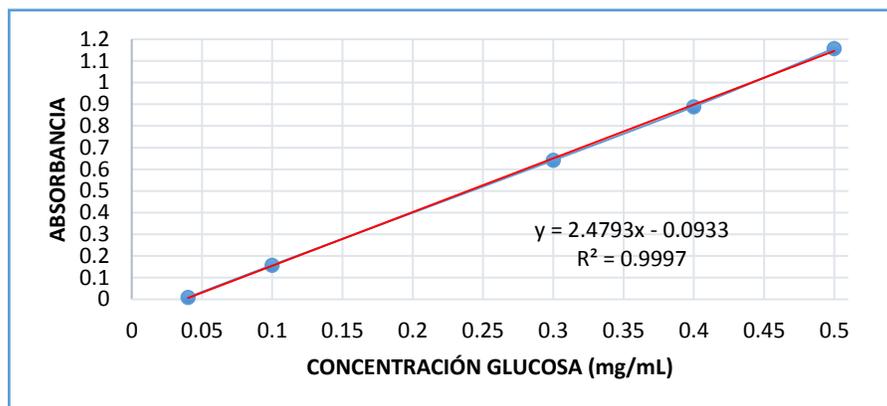
**Gráfica 1.** Curva de calibración para glucosa.



Se observa que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de glucosa debido a que a mayor concentración mayor es la absorbancia. También se infiere el valor del coeficiente de correlación cuyo valor es 0.9946, cuyo valor se ve afectado en primera instancia por las primeras dos concentraciones de glucosa de 0.02 y 0.04 mg/mL debido a que sus absorbancias son bastantes bajas, cercanas al 0 y por ende influyen en la linealidad de los datos. En segunda instancia los valores de absorbancia de las concentraciones de 0.2 y 0.5 mg/mL se desfasan un poco de la linealidad generado por algún error durante la preparación o aforo de las soluciones de glucosa. A pesar de éstos dos factores, el coeficiente de correlación es bastante bueno el cual mide la linealidad.

En la **Gráfica 2** se observa nuevamente la curva de calibración con la diferencia en que en ésta se omitieron dos datos de concentración 0.02 y 0.2 mg/mL, cuyo resultado mejora en el valor del coeficiente de correlación el cual es de 0.9997 mucho más cercano al 1, comparando con la gráfica1.

**Gráfica 2.** Curva de calibración ajustada.



### 3.3 DETERMINACIÓN ACTIVIDAD ENZIMÁTICA – MULTIFECT B

Como se describió en el Capítulo 2, se determinó la actividad enzimática de la enzima Multifect B sobre papel filtro a diferentes tiempos de reacción de 30 min, 75 min y 120 min; en la **Tabla 8** se muestran los resultados obtenidos en cada ensayo (cada ensayo se realizó por triplicado).

**Tabla 8.** Resultados obtenidos en la experimentación de la determinación de actividad enzimática

Ensayo	Tiempo (min)	Absorbancia
1	30	0.0083
		0.0069
		0.0059
<b>Promedio</b>		<b>0.0070</b>
2	75	0.0210
		0.0256
		0.0219
<b>Promedio</b>		<b>0.0228</b>
3	120	0.0197
		0.0178
		0.0140
<b>Promedio</b>		<b>0.0171</b>

En el **ANEXO E**, se observan las absorbancias obtenidas y calculadas en el software intrínseco en el espectrofotómetro.

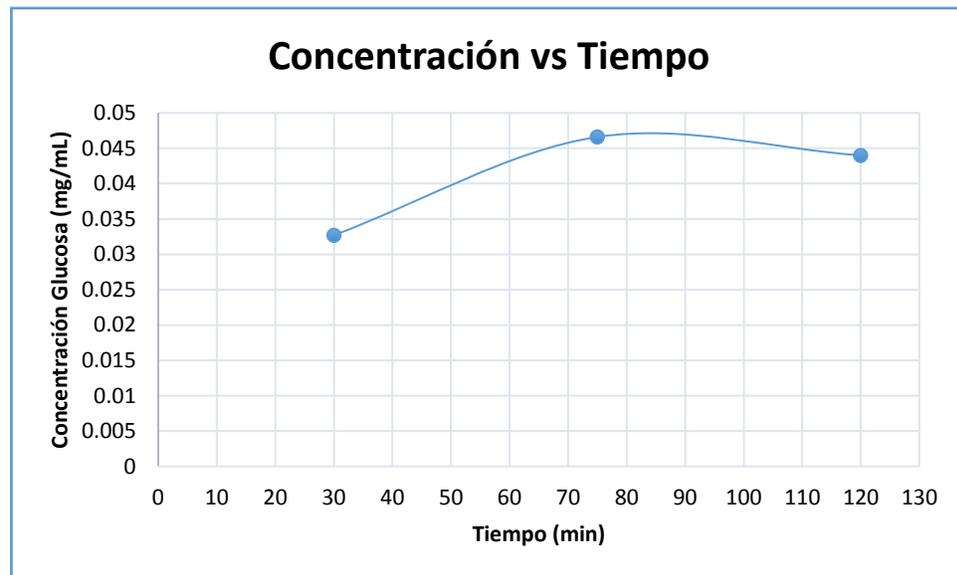
A partir de las absorbancias obtenidas se hallan las concentraciones de glucosa por medio de una regresión polinomial impar obteniendo como resultados los datos en la **Tabla 9**.

**Tabla 9.** Resultados concentración de glucosa

Ensayo	Tiempo (min)	Absorbancia	Concentración de glucosa (mg/mL)
1	30	0.0070	0.0327
2	75	0.0228	0.0466
3	120	0.0171	0.0440

A partir de las concentraciones de glucosa obtenidas en la **Tabla 9** se realiza la **Gráfica 3**.

**Gráfica 3.** Concentración de glucosa para la determinación de la actividad enzimática.



Se observa en la **Gráfica 3** un ascenso en la concentración de azúcares reductores entre los 30 y 75 min de la reacción, mientras que después de este tiempo la producción de azúcares reductores disminuye de manera lenta hasta los 120 min, siendo el punto de producción más alta a los 75 min de reacción.

La poca producción de azúcares reductores y el inesperado descenso de producción de los mismo se ven afectados por el comportamiento de la enzima en

un factor durante la experimentación siendo este la agitación constante. Tal como se describe en la metodología, no hubo agitación constante, sino agitación parcial durante el desarrollo de la experimentación lo cual genera una sedimentación del papel filtro en el vaso precipitado incurriendo así en el poco contacto de éste con la enzima, por ende, la enzima no es aprovechada del todo y sólo una parte de ésta alcanzó a reaccionar con el papel filtro sedimentado.

La actividad enzimática de la enzima Multifect B en papel filtro a 50°C, pH 5 y 75 min (que equivalen a 1.25 horas) de reacción es de  $0.2069 \frac{\mu\text{mol}}{\text{mL} * \text{h}}$  durante 1 hora.

### 3.4 PRETRATAMIENTO CON HIDRÓXIDO DE SODIO

El pretratamiento se realiza con el fin de extraer las tintas vegetales, la banda de seguridad, el encolante y cargas usadas durante la elaboración del papel, romper la lignina y hemicelulosas, acondicionando así el papel moneda y billetes exponiendo la celulosa para un mejor ataque enzimático.

### 3.5 HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

Realizado el proceso preliminar y experimental del proceso de hidrólisis enzimática se obtienen los resultados mostrados a continuación en la Tabla 10. Ver resultados en el **ANEXO F**.

**Tabla 10.** Datos de absorbancia obtenidos durante el proceso de hidrólisis enzimática.

ENSAYO	DOSIFICACIÓN ENZIMA (%P/V)	TIEMPO (horas)												
		0	1	2	4	8	14	18	25	34	38	47	54	55
Preliminar	0.1	-0.0084	0.0830				0.2231	0.3945			0.2127	0.2097		0.2907
1	0.1	-0.0068	0.0002	0.0028	0.0050	0.0062			0.0390	0.0432			0.0590	
2	1	-0.0055	0.0037	0.0051	0.0450	0.0982			0.1772	0.3013			0.2801	
3	5	-0.0002	0.2283	0.2930	0.5997	0.7045			0.5442	0.6741			0.7710	
4	10	-0.0032	0.3955	0.5814	0.9887	0.6208			0.9803	0.4788			0.5381	

En la **Tabla 10** se observan los datos de las absorbancias determinados en cada uno de los tiempos estipulados; los valores subrayados amarillos y azules:

- Amarillos: en el proceso de determinar los azúcares reductores tal como se describió en el capítulo 2 en el que se agregaban 1 mL muestra más 1 mL reactivo DNS y 3 mL de agua tipo 1 las absorbancias subrayadas sobrepasaban el valor mayor dado en la curva de calibración realizada, por ende, en lugar de agregar 1

mL de muestra, se agregan 0.5 mL de muestra más 1 mL reactivo DNS y 3.5 mL de agua tipo 1 y así la lectura de absorbancia está dentro de la curva de calibración.

- Azules: en el proceso de determinar los azúcares reductores como se describió anteriormente para los valores de absorbancia subrayados amarillos, se agregan 0.5 mL de muestra + 1 mL reactivo DNS y 3.5 mL de agua tipo 1 las absorbancias sobrepasan el valor mayor dado en la curva de calibración, por ende, en lugar de agregar 0.5 mL de muestra, se agregan 0.25 mL de muestra + 1 mL reactivo DNS y 3.75 mL agua tipo 1 y así la lectura de absorbancia está dentro de la curva de calibración.

En vista general, en la **Tabla 10** se observa que todas las absorbancias a medidas que transcurre el tiempo aumentan teniendo un aumento más rápido los ensayos de mayor a menor dosificación de enzima.

A continuación, en la **Tabla 11** se muestran las concentraciones de glucosa para cada uno de los ensayos en sus respectivos tiempos.

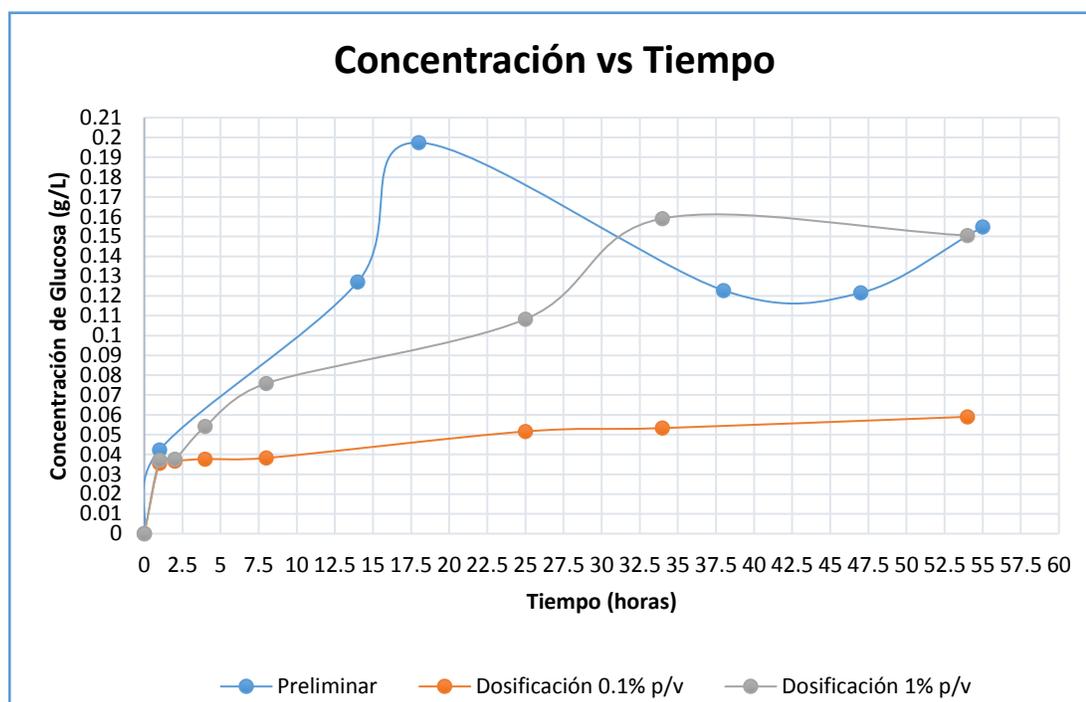
**Tabla 11.** Concentraciones de glucosa durante el proceso de hidrólisis a distintos tiempos y dosificaciones de enzima.

ENSAYO	DOSIFICACION ENZIMA (%P/V)	TIEMPO (horas)												
		0	1	2	4	8	14	18	25	34	38	47	54	55
Preliminar	0.1	0.0000	0.0423				0.1271	0.1974			0.1228	0.1216		0.1548
1	0.1	0.0000	0.0355	0.0367	0.0377	0.0382			0.0516	0.0533			0.0590	
2	1	0.0000	0.0371	0.0377	0.0541	0.0759			0.1083	0.1591			0.1505	
3	5	0.0000	0.1292	0.1557	0.2815	0.3245			2.5870	3.1200			3.5170	
4	10	0.0000	0.1978	0.2740	0.4410	2.9010			4.3750	4.6380			5.1240	

Se observa en la **Tabla 11** aumento de todas las concentraciones de glucosa a medida que transcurre el tiempo en cada una de las dosificaciones especificadas para la enzima.

A continuación, en las **Gráficas 4 y 5** se muestra el comportamiento de la concentración versus el tiempo de reacción.

**Gráfica 4.** Concentración de Glucosa vs Tiempo. Ensayo preliminar, dosificaciones de 0.1 y 1 % p/v.



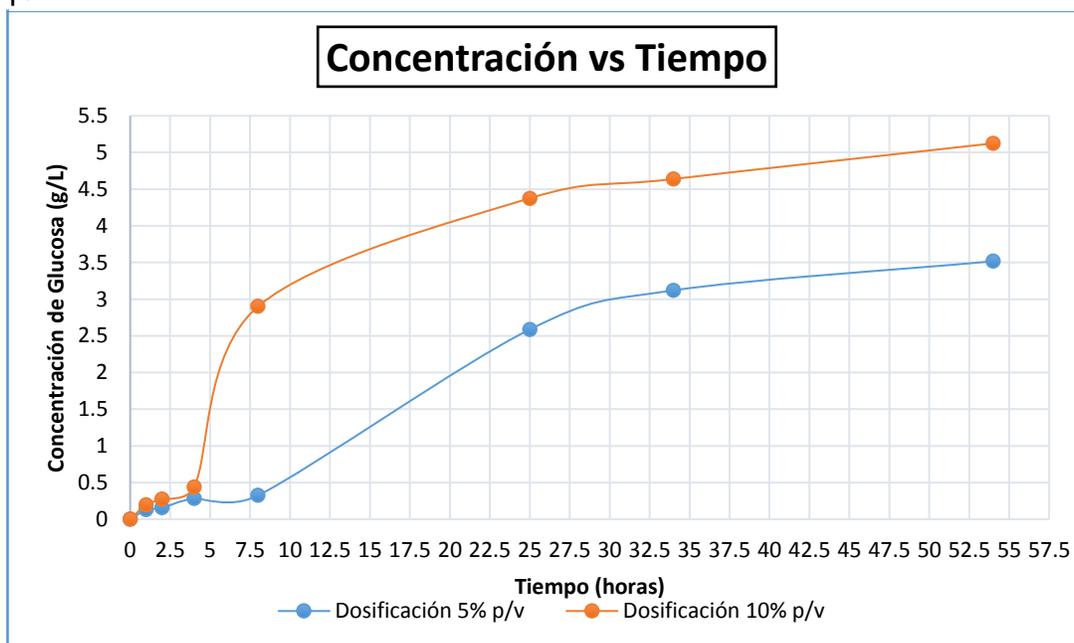
En la **Gráfica 4** se observa un comportamiento discontinuo del ensayo preliminar debido a que no hubo un control sobre la temperatura durante toda la experimentación, ya que éste se realizó en una placa calefactora, y por ende el resultado se ve sujeto a altibajos en la temperatura; se obtiene un crecimiento continuo de azúcares reductores hasta el tiempo de 18 horas con una concentración m la máxima de 0.1974 g/L, luego hay un pequeño descenso hasta el tiempo de 47 h y nuevamente un ascenso en la producción de azúcares en el tiempo de 55 h, cuyo descenso pudo haber sido causado por una caída de la temperatura.

En la curva de dosificación de 1 % p/v se observa un aumento durante todo el tiempo de reacción hasta el tiempo 34, siendo éste el pico más alto con una concentración de 0.1591 g/L y un pequeño descenso en el tiempo 54 h disminuyendo así un poco la producción de azúcares reductores.

En la curva de dosificación de 0.1 % p/v se observa aumento suave durante todo el tiempo de reacción sin anomalía alguna, el pico de la curva es a una concentración de 0.0590 g/L siendo éste a la hora 55.

A continuación, se encuentra la **Gráfica 5** de las dosificaciones 5 y 10% p/v

**Gráfica 5.** Concentración de Glucosa vs Tiempo. Dosificaciones 5 y 10 % p/v.



En la dosificación de 5% p/v existe un aumento considerable de producción de azúcares en el tiempo 25 horas sobrepasando el triplicado de su concentración anterior en el tiempo de 8 horas sigue un aumento constante hasta la hora 55. El pico en la concentración de azúcares se obtuvo en la hora final con un valor de 3.5170 g/L.

En la dosificación de 10% p/v hay aumento constante hasta la hora 4, luego se ve un incremento abrupto hasta la hora 8 y de allí en adelante sigue la producción de azúcares con un pico en la última hora siendo de 5.1240 g/L.

A continuación, en la **Tabla 12** se muestran las diferencias de concentración de azúcares reductores con base al tiempo que se antecede en la producción de los mismo; ejemplo: en la dosificación de 0.1%, en el tiempo 0 hay 0 producción de azúcares y en el tiempo 1h hay 0.0355 g/L, cuya diferencia es 0.0355g/L.

**Tabla 12.** Diferencia entre concentración a medida que transcurre el tiempo

Ensayo	Dosificación Enzima (%P/V)	Concentración Glucosa (g/L)								
		0	1	2	4	8	25	34	54	
1	0.1	0	0.0355	0.0012	0.0010	0.0005	0.0134	0.0017	0.0057	
2	1	0	0.0371	0.0006	0.0164	0.0218	0.0324	0.0508	0.0086	
3	5	0	0.1292	0.0265	0.1258	0.0430	2.2625	0.5330	0.3970	
4	10	0	0.1978	0.0762	0.1670	2.4600	1.4740	0.2630	0.4860	

En la **Tabla 12** se observan las diferencias de concentración de azúcares en cada uno de los tiempos estipulados en la experimentación. Al analizar los resultados:

•**Dosificación 0.1%**: en todos los tiempos hay producción de azúcares reductores aumentando de manera exponencial a excepción en el tiempo 8h en el cual se observa un pequeño descenso en la producción no siendo éste tan relevante debido a la diferencia decimal tan pequeña.

La mayor producción de azúcares se obtiene de 2h tal como se observa, debido a que en 2h se tiene un incremento de 0.0012g/L de azúcares lo que es una concentración alta para este tiempo comparándolo con el tiempo de 34h con una concentración de tan solo 0.0017 g/L.

•**Dosificación 1.0%**: un aumento notorio en la producción de azúcares reductores se observa a partir del tiempo 4h el cual sigue en ascenso siendo 0.0508g/L la concentración más alta de azúcares en el tiempo de 34h.

•**Dosificación 5.0%**: se observa un aumento significativo en la producción de azúcares reductores debido a la alta relación empleada de enzima/sustrato, lo cual ayuda a consumir mayor cantidad de sustrato disuelto en la solución, siendo el tiempo de 25h en el que se obtuvo una mayor producción con un aumento del 2.2625g/L de azúcares

•**Dosificación 10.0%**: al igual que en el caso anterior, se evidencia un aumento significativo en la producción de azúcares teniendo como mayor aumento de producción del 2.4600g/L de éstos en el tiempo 8h.

Por lo tanto, en las distintas dosificaciones se obtuvo en cada una de ellas una mayor concentración de azúcares reductores: dosificación 0.1% del 0.0367g/L, dosificación 1% del 0.1591g/L, dosificación 5% 2.5870g/L y dosificación 10% 2.9010g/L, siendo estas las mayores concentraciones respecto al aumento significativo del tiempo.

#### 4. EVALUACIÓN DE COSTOS DE LA PROPUESTA

Control Ambiental de Colombia Ltda mensualmente recibe alrededor de 20 toneladas de retal de papel moneda y billetes fuera de circulación disponiendo en 3 pilas con capacidad cada una de 280-300 m<sup>3</sup>, dentro de las cuales el retal de papel moneda y billetes son mezclados con otro tipo de desechos biológicos para aumentar la velocidad de degradación y posteriormente se procede con el proceso de compostaje teniendo como paso final un proceso de cribado para separar el material no degradado.

- **Valor por disposición del retal de papel moneda y billetes.** El valor por kilogramo del retal de papel moneda y billetes fuera de circulación que Control Ambiental de Colombia Ltda cobra al Banco de la República es de \$350 pesos, siendo un estimado mensual de alrededor de \$7.000.000 de pesos y anual de 84.000.000 de pesos.
- **Gastos generados por el retal de papel moneda y billetes acumulado.** Para tener un panorama global de los costos que le genera la lenta degradación del retal de papel moneda y billetes a Control Ambiental de Colombia Ltda se debe tener en cuenta: el terreno empleado para disponer de éste el cual podría ser utilizado para la degradación de otro residuo biológico que sea mucho más rápido, el salario del personal a cargo del proceso de compostaje, del valor de los servicios públicos generados, del transporte empleado para llevar el retal de papel moneda y billetes a Control Ambienta de Colombia Ltda.
- A cargo del proceso de compostaje se encuentran tres operarios cuyo salario es de \$800.000 mensual. A continuación, se da a conocer el cálculo de las prestaciones de servicios:

**Tabla 13.** Sueldo mensual y anual por operario.

	<b>Mensual</b>	<b>Anual</b>
<b>Sueldo</b>	800.000	9.600.000
<b>Primas</b>		800.000
<b>Vacaciones</b>		400.000
<b>Prestaciones de Servicio</b>		
<b>Salud (8.5%)</b>	68.000	816.000
<b>Pensión (4%)</b>	32.000	384.000
<b>Caja de compensación (9%)</b>	72.000	864.000
<b>ARL (1%)</b>	8.000	96.000
<b>TOTAL</b>	<b>980.000</b>	<b>12.960.000</b>

Por operario anualmente se Control Ambiental de Colombia Ltda gasta 12.960.000 multiplicado por los tres operarios que laboran serian un total de 38.880.000 pesos anuales.

- El transporte por tonelada de retal de papel moneda y billetes genera un costo de \$70.000 por tonelada, que mensualmente sería un gasto de \$1.000.000 de pesos y anualmente de \$ 16.800.000 de pesos.
- Porcentaje de gastos de arrendamiento es el espacio de bodega en la cual se dispone el retal de papel moneda y billetes que no tiene lugar en planta cuyo valor mensual es de \$1.000.000 y un valor anual de 12.000.000 de pesos.
- Se generan unos imprevistos dentro de los cuales van incluidos los servicios que acaparan el proceso para disponer del retal de papel moneda y billetes entre otros factores que puedan llegar a ser relacionados teniendo un costo de \$6.288.000 de pesos anuales.

A continuación, en las **Tablas 14 y 15** se observan las actividades realizadas experimentalmente en los laboratorios del Sena, junto con la cotización de cada una de ellas generadas por el Centro de Gestión Industrial del Sena. Obteniendo un total de \$6´840.00 pesos necesarios para llevar a cabo la propuesta en el presente proyecto de grado.

**Tabla 14.** Costos dados durante el desarrollo de la propuesta.

Actividad	Descripción	Cantidad	Valor Unitario	Valor Total
Transporte	Viajes realizados a Control Ambiental de Colombia Ltda ubicada en Facatativá	10	\$9000	\$90000
	Laboratorio	10	\$4000	\$40000
	Universidad	60	\$4000	\$240000
Compra enzima	Enzima Multifect B para la experimentación.	2 L	\$60000	\$120000
Laboratorio	Herramientas, equipos, reactivos y alquiler para llevar a cabo la experimentación	---	---	\$550000
Mano de obra	El tiempo que el estudiante invirtió en el desarrollo de la propuesta.	3.5 meses	---	\$1'500000
	<b>TOTAL</b>			<b>\$6'290000</b>

**Tabla 15.** Experimentaciones realizadas en el laboratorio del Sena, sede Gestión Industrial.

Sesión	Actividad	Equipos analíticos	Valor
1	Cuantificación de celulosa		\$100.000
2	Preparar soluciones	Espectrofotómetro UV-Vis	\$50.000
3	Curva de calibración	Espectrofotómetro UV-Vis	\$100.000
4	Actividad Enzimática	Espectrofotómetro UV-Vis	\$100.000
5	Pretratamiento		\$100.000
6	Hidrólisis Enzimática	Espectrofotómetro UV-Vis	\$100.000
	<b>TOTAL</b>		<b>\$550.000</b>

Una vez obtenido el valor de disposición del retal de papel moneda y billetes, los gastos que éste genera durante el proceso de degradación y el costo que se tuvo para llevar a cabo la elaboración del proyecto, se puede obtener una rentabilidad siendo ésta:

**Ecuación 8. Rentabilidad**

$$\text{Rentabilidad: } \textit{Valor disposición} - \textit{Gastos rpa} - \textit{Costos lab}$$

Donde:

**Valor disposición:** Valor mensual el cual el Banco de la República paga a Control Ambiental de Colombia Ltda por disponer del residuo.

**Gastos rpa:** Gastos generados mensualmente durante la degradación del retal de papel moneda y billetes

**Costos lab:** Costos generados durante la elaboración del presente proyecto.

$$\text{Rentabilidad: } \$84.000.000 - \$73.968.000 - \$6.840.000$$

$$\text{Rentabilidad: } \$3.192.000$$

La rentabilidad como se puede observar es bastante baja para ser anualmente, lo cual por el momento no genera pérdidas directas, pero si indirectas respecto al tiempo de disposición prolongado para la degradación del retal de papel moneda y billetes, cuyo espacio en planta puede ser sustituido por otro material que tenga un tiempo de degradación menor y genere una mayor rentabilidad.

## 5. CONCLUSIONES

- La cantidad de celulosa contenida en 1 g de retal de papel moneda y billetes fuera de circulación es del 72.035%, cuyo porcentaje es alto para ser convertido en azúcares reductores.
- Una vez culminado el proceso de hidrólisis, y posterior a este, realizado el método de cuantificación de azúcares, las absorbancias arrojadas por el espectrofotómetro dan a conocer que si hay producción de azúcares. A continuación, se dan a conocer las mayores concentraciones de azúcares obtenidos en el proceso de hidrólisis enzimáticas en las distintas dosificaciones empleadas fueron de: dosificación 0.1%: 0.0367g/L, dosificación 1.0%: 0.1591g/L, dosificación 5.0%: 2.5870g/L y dosificación 10.0%: 2.9010g/L.
- El pretratamiento empleado en el papel de retal moneda y billetes fuera de circulación se realizó con NaOH a una concentración alta de 2N (debido a que se desconoce el tipo y cantidad de encolante implementado en la elaboración del papel moneda) con el fin de poder extraer tintas vegetales, encolantes y romper los enlaces de lignina y celulosa, dejando expuesta la celulosa para un mejor ataque enzimático.
- La agitación, aunque no se postuló como variable durante el proceso experimental, durante el mismo se notó la influencia de ésta durante la experimentación. Esto se apreció en los resultados obtenidos en la determinación de la actividad enzimática a lo cual se debió haber obtenido valores directamente proporcionales en tan corto tiempo, cual no se evidenció.
- Por medio de la hidrólisis enzimática del retal de papel moneda y billetes fuera de circulación es posible obtener azúcares empleando la enzima Multifect B teniendo en cuenta las condiciones con la misma especificadas en la ficha técnica.
- El resultado obtenido en la determinación de la actividad enzimática fue lejano al resultado esperado según ficha técnica de la enzima Multifect B debido a la constante agitación durante la experimentación no generando el mayor contacto entre enzima y sustrato, debido a que éste quedaba en el fondo del vaso precipitado.

## 6. RECOMENDACIONES

- En el acondicionamiento del retal de papel moneda y billetes se recomienda hacer otras pruebas a temperatura y tiempos distintos a los empleados con el fin de observar el comportamiento de la celulosa con respecto al NaOH. También se recomienda probar otros métodos de pre tratamiento.
- Para efectos y obtención de resultados distintos se puede pensar en realizar un diseño de experimentos en el cual los cuatro parámetros que intervienen dentro del proceso de hidrólisis enzimática varíen.
- Si se empleara la misma enzima Multifect B, se recomienda tiempos de reacción mayores a 54h, con el fin de verificar hasta que tiempo trabaja la enzima y así encontrar el alcance máximo de ésta.
- Con base a la recomendación anterior, una vez se obtenga el tiempo máximo de trabajo de la enzima Multifect B se recomienda analizar de forma detallada los nuevos rangos de tiempos tomados, relacionándolos con la producción de azúcares reductores generando una posible modificación en la selección del tiempo que haya tenido un mayor porcentaje en la producción de azúcares reductores.
- Como se comprobó la obtención de azúcares reductores a partir del retal de papel moneda y billetes, se recomienda ampliar el alcance del proyecto, llevando el proceso a un nivel más alto realizando una fermentación de los azúcares reductores para generar así la producción de etanol.

## BIBLIOGRAFÍA

ABRIL, Alejandro. y MOGOLLÓN, Gladys. Química del papel. En: Reciclado celulósico. Argentina: Miguel Zanuttini, 2012. p. 147-192.

BAUTISTA, Roberto; HONORATO, Jose. Composición química de la madera de cuatro especies del género *Quercus*. En: Marzo, 2006. p. 25-31

BAYITSE, Richard; HOU, Xiaoru; BJERRE, Anne-Belinda; SAALIA, Firibu. Optimisation of enzymatic hydrolysis of cassava peel to produce fermentable sugar. En: Marzo, 2015. p. 1-7.

BMG LABTECH The Microplate Reader Company. Absorbancia [en línea]. Ortenberg (Germany). Renglones 1-3. Disponible en Internet: <[www.bmglabtech.com/es/tecnologico/modos-de-deteccion/absorbancia/](http://www.bmglabtech.com/es/tecnologico/modos-de-deteccion/absorbancia/)>.

CRISTANCHO, Leidy y MONROY, Ricardo. Métodos cuantitativos. En: Manual de métodos generales para determinación de carbohidratos. Bogotá D.C.: UPTC, 2014. p. 5-17.

DAGNINO, Eliana; ROGGERO, Facundo; MORALES, Walter; CHAMORRO, Ester; FELISSIA, Fernando; AREA, María; ROMANO, Silvia. Hidrólisis enzimática de cascarilla de arroz pre tratada con ácido diluido para evaluar la eficacia de etapa de pre tratamiento. En: Febrero, 2012, p. 23-28.

DOSAL, María y VILLANUEVA, Marcos. Introducción a la metrología química – curvas de calibración en los métodos analíticos. En: ALAIN QUERÉ. Antología de química analítica experimental. 2008. p. 18-26.

FERRER MARCELO, Yoandy, et al. SELECCIÓN DE HONGOS AISLADOS DE BAGAZO DE CAÑA CON ACTIVIDAD CELULASA SOBRE CELULOSA CRISTALINA PARA POSIBLES APLICACIONES INDUSTRIALES. En: Enero-Abril, 2011. vol. 45, no. 1, p. 3-12.

FLORES RUÍZ, Daniel Iván y REY HERNÁNDEZ, Adriana. OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE PULPA Y MUCÍLAGO DE CAFÉ A NIVEL DE LABORATORIO. Trabajo de grado Ingenieros Químicos. Bogotá D.C.: Fundación Universidad de América. Facultad de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Química, 2009. 163p.

FORERO GOMEZ, Fabián Enrique; LOPEZ VELANDIA, Roberto Ribelino, OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE BRÓCOLI Y CÁSCARA DE ARVEJA EMPLEANDO LA ENZIMA MULTIFECT 720 DE CARÁCTER BÁSICO A NIVEL DE LABORATORIO, Op. cit. p. 58.

GARAVITO, Diana Lorena y GONZALÉZ, Yimmy Germán. Análisis experimental de la enzima celulasa en la hidrólisis de residuos celulósicos. Trabajo de Grado Ingeniero Químico. Bogotá D.C.: Fundación Universidad de América. Facultad de Ingeniería, 2004. 156 p.

GEISSMAN, T.A. Carbohidratos. La química de los azúcares y los compuestos relacionados. En: Principios de la química orgánica. 2 ed. Los Ángeles: 1974. p. 529-566.

GELLA TOMAS, Francisco Javier. Medición de la concentración catalítica de enzimas. En: FUENTES ARDERIU, XAVIER; CASTIÑEIRAS LACAMBRA, MARÍA JOSÉ Y QUERELTÓ COMPAÑÓ, JOSÉ MARÍA. Bioquímica clínica y Patología Molecular. 2 ed. Barcelona, Reverté, 1998. p. 443-460.

GERENA, Flor. Obtención de jarabes azucarados a partir de la hidrólisis química de residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis l var valencia*) y papa (*solanum tuberosum*) variedad Diacol capiro R-12 para ser empleados como edulcorantes en la industria de alimentos. Trabajo de grado Ingeniería de Alimentos. Duitama: Universidad Nacional Abierta y a Distancia "UNAD". 2013. 116

GONZALEZ, S.; SOTO, N.; RUTIAGA, O.; MEDRANO, H.; RUTIAGA, J.; LÓPEZ, J.. Optimización del proceso de hidrólisis de hidrólisis enzimática de una mezcla de pajas de frijol de cuatro variedades (pinto villa, pinto saltillo, pinto mestizo y flor de mayo). En: Febrero, 2011, vol. 10, no 1,. p. 17-28.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Documentación. Presentación de Tesis, Trabajos de Grado y Otros Trabajos de Investigación. NTC 1486. 6 ed. Bogotá D.C.: El Instituto, 2008. 32-37 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Referencias Bibliográficas. Contenido, Forma y Estructura. NTC 5613. Bogotá D.C.: El Instituto, 1998. 7-11 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Referencias Documentales para Fuentes de Información Electrónicas. NTC 4490. Bogotá D.C.: El Instituto, 2008. 32-37 p.

JULIAN, Inmaculada; SÁEZ, Regino y MARTINEZ Susana. Diccionarios Oxford-Complutense. QUÍMICA. Madrid: Donoso Cortés, 2003. 649 p.

LÓPEZ CASTILLO, Carolina y JIMENEZ CIFUENTES, María Alejandra. OBTENCIÓN DE ETANOL A NIVEL LABORATORIO A PARTIR DE ESPINACA Y LECHUGA MEDIANTE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA. Trabajo de grado Ingenieros Químicos. Bogotá D.C.: Fundación Universidad de América. Facultad de Ingeniería. Departamento de Ingeniería, 2007. 122 p.

LUCAS, Rosario. Enzimática de la celulosa. En: Biodegradación de la celulosa y la lignina. Madrid: Universidad de Jaén, 2001. p. 102-140.

MALAGÓN, Martha. Obtención de etanol a partir de brócoli y cáscara de arveja empleando la enzima Multifect 720 de carácter básico a nivel de laboratorio. En: Septiembre, 2009. p. 1-12.

MARÍN RAMOS, Almilcar, *et al.* Estudio de mecánica de suelos poroto [diapositivas]. Trujillo, 2012. 20 diapositivas.

MEJIA, Johann; MUÑOZ, Andrea y VEGA, Jhonas. Determinación de humedad y ceniza. En: 2014. p. 2-15.

MIKÁN VANEGAS, José Fernando y CASTELLANOS SUÁREZ, Diana Edith. Screening para el aislamiento y caracterización de microorganismos y enzimas potencialmente útiles para la degradación de celulosas y hemicelulosas. En: Mayo, 2004. vol. 5 no. 1,. p. 58-71.

NOMBELA, Joaquin. Algodonero, sus clases, sus especies y variedades. En: Manual del cultivo del algodón de su fabricación y de los diversos usos a que se aplica. Paris: 1863. p. 19-41

NÚÑEZ SOLÍS, Jorge. Meteorización. En: Fundamentos de Edafología. San José, Universidad Estatal a distancia, 1981. p. 41-45.

OMIDIJI, O. y OKPUZOR, J.E..Enzymic recovery of extract from cold trub derived from brewing with un-malted sorghum (*Sorghum bicolor*). En: Agosto, 2001. p. 787-792.

PINTO, Paula; EVTUGUIN, Dmitry; PASCOAL, Carlos. Chemical composition and structural features of the macromolecular components of plantation Acacia mangiun Wood. En: 2005. No. 53,. p. 7856-7862.

RODRIGUEZ, Ibeth y PIÑEROS, Yineth. PRODUCCIÓN DE COMPLEJOS ENZIMÁTICOS CELULOLÍTICOS MEDIANTE EL CULTIVO EN FASE SÓLIDA DE *Trichoderma sp* SOBRE LOS RACIMOS VACÍOS DE PALMA DE ACEITE COMO SUSTRATO. En: Septiembre, 2007. vol. 14, no. 2, p. 35-42.

TAO, Zhi-Peng, *et al.* Preparation, characterisation and use for antioxidant oligosacharides of a cellulase from abalone (*Haliotis discus hannai*) viscera. En: Octubre, 2015. Society of Chemical Industry, p. 3088-3097.

VARGAS BUENDIA, Juan Manuel. Sustitución monetaria en Colombia: costos y beneficios. Trabajo de grado Magister en Ciencias Económicas. Bogotá D.C.. Universidad Nacional de Colombia. 2002. 51 p.

VILCHES PAZ, Laura. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE EXOGLUCANASAS DE CEPAS FÚNGICAS DE LAS PROVINCIAS DE HUAYLAS Y HUARAZ. Trabajo de grado Biólogo. Lima.: Universidad Nacional Mayor de San Carlos. Facultad de Ciencias biológicas. Departamento Académico de Microbiología y Parasitología.

# **ANEXOS**

## ANEXO A RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE CENIZAS Y HÚMEDAD

Resultados realizados por el método de gravimetría obtenidos por INSTITUTO DE HIGIENE AMBIENTAL LTDA. A continuación, se evidencian los resultados, dados por CONTROL AMBIENTAL DE COLOMBIA LTDA en donde se visualizan los porcentajes de humedad y cenizas.

**Tabla 16.** Resumen prueba TCLP comparación con la norma d residuos.

resumen prueba TCLP comparación con la norma residuos provenientes de Ripio de billetes.

PARAMETRO	UNIDADES	RESULTADO (mg/L)	NIVEL MAX. PERMISIBLE EN EL LIXIVIADO (mg/L) Dec. 4741/06	METODO ANALÍTICO	CUMPLE
Fenoles	mg / L	0,11	sin dato	Fotométrico	SI
Arsénico*	mg / L	<1	5,0	AA horno de grafito	SI
Bario*	mg / L	<5	100,0	AA llama	SI
Cadmio	mg / L	0,46	1,0	AA llama	SI
Cobre	mg / L	3,2	sin dato	Fotometria cuprizona	SI
Cromo Total	mg / L	<0,01	5,0	Fotometria difenilcarbaida	SI
Plata*	mg / L	<0,1	5,0	AA Horno de grafito	SI
Selenio*	mg / L	<1	1,0	AA llama	SI
Niquel	mg / L	0,66	sin dato	AA llama	SI
Mercurio*	mg / L	<0,0005	0,2	AA generador de vapor frío	SI
Zinc	mg / L	0,40	sin dato	Zincón	SI
Manganeso	mg / L	2,10	sin dato	AA llama	SI
Piomo	mg / L	0,02	5,0	AA horno de grafito	SI

**Tabla 17.** Resumen con los contenidos de contaminantes dado en base seca analizados en en Ripio.

PARAMETRO	UNIDADES	RESULTADO	METODO ANALÍTICO
pH	Unidades	5,54	Potenciómetro
Cianuros	mg / Kg CN	<0,01	Colorimétrico
Fenoles	mg / Kg	1,83	Fotométrico
Humedad	%	4,72	Gravimetría
Cenizas	%	4,76	Gravimetría
Arsénico*	mg / Kg	<1,0	AA horno de grafito
Bario*	mg / Kg	<5	AA llama
Cadmio	mg / Kg	33,00	Fotometria Ditzona
Cobre	mg / Kg	144,5	Fotometria cuprizona
Cromo Total	mg / /kg	<0,1	Fotometria difenilcarbaida
Plata*	mg / Kg	<0,1	AA llama
Selenio*	mg / Kg	<0,1	AA llama
Niquel	mg / Kg	22,7	AA llama
Mercurio*	mg / Kg	<0,1	AA horno de grafito
Zinc	mg / Kg	330,4	Zincón
Manganeso	mg / Kg	<0,1	AA llama
Piomo	mg / kg	6,18	AA horno de grafito

## **ANEXO B PROCESO DE ELABORACIÓN DEL REACTIVO DNS**

El procedimiento de elaboración del reactivo DNS fue suministrado Centro de Gestión Industrial Sena reflejado a continuación.

El método consiste en una reacción de óxido-reducción (redox) que ocurre entre el DNS y los azúcares reductores presentes en la muestra, sin embargo, no es recomendable utilizar este procedimiento cuando se trata de muestras intensamente coloreadas como mieles y caldos de fermentación, ya que estudios realizados indican que este tipo de sustancias tienen altos niveles de dispersión en la determinación de azúcares reductores.

La siguiente practica experimental se llevará a cabo con el fin de obtener datos con mayor precisión al emplear equipos instrumentales de análisis químicos y comparar estos resultados frente a los resultados obtenidos en las volumetrías por Fheling.

### **❖ Materiales**

- Material volumétrico: balón aforado de 500 mL, pipetas aforadas de 5 y 10 mL.
- Material de vidrio: vaso de precipitados de 50 mL, vaso de precipitados de 250 mL, balón aforado 10mL, matraz Erlenmeyer de 100 mL, vidrio de reloj, agitador de vidrio, pipetas de 1 y 10 mL y tubos de ensayo.
- Otros materiales: espátula, pinza para tubos de ensayo.

### **❖ Instrumentos**

- Balanza analítica, con precisión de 0,0001 g.
- Plancha de calentamiento con agitación.
- Espectrofotómetro UV 1800 Shimadzu.

### **❖ Reactivos**

- Glucosa grado analítico.
- Hidróxido de sodio
- Tartrato de sodio-potasio
- Ácido 3,5 dinitrosalicílico
- Ácido clorhídrico concentrado
- Agua

### **❖ Elementos de Protección Personal (EPP) y dispositivos de seguridad**

Para la realización de esta práctica es necesario el uso de los siguientes EPP y dispositivos de seguridad:

- Cabina de extracción.
- Fuente lava ojos.
- Gafas de seguridad.
- Guantes de nitrilo grueso y delgado.

#### ❖ **Condiciones de seguridad**

- Use los EPP permanentemente mientras permanece dentro del laboratorio. No se retire los EPP hasta que haya abandonado definitivamente el laboratorio.
- Manipulación del hidróxido de sodio y ácido clorhídrico.
- Sustancia muy corrosiva para los ojos, la piel y el tracto respiratorio. Corrosivo por ingestión. La inhalación del aerosol puede originar edema pulmonar. Utilice los EPP adecuados.
- NUNCA adicione agua sobre esta sustancia. Cuando se requiera disolver o diluir, adicione el hidróxido de sodio lentamente sobre el agua, con agitación constante. Realice esta operación dentro de la cabina de extracción.
- Reacciona violentamente con ácidos en el caso del hidróxido y de manera inversa en el caso del ácido.
- Asígnele un lugar en el laboratorio donde se encuentre separados uno del otro, además de metales y materiales combustibles.
- Almacene en lugar seco y bien cerrado.

#### ❖ **Procedimiento**

- Tratamiento del zumo:
- Teniendo en cuenta la tabla Bromatológica de cada materia prima, determine el porcentaje de azúcares totales y azúcares reductores por cada 100 gramos de fruta.
- Si las muestras tienen fibras o se encuentra turbia, centrifugar cada una a 10000 rpm por 10 min y el sobrenadante se trasvasa a un tubo nuevo.

#### ❖ **Inversión del zumo**

- Tome 1 mL de jugo filtrado y vierta en un Erlenmeyer de 100 mL.
- Adicione 5 mL de ácido clorhídrico (HCl) concentrado.

- Lleve el Erlenmeyer a 65 °C en un baño de agua por 10 min
- Pasado el tiempo de calentamiento, déjelo enfriar a temperatura ambiente y neutralice con NaOH al 10%
- Enrase con agua destilada

#### ❖ **Preparación de soluciones**

- Prepare una solución patrón de glucosa al 0,1 %p/v, 100mL.
- Prepare el reactivo del ácido 3,5 dinitrosalicílico para 500 mL, teniendo en cuenta los siguientes pasos:
- Pese 5 g de ácido 3,5 dinitrosalicílico, 150 g de tartrato de sodio-potasio y 8 g de hidróxido de sodio.
- Disuelva el NaOH en 200 mL de agua y adicione en agitación el tartrato de sodio-potasio.
- Complete con agua hasta 400 mL y adicione lentamente el ácido 3.5 dinitrosalicílico.
- Déjelo en agitación y en calentamiento por 15 min.
- Llévelo a volumen y filtre si es necesario.

#### ❖ **Curva de calibración y lecturas en la muestra**

1. Calibre el espectrofotómetro en “cero” (100% T y/o A = 0), teniendo en cuenta que  $\lambda = 540 \text{ nm}$  y el blanco es agua destilada más el reactivo DNS.
2. Para la curva de calibración y análisis del zumo tenga en cuenta el orden que se presenta en la siguiente tabla:

**Tabla 18.** Volúmenes implementados.

<b>Solución</b>	<b>Blanco</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>M 1</b>	<b>M 2</b>
Vol. de solución de glucosa 0,1% (mL)	0	1	2	3	4	5	0	0
Vol. de muestra 1 (mL)	0	0	0	0	0	0	5	5
Vol. de agua (mL)	10	9	8	7	6	5	5	5
Vol. Total (mL)	10	10	10	10	10	10	10	10

❖ **Desarrollo de la reacción del DNS**

- Tomar 4 mL de cada patrón y llevar a un tubo de ensayo.
- Adicionar 1 mL de la solución de DNS a cada tubo de ensayo.
- Lleve los tubos a un baño de agua a 100°C por 5 min y luego déjelo enfriar a temperatura ambiente.
- Realice la lectura a 540 nm en el espectrofotómetro UV 1800 Shimadzu.

## ANEXO C FICHA TÉCNICA DE LA ENZIMA MULTIFECT B



# MULTIFECT® B

## Genencor Beta-Glucanase

### DESCRIPTION

Multifect® B enzyme is a cellulase/ $\beta$ -glucanase complex derived from a selected strain of *Trichoderma reesei*. Typical application areas for Multifect® B enzyme include raw material processing, viscosity reduction and fermentation media hydrolysis with plant-derived cellulosic substrates. The Multifect® B enzyme is also effective in pulp and paper applications including fiber modification. The modification of fibers by the Multifect® B enzyme results in enhanced water removal from paper pulp processing. If refining follows the treatment, increased fibrillation can be observed due to enhanced beatability/refining of the fibers.

### PERFORMANCE BENEFITS

The Multifect® B enzyme offers the following process benefits in pulp processing applications:

- Enhances efficiency of water removal (i.e. drainage of paper pulp finish)
- Reduces the energy requirement when used for refining chemical fibers
- Improves ink removal while enhancing brightness in the waste paper recycling process
- Results in softening of the fiber walls through hydrolysis and increases fibrillation

### PRODUCT CHARACTERISTICS

**Activity:** 2,250 BGLU/ml (minimum)(\*)

**Appearance:** Amber liquid

**Grade:** Food grade, Kosher

**pH:** 4.9 - 5.3

**Specific Gravity:** 1.2 - 1.3 g/ml

(\*)The activity of Multifect® B enzyme is expressed in beta-glucanase units (BGLU) per milliliter. The BGLU Unit quantifies the activity of hydrolysis of barley  $\beta$ -glucan under assay conditions. The assay method is available upon request.

### pH DEPENDENCY

The pH range for the enzyme activity of Multifect® B enzyme is approximately 4.0 to 6.0, with an optimum performance at pH 5.0. The exact pH optimum will depend on process variables, including temperature, time, substrate concentration and substrate composition.

### TEMPERATURE DEPENDENCY

The activity of Multifect® B enzyme is effective in the temperature range of 40°C (105°F) to 60°C (150°F), with an optimum performance at 50°C (120°F). The exact temperature optimum will depend on many process variables, such as pH, time, substrate concentration and substrate composition.

### BIOCHEMICAL PARAMETERS

**Enzyme type:** Cellulase enzyme complex, standardized on  $\beta$ -glucanase

**IUB#:** 3.2.1.4

### APPLICATION RECOMMENDATIONS

Multifect® B enzyme breaks down  $\beta$ -glucans, pentosans and related carbohydrates. Under raw material processing conditions Multifect® B will significantly reduce viscosity and improve processing efficiency.

### INACTIVATION

Multifect® B enzyme can be inactivated by holding for 10 minutes at a temperature above 85°C (185°F).

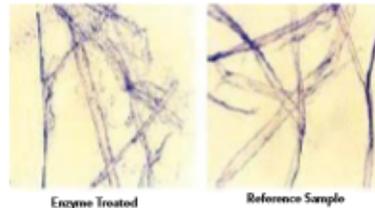
### DOSAGE RECOMMENDATIONS

In raw material processing applications, a typical Multifect® B enzyme dosage rate is 0.05 to 0.10% weight/weight substrate solids. In pulp and paper applications a typical Multifect® B enzyme dosage rate of 0.5 to 2.0 kg per ton of pulp is recommended as a starting point for determining the optimum performance.

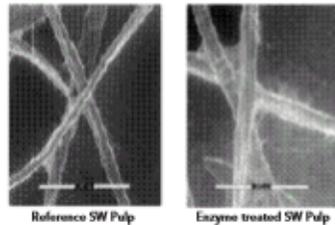


In Figure 1, removal of gel-like polysaccharides layer could be detected when 2.2 kg of Multifect® B per ton of pulp was used in the treatment of softwood Kraft pulp fibers. Water removal was determined by measuring the Shopper-Riegler Value, which was decreased from 29 SR (reference sample) to 24 SR for enzyme treated samples.

**Figure 1: Multifect® B Enzyme in Drainage Improvement of Softwood Fibers.**



In Figure 2, enzyme-treated and refined fibers show a higher degrees of fibrillation in ESEM microscopy compared to untreated fibers. A dose of 1.32 kg Multifect® B enzyme/ton of softwood pulp was used prior to PFI refining at 8,000 revolutions/minute.



**PACKAGING**

Multifect® B is available in various standard package sizes, please contact Genencor for detailed information.

#### STORAGE STABILITY

Multifect® B enzyme will meet the declared activity of 2,250 BGLU/ml upon arrival at the customer's plant.

Genencor enzymes can be safely stored in unopened and sealed original containers. Enzyme containers should be stored below 20°C (70°F), preferentially refrigerated and sheltered against direct sunlight.

During storage, Multifect® B enzyme will have an activity loss at elevated temperatures. For more information on the storage of this product, please contact Genencor.

[www.genencor.com](http://www.genencor.com)

#### REGULATORY STATUS

This product meets or exceeds the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemicals Codex (FCC) specification for enzyme preparations used in food and is **GRAS** (Generally Recognized As Safe).

#### SAFETY & ENZYME HANDLING

Inhalation of enzyme dust and mists should be avoided. In case of contact with the skin or eyes, promptly rinse with water for at least 15 minutes.

For detailed handling information, please refer to the appropriate Material Safety Data Sheet; the Enzyme Technical Association (ETA) handbook, *Working Safely With Enzymes*; and the Association of Manufacturers and Formulators of Enzyme Products (Amfep) handbook, *Guide to the Safe Handling of Microbial Enzyme Preparations*. All are available from Genencor.

#### CONTACT INFORMATION

**USA and Canada**  
 Rochester, New York  
 t: +1 800 847 5311  
 f: +1 585 256 5295

**Asia/Pacific**  
 Singapore  
 t: +65 6511 5600  
 f: +65 6511 5666

**Europe, Middle East & Africa**  
 Leiden, The Netherlands  
 t: +31 71 5686 168  
 f: +31 71 5686 169

**Shanghai, P.R. China**  
 t: +86 21 2307 9588  
 f: +86 21 2307 9599

**Latin America**  
 Buenos Aires, Argentina  
 t: +54 11 4875 9500  
 f: +54 11 4875 9529

**Mumbai, India**  
 t: +91 22 3008 7131  
 f: +91 22 3008 7150

**São Paulo, Brazil**  
 t: +54 11 4613 3800  
 f: +54 11 4612 1101

© 2011 Danisco US Inc.  
 Genencor® and Multifect® are registered trademarks of Danisco US Inc. or its affiliates in the United States and/or other countries.

Use and/or sale of this product may be covered by one or more patents in the U.S. and other countries as well as pending patents in the U.S. and other countries.

The information contained in this product literature is, to the best of our knowledge, true and accurate and the product as sold is in conformance with the specifications set forth herein as determined by the assay methods described herein. Due to conditions of use, technical errors or omissions, improper handling or storage beyond our control, Danisco US Inc. hereby disclaims any express or implied warranties, including the implied warranty of merchantability or fitness for a particular purpose. Danisco US Inc. shall not be liable for any incidental, consequential, or special damages resulting in anyway from the furnishing, performance, or use of this product literature or the product described herein.

Nothing contained herein shall be construed as a representation by Danisco US Inc. that the use or resale of the product or processes described herein will not violate any rules or regulations of any countries, regions, localities, etc., or infringe upon patents or other intellectual property rights of third parties or that the recommendations and usage suggestions described constitute any authorization or inducement to infringe any such rights.

This document is subject to change without further notice.

REV 3688 PLJ105 December 11

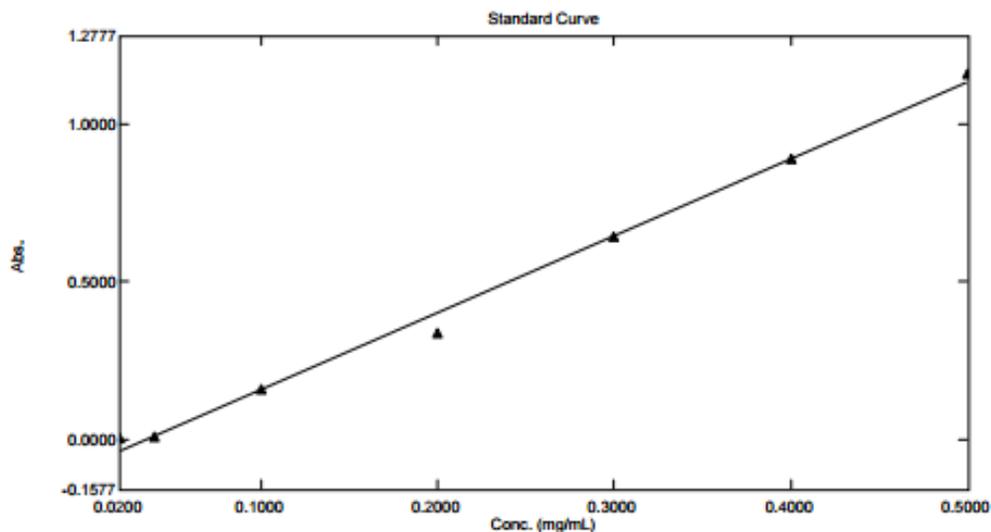
**9001:2000**  
 ISO REGISTERED COMPANY

## ANEXO D RESULTADOS - CURVA DE CALIBRACIÓN

### Standard Table Report

11/23/2016 04:02:59 PM

File Name: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Papel\DNS 8 NOV 20016.pho



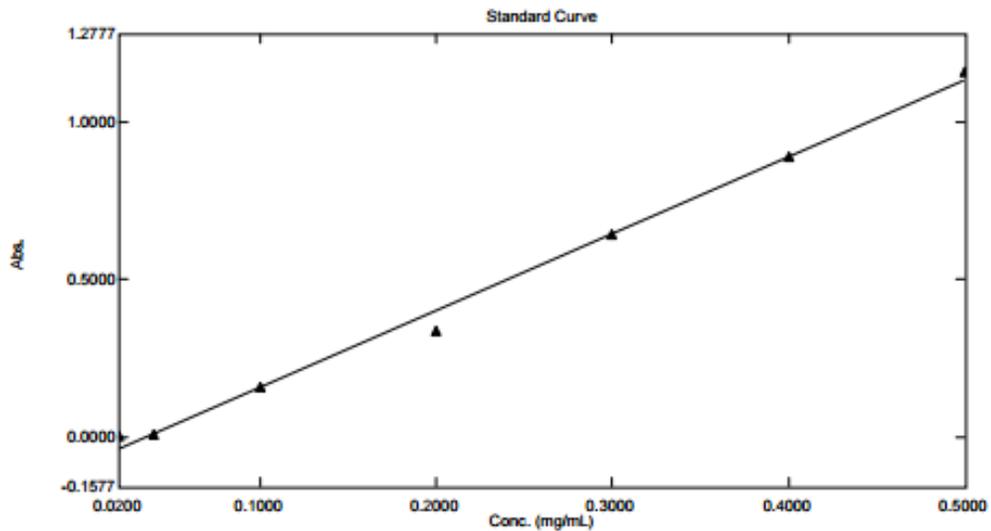
Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Wgt.Factor	Comments
1	1	Std-Repeat		0.0200	0.0045	1.0000	
2	1-2	Std-Repeat		0.0200	0.0044	1.0000	
3	1-3	Std-Repeat		0.0200	0.0043	1.0000	
4	1-Avg	Average		0.0200	0.0044	1.0000	Avg of preceding 3 Samples
5	2	Std-Repeat		0.0400	0.0087	1.0000	
6	2-2	Std-Repeat		0.0400	0.0087	1.0000	
7	2-3	Std-Repeat		0.0400	0.0087	1.0000	
8	2-Avg	Average		0.0400	0.0087	1.0000	Avg of preceding 3 Samples
9	3	Std-Repeat		0.1000	0.1582	1.0000	
10	3-2	Std-Repeat		0.1000	0.1582	1.0000	
11	3-3	Std-Repeat		0.1000	0.1582	1.0000	
12	3-Avg	Average		0.1000	0.1582	1.0000	Avg of preceding 3 Samples
13	4	Std-Repeat		0.2000	0.3364	1.0000	
14	4-2	Std-Repeat		0.2000	0.3364	1.0000	
15	4-3	Std-Repeat		0.2000	0.3364	1.0000	
16	4-Avg	Average		0.2000	0.3364	1.0000	Avg of preceding 3 Samples
17	5	Std-Repeat		0.3000	0.6414	1.0000	
18	5-2	Std-Repeat		0.3000	0.6416	1.0000	

# Standard Table Report

11/23/2016 04:02:59 PM

File Name: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Pape\DNS 8 NOV 20016.pho



Standard Table

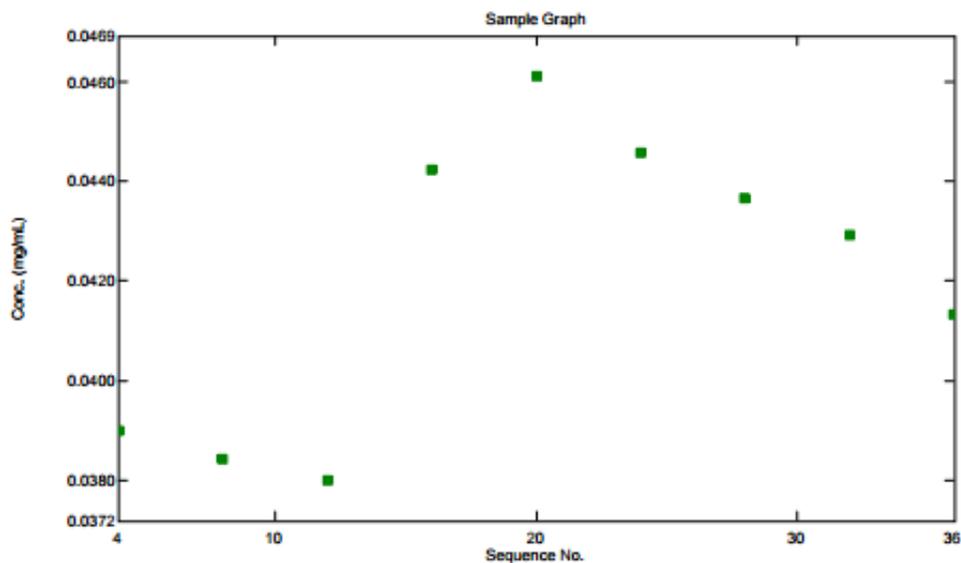
	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Wgt.Factor	Comments
19	5-3	Std-Repeat		0.3000	0.6419	1.0000	
20	5-Avg	Average		0.3000	0.6416	1.0000	Avg of preceding 3 Samples
21	6	Std-Repeat		0.4000	0.8896	1.0000	
22	6-2	Std-Repeat		0.4000	0.8893	1.0000	
23	6-3	Std-Repeat		0.4000	0.8891	1.0000	
24	6-Avg	Average		0.4000	0.8893	1.0000	Avg of preceding 3 Samples
25	7	Std-Repeat		0.5000	1.1581	1.0000	
26	7-2	Std-Repeat		0.5000	1.1580	1.0000	
27	7-3	Std-Repeat		0.5000	1.1582	1.0000	
28	7-Avg	Average		0.5000	1.1581	1.0000	Avg of preceding 3 Samples
29							

## ANEXO E RESULTADO DE ABSORBANCIAS – ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

### Sample Table Report

11/02/2016 06:45:05 PM

File Name: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Pape\DNS 02 NOV 20016-1.pho



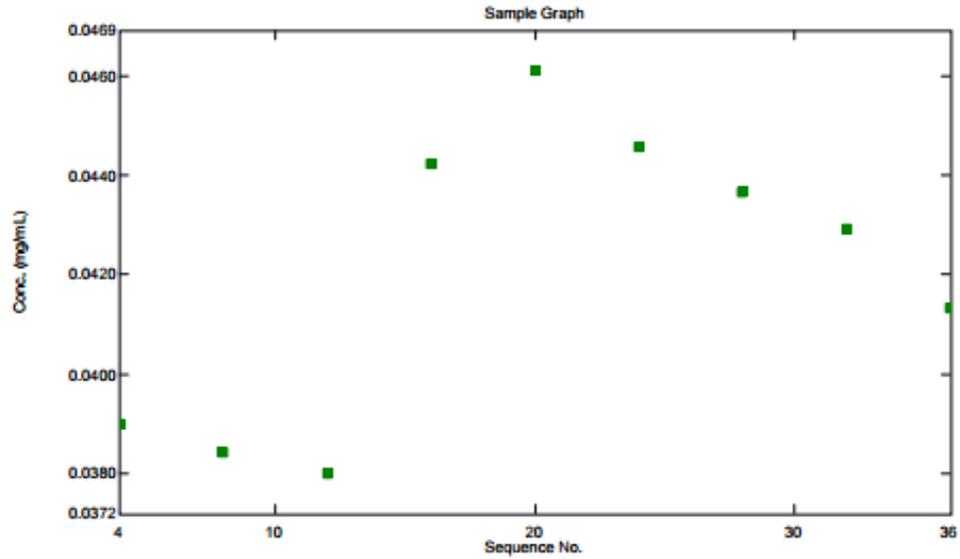
Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
1	M1 30 minutos 1	Unk-Repeat			0.0083	1ml a 5 mL
2	M1 30 minutos 1-2	Unk-Repeat			0.0082	
3	M1 30 minutos 1-3	Unk-Repeat			0.0082	
4	M1 30 minutos 1-Avg	Average		0.0390	0.0083	Avg of preceding 3 Samples
5	M2 30 Minutos 1	Unk-Repeat			0.0068	1ml a 5 mL
6	M2 30 Minutos 1-2	Unk-Repeat			0.0069	
7	M2 30 Minutos 1-3	Unk-Repeat			0.0069	
8	M2 30 Minutos 1-Avg	Average		0.0384	0.0069	Avg of preceding 3 Samples
9	M3 30 Minutos 1	Unk-Repeat			0.0058	1ml a 5 mL
10	M3 30 Minutos 1-2	Unk-Repeat			0.0058	
11	M3 30 Minutos 1-3	Unk-Repeat			0.0060	
12	M3 30 Minutos 1-Avg	Average		0.0380	0.0059	Avg of preceding 3 Samples
13	M1 75 minutos	Unk-Repeat			0.0213	
14	M1 75 minutos-2	Unk-Repeat			0.0210	
15	M1 75 minutos-3	Unk-Repeat			0.0207	
16	M1 75 minutos-Avg	Average		0.0442	0.0210	Avg of preceding 3 Samples
17	M2 75 minutos	Unk-Repeat			0.0256	
18	M2 75 minutos-2	Unk-Repeat			0.0256	

# Sample Table Report

11/02/2016 06:45:06 PM

File Name: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Pape\DNS 02 NOV 20016-1.pho



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
19	M2 75 minutos-3	Unk-Repeat			0.0255	
20	M2 75 minutos-Avg	Average		0.0461	0.0256	Avg of preceding 3 Samples
21	M3 75 minutos	Unk-Repeat			0.0217	
22	M3 75 minutos-2	Unk-Repeat			0.0218	
23	M3 75 minutos-3	Unk-Repeat			0.0222	
24	M3 75 minutos-Avg	Average		0.0446	0.0219	Avg of preceding 3 Samples
25	M1 120 minutos	Unk-Repeat			0.0196	
26	M1 120 minutos-2	Unk-Repeat			0.0197	
27	M1 120 minutos-3	Unk-Repeat			0.0197	
28	M1 120 minutos-Avg	Average		0.0437	0.0197	Avg of preceding 3 Samples
29	M2 120 minutos	Unk-Repeat			0.0177	
30	M2 120 minutos-2	Unk-Repeat			0.0178	
31	M2 120 minutos-3	Unk-Repeat			0.0179	
32	M2 120 minutos-Avg	Average		0.0429	0.0178	Avg of preceding 3 Samples
33	M3 120 minutos	Unk-Repeat			0.0139	
34	M3 120 minutos-2	Unk-Repeat			0.0139	
35	M3 120 minutos-3	Unk-Repeat			0.0141	
36	M3 120 minutos-Avg	Average		0.0413	0.0140	Avg of preceding 3 Samples

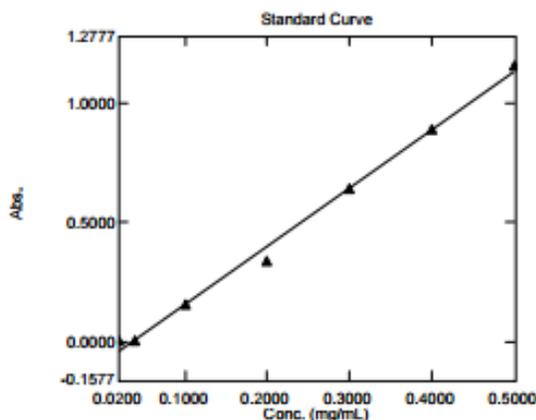
## ANEXO F RESULTADO DE ABSORBANCIAS FINALIZADO EL PROCESO DE HIDRÓLISIS (CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES)

### Quantitative Measurement Report

Page 2 / 11

Print Date: 11/23/2016 04:07:20 PM

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Paper\DNS 8 NOV 20016.pho



#### Software Information

Software Name: UVProbe  
Version: 2.43  
Mode: Normal Mode

#### Data Information

Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Paper\DNS 8 NOV 20016.pho

#### Title:

Analyst:  
Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
Comments:

#### Instrument Information

Instrument Name: UV1800-SENA  
Instrument Type: UV-1800 Series  
Model (S/N): UV1800 (A11455150399)

$y = 2.43887 x - 0.08683$   
Correlation Coefficient  $r^2 = 0.99457$

Standard Table

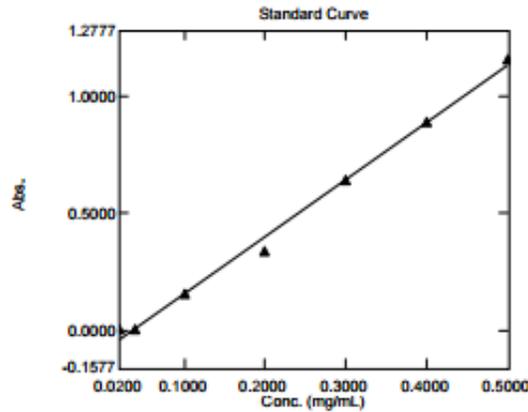
	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Wgt.Factor	Comments
9	3	Std-Repeat		0.1000	0.1582	1.0000	
10	3-2	Std-Repeat		0.1000	0.1582	1.0000	
11	3-3	Std-Repeat		0.1000	0.1582	1.0000	
12	3-Avg	Average		0.1000	0.1582	1.0000	Avg of preceding 3 Samples
13	4	Std-Repeat		0.2000	0.3364	1.0000	
14	4-2	Std-Repeat		0.2000	0.3364	1.0000	
15	4-3	Std-Repeat		0.2000	0.3364	1.0000	
16	4-Avg	Average		0.2000	0.3364	1.0000	Avg of preceding 3 Samples

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
14	4-2	Unk-Repeat			0.2231	
15	4-3	Unk-Repeat			0.2233	
16	4-Avg	Average		0.1271	0.2231	Avg of preceding 3 Samples
17	5	Unk-Repeat			0.0045	Tiempo 14 H con dilucion 1/ 10
18	5-2	Unk-Repeat			0.0044	
19	5-3	Unk-Repeat			0.0043	
20	5-Avg	Average		0.0374	0.0044	Avg of preceding 3 Samples
21	6	Unk-Repeat			0.3946	Tiempo 18H sin dilucion
22	6-2	Unk-Repeat			0.3945	
23	6-3	Unk-Repeat			0.3943	
24	6-Avg	Average		0.1974	0.3945	Avg of preceding 3 Samples
25	7	Unk-Repeat			0.0024	Tiempo 18H con dilucion 1/10

# Quantitative Measurement Report

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Papel\DNS 8 NOV 20016.pho



Software Information  
 Software Name: UVProbe  
 Version: 2.43  
 Mode: Normal Mode

Data Information  
 Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Papel\DNS 8 NOV 20016.pho  
 Title:  
 Analyst:  
 Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
 Comments:

Instrument Information  
 Instrument Name: UV1800-SENA  
 Instrument Type: UV-1800 Series  
 Model (S/N): UV1800 (A11455150399)

$y = 2.43887x - 0.09583$   
 Correlation Coefficient  $r^2 = 0.99457$

Standard Table

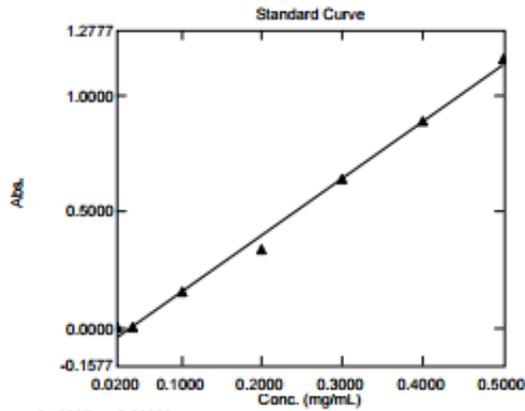
	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Wgt.Factor	Comments
17	5	Std-Repeat		0.3000	0.6414	1.0000	
18	5-2	Std-Repeat		0.3000	0.6416	1.0000	
19	5-3	Std-Repeat		0.3000	0.6419	1.0000	
20	5-Avg	Average		0.3000	0.6416	1.0000	Avg of preceding 3 Samples
21	6	Std-Repeat		0.4000	0.8896	1.0000	
22	6-2	Std-Repeat		0.4000	0.8893	1.0000	
23	6-3	Std-Repeat		0.4000	0.8891	1.0000	
24	6-Avg	Average		0.4000	0.8893	1.0000	Avg of preceding 3 Samples

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
26	7-2	Unk-Repeat			0.0025	
27	7-3	Unk-Repeat			0.0025	
28	7-Avg	Average		0.0366	0.0025	Avg of preceding 3 Samples
29	8	Unk-Repeat			0.2126	Tiempo 389H
30	8-2	Unk-Repeat			0.2127	
31	8-3	Unk-Repeat			0.2128	
32	8-Avg	Average		0.1228	0.2127	Avg of preceding 3 Samples
33	9	Unk-Repeat			-0.0020	Tiempo 38H diluido 1/10
34	9-2	Unk-Repeat			-0.0020	
35	9-3	Unk-Repeat			-0.0020	
36	9-Avg	Average		0.0348	-0.0020	Avg of preceding 3 Samples
37	10	Unk-Repeat			-0.0068	Tiempo 0H / 0.1

# Quantitative Measurement Report

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Pape\DNS 8 NOV 20016.pho



Software Information  
 Software Name: UVProbe  
 Version: 2.43  
 Mode: Normal Mode

Data Information  
 Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Pape\DNS 8 NOV 20016.pho

Title:  
 Analyst:  
 Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
 Comments:

Instrument Information  
 Instrument Name: UV1800-SENA  
 Instrument Type: UV-1800 Series  
 Model (S/N): UV1800 (A11455150399)

$y = 2.43887x - 0.08683$   
 Correlation Coefficient  $r^2 = 0.99457$

Standard Table

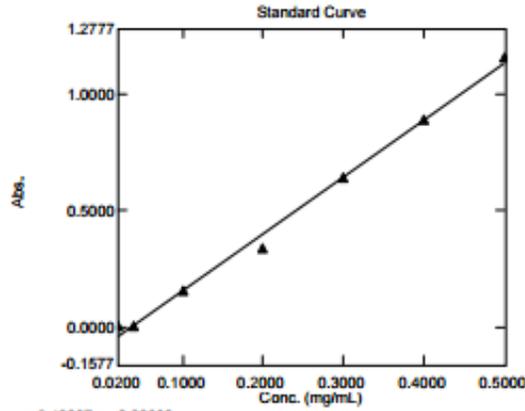
Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Wgt.Factor	Comments
25	7	Std-Repeat	0.5000	1.1581	1.0000	
26	7-2	Std-Repeat	0.5000	1.1580	1.0000	
27	7-3	Std-Repeat	0.5000	1.1582	1.0000	
28	7-Avg	Average	0.5000	1.1581	1.0000	Avg of preceding 3 Samples
29						

Sample Table

Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
38	10-2	Unk-Repeat		-0.0068	
39	10-3	Unk-Repeat		-0.0068	
40	10-Avg	Average	0.0328	-0.0068	Avg of preceding 3 Samples
41	11	Unk-Repeat		-0.0055	Tiempo OH / 1
42	11-2	Unk-Repeat		-0.0055	
43	11-3	Unk-Repeat		-0.0055	
44	11-Avg	Average	0.0333	-0.0055	Avg of preceding 3 Samples
45	12	Unk-Repeat		-0.0002	Tiempo OH / 5
46	12-2	Unk-Repeat		-0.0002	
47	12-3	Unk-Repeat		-0.0002	
48	12-Avg	Average	0.0355	-0.0002	Avg of preceding 3 Samples
49	136	Unk-Repeat		-0.0032	Tiempo OH / 10

# Quantitative Measurement Report

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Papel\DNS 8 NOV 20016.pho



Software Information  
 Software Name: UVProbe  
 Version: 2.43  
 Mode: Normal Mode

Data Information  
 Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS  
 Papel\DNS 8 NOV 20016.pho

Title:  
 Analyst:  
 Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
 Comments:

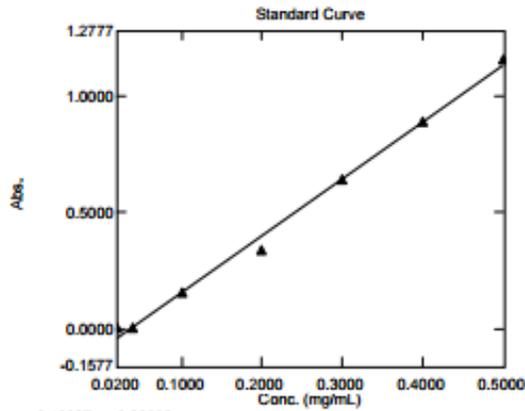
Instrument Information  
 Instrument Name: UV1800-SENA  
 Instrument Type: UV-1800 Series  
 Model (S/N): UV1800 (A11455150399)

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
50	136-2	Unk-Repeat			-0.0032	
51	136-3	Unk-Repeat			-0.0032	
52	136-Avg	Average		0.0343	-0.0032	Avg of preceding 3 Samples
53	14	Unk-Repeat			0.3955	Tiempo 1 H / 10 (10-11)
54	14-2	Unk-Repeat			0.3955	
55	14-3	Unk-Repeat			0.3955	
56	14-Avg	Average		0.1978	0.3955	Avg of preceding 3 Samples
57	15	Unk-Repeat			0.2284	Tiempo 1H / 5 (10-11)
58	15-2	Unk-Repeat			0.2283	
59	15-3	Unk-Repeat			0.2283	
60	15-Avg	Average		0.1292	0.2283	Avg of preceding 3 Samples
61	16	Unk-Repeat			0.0037	Tiempo 1H / 1(10-11)

# Quantitative Measurement Report

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Papel\DNS 8 NOV 20016.pho



### Software Information

Software Name: UVProbe  
Version: 2.43  
Mode: Normal Mode

### Data Information

Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Papel\DNS 8 NOV 20016.pho

### Title:

Analyst:  
Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
Comments:

### Instrument Information

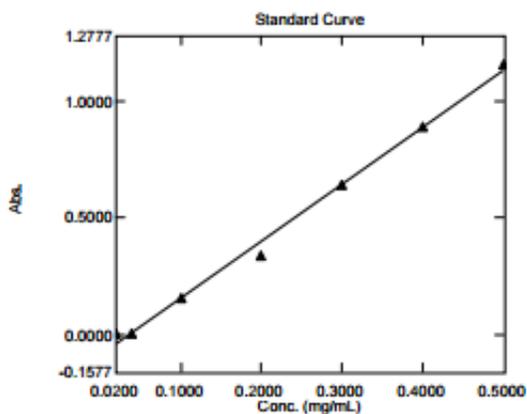
Instrument Name: UV1800-SENA  
Instrument Type: UV-1800 Series  
Model (S/N): UV1800 (A11455150399)

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
62	16-2	Unk-Repeat			0.0037	
63	16-3	Unk-Repeat			0.0037	
64	16-Avg	Average		0.0371	0.0037	Avg of preceding 3 Samples
65	17	Unk-Repeat			-0.0002	Tiempo 1H / 0.1 (10-11)
66	17-2	Unk-Repeat			-0.0002	
67	17-3	Unk-Repeat			-0.0003	
68	17-Avg	Average		0.0355	-0.0002	Avg of preceding 3 Samples
69	18	Unk-Repeat			0.5815	Tiempo 2H / 10 (10-11)
70	18-2	Unk-Repeat			0.5814	
71	18-3	Unk-Repeat			0.5813	
72	18-Avg	Average		0.2740	0.5814	Avg of preceding 3 Samples
73	19	Unk-Repeat			0.2930	Tiempo 2H / 5 (10-11)

# Quantitative Measurement Report

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Paper\DNS 8 NOV 20016.pho



Software Information  
 Software Name: UVProbe  
 Version: 2.43  
 Mode: Normal Mode

Data Information  
 Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Paper\DNS 8 NOV 20016.pho

Title:  
 Analyst:  
 Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
 Comments:

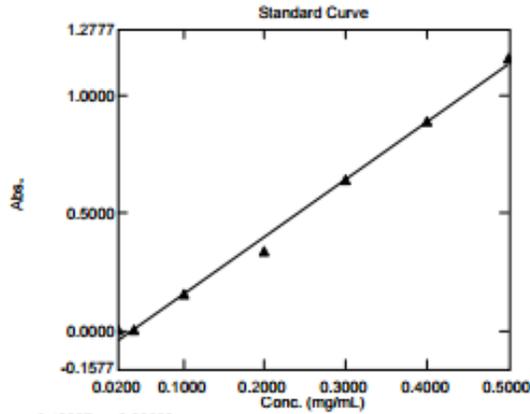
Instrument Information  
 Instrument Name: UV1800-SENA  
 Instrument Type: UV-1800 Series  
 Model (S/N): UV1800 (A11455150399)

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
74	19-2	Unk-Repeat			0.2930	
75	19-3	Unk-Repeat			0.2929	
76	19-Avg	Average		0.1557	0.2930	Avg of preceding 3 Samples
77	20	Unk-Repeat			0.0050	Tiempo 2H / 1 (10-11)
78	20-2	Unk-Repeat			0.0051	
79	20-3	Unk-Repeat			0.0051	
80	20-Avg	Average		0.0377	0.0051	Avg of preceding 3 Samples
81	21	Unk-Repeat			0.0028	Tiempo 2H / 0.1 (10-11)
82	21-2	Unk-Repeat			0.0028	
83	21-3	Unk-Repeat			0.0028	
84	21-Avg	Average		0.0367	0.0028	Avg of preceding 3 Samples
85	22	Unk-Repeat			0.9888	Tiempo 4H / 10

# Quantitative Measurement Report

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Papel\DNS 8 NOV 20016.pho



Software Information  
 Software Name: UVProbe  
 Version: 2.43  
 Mode: Normal Mode

Data Information  
 Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS  
 Papel\DNS 8 NOV 20016.pho

Title:  
 Analyst:  
 Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
 Comments:

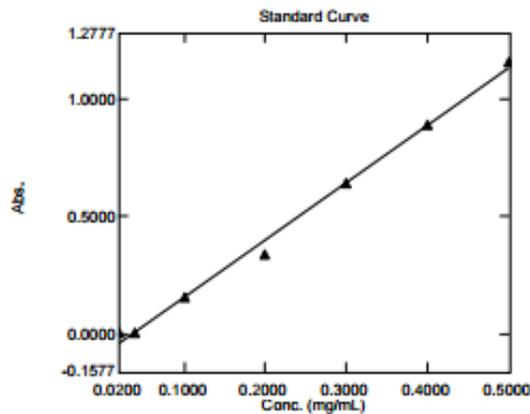
Instrument Information  
 Instrument Name: UV1800-SENA  
 Instrument Type: UV-1800 Series  
 Model (S/N): UV1800 (A11455150399)

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
86	22-2	Unk-Repeat			0.9887	
87	22-3	Unk-Repeat			0.9886	
88	22-Avg	Average		0.4410	0.9887	Avg of preceding 3 Samples
89	23	Unk-Repeat			0.5997	Tiempo 4H / 5
90	23-2	Unk-Repeat			0.5996	
91	23-3	Unk-Repeat			0.5996	
92	23-Avg	Average		0.2815	0.5997	Avg of preceding 3 Samples
93	24	Unk-Repeat			0.0450	Tiempo 4H / 1
94	24-2	Unk-Repeat			0.0450	
95	24-3	Unk-Repeat			0.0450	
96	24-Avg	Average		0.0541	0.0450	Avg of preceding 3 Samples
97	25	Unk-Repeat			0.0050	Tiempo 4H / 0.1

# Quantitative Measurement Report

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Paper\DNS 8 NOV 20016.pho



### Software Information

Software Name: UVProbe  
Version: 2.43  
Mode: Normal Mode

### Data Information

Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Paper\DNS 8 NOV 20016.pho

### Title:

Analyst:  
Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
Comments:

### Instrument Information

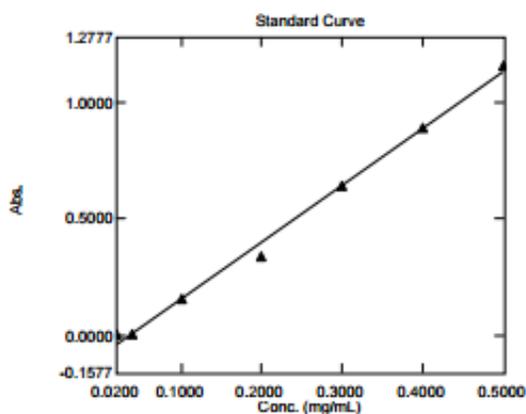
Instrument Name: UV1800-SENA  
Instrument Type: UV-1800 Series  
Model (S/N): UV1800 (A11455150399)

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
98	25-2	Unk-Repeat			0.0051	
99	25-3	Unk-Repeat			0.0050	
100	25-Avg	Average		0.0377	0.0050	Avg of preceding 3 Samples
101	26	Unk-Repeat			0.2097	Tiempo 47H
102	26-2	Unk-Repeat			0.2097	
103	26-3	Unk-Repeat			0.2097	
104	26-Avg	Average		0.1216	0.2097	Avg of preceding 3 Samples
105	27	Unk-Repeat			0.0017	Tiempo 47H diluido 1/10
106	27-2	Unk-Repeat			0.0017	
107	27-3	Unk-Repeat			0.0016	
108	27-Avg	Average		0.0363	0.0017	Avg of preceding 3 Samples
109	28	Unk-Repeat			0.5209	Tiempo 8H / 10 (500uL)

# Quantitative Measurement Report

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Pape\DNS 8 NOV 20016.pho



### Software Information

Software Name: UVProbe  
Version: 2.43  
Mode: Normal Mode

### Data Information

Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Pape\DNS 8 NOV 20016.pho

### Title:

Analyst:  
Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
Comments:

### Instrument Information

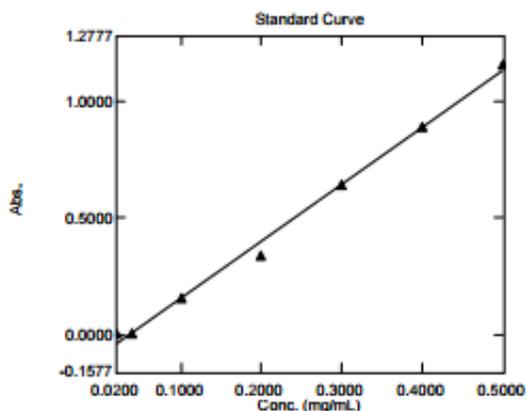
Instrument Name: UV1800-SENA  
Instrument Type: UV-1800 Series  
Model (S/N): UV1800 (A11455150399)

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
110	28-2	Unk-Repeat			0.5207	
111	28-3	Unk-Repeat			0.5207	
112	28-Avg	Average		0.2901	0.5208	Avg of preceding 3 Samples
113	29	Unk-Repeat			0.7045	Tiempo 8H / 5
114	29-2	Unk-Repeat			0.7045	
115	29-3	Unk-Repeat			0.7044	
116	29-Avg	Average		0.3245	0.7045	Avg of preceding 3 Samples
117	30	Unk-Repeat			0.0982	Tiempo 8H / 1
118	30-2	Unk-Repeat			0.0982	
119	30-3	Unk-Repeat			0.0983	
120	30-Avg	Average		0.0759	0.0982	Avg of preceding 3 Samples
121	31	Unk-Repeat			0.0052	Tiempo 8H 0.1

# Quantitative Measurement Report

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Paper\DNS 8 NOV 20016.pho



**Software Information**  
 Software Name: UVProbe  
 Version: 2.43  
 Mode: Normal Mode

**Data Information**  
 Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Paper\DNS 8 NOV 20016.pho  
 Title:  
 Analyst:  
 Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
 Comments:

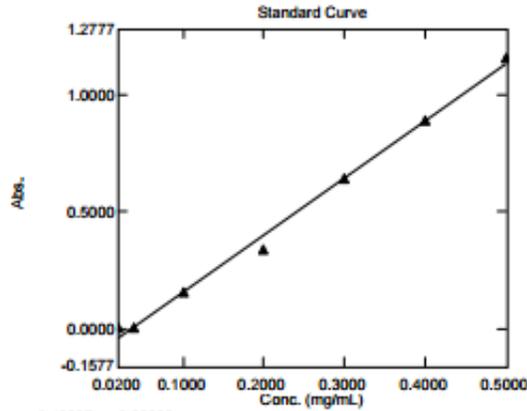
**Instrument Information**  
 Instrument Name: UV1800-SENA  
 Instrument Type: UV-1800 Series  
 Model (S/N): UV1800 (A11455150399)

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
122	31-2	Unk-Repeat			0.0052	
123	31-3	Unk-Repeat			0.0053	
124	31-Avg	Average		0.0382	0.0052	Avg of preceding 3 Samples
125	32	Unk-Repeat			0.2907	Tiempo 55H
126	32-2	Unk-Repeat			0.2906	
127	32-3	Unk-Repeat			0.2907	
128	32-Avg	Average		0.1548	0.2907	Avg of preceding 3 Samples
129	33	Unk-Repeat			-0.0005	Tiempo 55 H diluido 1/10
130	33-2	Unk-Repeat			-0.0004	
131	33-3	Unk-Repeat			-0.0004	
132	33-Avg	Average		0.0354	-0.0004	Avg of preceding 3 Samples
133	34	Unk-Repeat			0.9801	Tiempo 25 H / 10 (500uL)

# Quantitative Measurement Report

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Papel\DNS 8 NOV 20016.pho



Software Information  
 Software Name: UVProbe  
 Version: 2.43  
 Mode: Normal Mode

Data Information  
 Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS  
 Papel\DNS 8 NOV 20016.pho

Title:  
 Analyst:  
 Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
 Comments:

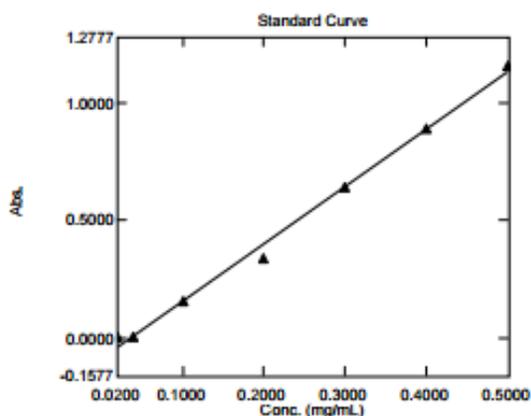
Instrument Information  
 Instrument Name: UV1800-SENA  
 Instrument Type: UV-1800 Series  
 Model (S/N): UV1800 (A11455150399)

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
134	34-2	Unk-Repeat			0.9804	
135	34-3	Unk-Repeat			0.9804	
136	34-Avg	Average		0.4375	0.9803	Avg of preceding 3 Samples
137	35	Unk-Repeat			1.2084	Tiempo 25 H / 5
138	35-2	Unk-Repeat			1.2085	
139	35-3	Unk-Repeat			1.2086	
140	35-Avg	Average		0.5311	1.2085	Avg of preceding 3 Samples
141	36	Unk-Repeat			0.1773	Tiempo 25 H / 1
142	36-2	Unk-Repeat			0.1772	
143	36-3	Unk-Repeat			0.1772	
144	36-Avg	Average		0.1083	0.1772	Avg of preceding 3 Samples
145	37	Unk-Repeat			0.0390	Tiempo 25 H / 0.1

# Quantitative Measurement Report

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Papel\DNS 8 NOV 20016.pho



Software Information  
 Software Name: UVProbe  
 Version: 2.43  
 Mode: Normal Mode

Data Information  
 Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Papel\DNS 8 NOV 20016.pho

Title:  
 Analyst:  
 Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
 Comments:

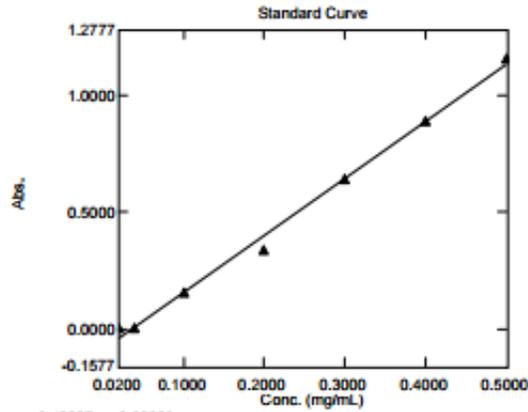
Instrument Information  
 Instrument Name: UV1800-SENA  
 Instrument Type: UV-1800 Series  
 Model (S/N): UV1800 (A11455150399)

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
146	37-2	Unk-Repeat			0.0390	
147	37-3	Unk-Repeat			0.0390	
148	37-Avg	Average		0.0516	0.0390	Avg of preceding 3 Samples
149	38	Unk-Repeat			0.5442	Tiempo 25 H / 5 (500uL)
150	38-2	Unk-Repeat			0.5443	
151	38-3	Unk-Repeat			0.5442	
152	38-Avg	Average		0.2587	0.5442	Avg of preceding 3 Samples
153	39	Unk-Repeat			0.4788	Tiempo 34 H / 10 (250uL)
154	39-2	Unk-Repeat			0.4788	
155	39-3	Unk-Repeat			0.4787	
156	39-Avg	Average		0.2319	0.4788	Avg of preceding 3 Samples
157	40	Unk-Repeat			0.6742	Tiempo 34 H / 5 (500uL)

# Quantitative Measurement Report

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Pape\DNS 8 NOV 20016.pho



Software Information  
 Software Name: UVProbe  
 Version: 2.43  
 Mode: Normal Mode

Data Information  
 Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Pape\DNS 8 NOV 20016.pho

Title:  
 Analyst:  
 Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
 Comments:

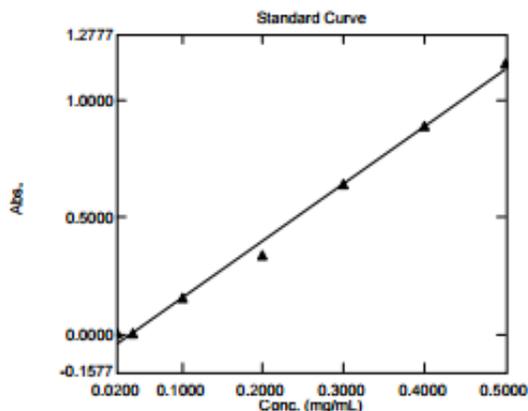
Instrument Information  
 Instrument Name: UV1800-SENA  
 Instrument Type: UV-1800 Series  
 Model (SN): UV1800 (A11455150399)

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
158	40-2	Unk-Repeat			0.6742	
159	40-3	Unk-Repeat			0.6740	
160	40-Avg	Average		0.3120	0.6741	Avg of preceding 3 Samples
161	41	Unk-Repeat			0.3012	Tiempo 34 H / 1
162	41-2	Unk-Repeat			0.3013	
163	41-3	Unk-Repeat			0.3013	
164	41-Avg	Average		0.1591	0.3013	Avg of preceding 3 Samples
165	42	Unk-Repeat			0.0432	Tiempo 34 H / 0.1
166	42-2	Unk-Repeat			0.0432	
167	42-3	Unk-Repeat			0.0433	
168	42-Avg	Average		0.0533	0.0432	Avg of preceding 3 Samples
169	43	Unk-Repeat			0.5382	Tiempo 54 H / 10 (2502uL)

# Quantitative Measurement Report

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Papel\DNS 8 NOV 20016.pho



**Software Information**  
 Software Name: UVProbe  
 Version: 2.43  
 Mode: Normal Mode

**Data Information**  
 Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Papel\DNS 8 NOV 20016.pho  
 Title:  
 Analyst:  
 Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
 Comments:

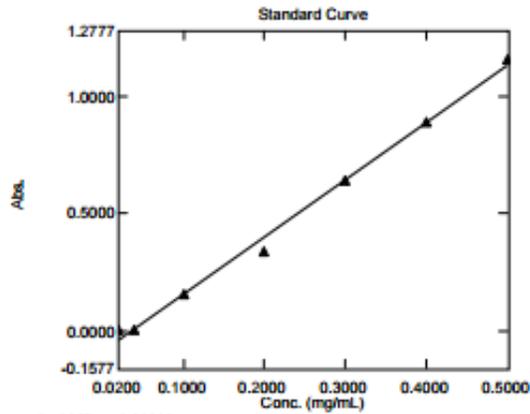
**Instrument Information**  
 Instrument Name: UV1800-SENA  
 Instrument Type: UV-1800 Series  
 Model (S/N): UV1800 (A11455150399)

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
170	43-2	Unk-Repeat			0.5381	
171	43-3	Unk-Repeat			0.5380	
172	43-Avg	Average		0.2562	0.5381	Avg of preceding 3 Samples
173	44	Unk-Repeat			0.7710	Tiempo 54 H / 5 (500uL)
174	44-2	Unk-Repeat			0.7709	
175	44-3	Unk-Repeat			0.7710	
176	44-Avg	Average		0.3517	0.7710	Avg of preceding 3 Samples
177	45	Unk-Repeat			0.2802	Tiempo 54 H / 1
178	45-2	Unk-Repeat			0.2802	
179	45-3	Unk-Repeat			0.2800	
180	45-Avg	Average		0.1505	0.2801	Avg of preceding 3 Samples
181	46	Unk-Repeat			0.0590	Tiempo 54 H / 0.1

# Quantitative Measurement Report

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Papel\DNS 8 NOV 20016.pho



Software Information  
Software Name: UVProbe  
Version: 2.43  
Mode: Normal Mode

Data Information  
Filename: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS  
Papel\DNS 8 NOV 20016.pho

Title:  
Analyst:  
Date/Time: 11/12/2016 05:30:56 PM  
Comments:

Instrument Information  
Instrument Name: UV1800-SENA  
Instrument Type: UV-1800 Series  
Model (SN): UV1800 (A11455150399)

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL540.0	Comments
182	46-2	Unk-Repeat			0.0590	
183	46-3	Unk-Repeat			0.0591	
184	46-Avg	Average		0.0598	0.0590	Avg of preceding 3 Samples
185						

# Quantitative Measurement Report

Page 1 / 1 /

Print Date: 11/23/2016 04:07:20 PM

Data set: D:\Mis documentos\Juan Pablo\DNS Paper\DNS 8 NOV 20016.pho

## [Wavelengths]

Wavelength Name: WL540.0  
Wavelength: 540.00 nm

## [Calibration Curve]

Column for Cal. Curve: WL540.0  
Cal. Curve Type: Multi Point  
Cal. Curve Unit: mg/mL  
Selected Wavelength: WL540.0  
Calibration Equation:  $Abs = K1*(Conc) + K0$   
Zero Interception: Not Selected

## [Measurement Parameters(Standard)]

Data Acquired by: Instrument  
Delay sample read: Disabled  
Repeat: Enabled  
Repetitions: 3

## [Measurement Parameters(Sample)]

Data Acquired by: Instrument  
Delay sample read: Disabled  
Repeat: Enabled  
Repetitions: 3

## [Equations]

## [Pass Fail]

## [Method Summary]

Title:  
Date/Time: 10/21/2016 05:40:27 PM  
Comments:  
Sample Preparations:

## [Instrument Properties]

Instrument Type: UV-1800 Series  
Measuring Mode: Absorbance  
Slit Width: 1.0 nm  
Light Source Change Wavelength: 340.0 nm  
S/R Exchange: Normal

## [Attachment Properties]

Attachment: None

 Fundación Universidad de América	FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA	Código:
	PROCESO: GESTIÓN DE BIBLIOTECA	Versión 0
	Autorización para Publicación en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres	Julio - 2016

## AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL LUMIERES

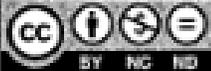
Yo JENIFER TATIANA LEYTON PÉREZ en calidad de titular de la obra PROPUESTA DE DEGRADACIÓN DEL RETAL DE PAPEL MONEDA Y BILLETES FUERA DE CIRCULACIÓN EN LA EMPRESA CONTROL AMBIENTAL DE COLOMBIA LTDA, elaborada en el año 2016, autorizo al Sistema de Bibliotecas de la Fundación Universidad América para que incluya una copia, indexe y divulgue en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres, la obra mencionada con el fin de facilitar los procesos de visibilidad e impacto de la misma, conforme a los derechos patrimoniales que me corresponde y que incluyen: la reproducción, comunicación pública, distribución al público, transformación, en conformidad con la normalidad vigente sobre derechos de autor y derechos conexos (Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, entre otras).

Al respecto como Autor manifiesto conocer que:

- La autorización es de carácter no exclusiva y limitada, esto implica que la licencia tiene una vigencia, que no es perpetua y que el autor puede publicar o difundir su obra en cualquier otro medio, así como llevar a cabo cualquier tipo de acción sobre el documento.
- La autorización tendrá una vigencia de cinco años a partir del momento de la inclusión de la obra en el repositorio, prorrogable indefinidamente por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales del autor y podrá darse por terminada una vez el autor lo manifieste por escrito a la institución, con la salvedad de que la obra es difundida globalmente y cosechada por diferentes buscadores y/o repositorios en Internet, lo que no garantiza que la obra pueda ser retirada de manera inmediata de otros sistemas de información en los que se haya indexado, diferentes al Repositorio Digital Institucional – Lumieres de la Fundación Universidad América.
- La autorización de publicación comprende el formato original de la obra y todos los demás que se requiera, para su publicación en el repositorio. Igualmente, la autorización permite a la institución el cambio de soporte de la obra con fines de preservación (impreso, electrónico, digital, Internet, intranet, o cualquier otro formato conocido o por conocer).
- La autorización es gratuita y se renuncia a recibir cualquier remuneración por los usos de la obra, de acuerdo con la licencia establecida en esta autorización.
- Al firmar esta autorización, se manifiesta que la obra es original y no existe en ella ninguna violación a los derechos de autor de terceros. En caso de que el trabajo haya sido financiado por terceros, el o los autores asumen la responsabilidad del cumplimiento de los acuerdos establecidos sobre los derechos patrimoniales de la obra.
- Frente a cualquier reclamación por terceros, el o los autores serán los responsables. En ningún caso la responsabilidad será asumida por la Fundación Universidad de América.
- Con la autorización, la Universidad puede difundir la obra en índices, buscadores y otros sistemas de información que favorezcan su visibilidad.

Conforme a las condiciones anteriormente expuestas, como autor establezco las siguientes condiciones de uso de mi obra de acuerdo con la licencia Creative Commons que se señala a continuación:

 Fundación Universidad de América	FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA	Código:
	PROCESO: GESTIÓN DE BIBLIOTECA	Versión 0
	Autorización para Publicación en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres	Julio - 2016

	Atribución- no comercial- sin derivar: permite distribuir, sin fines comerciales, sin obras derivadas, con reconocimiento del autor.	<input type="checkbox"/>
	Atribución - no comercial: permite distribuir, crear obras derivadas, sin fines comerciales con reconocimiento del autor.	<input checked="" type="checkbox"/>
	Atribución - no comercial - compartir igual: permite distribuir, modificar, crear obras derivadas, sin fines económicos, siempre y cuando las obras derivadas estén licenciadas de la misma forma.	<input type="checkbox"/>

Licencias completas: [http://co.creativecommons.org/?page\\_id=13](http://co.creativecommons.org/?page_id=13)

Siempre y cuando se haga alusión de alguna parte o nota del trabajo, se debe tener en cuenta la correspondiente citación bibliográfica para darle crédito al trabajo y a su autor.

De igual forma como autor autorizo la consulta de los medios físicos del presente trabajo de grado así:

AUTORIZO	SI	NO
La consulta física (sólo en las instalaciones de la Biblioteca) del CD-ROM y/o Impreso	X	
La reproducción por cualquier formato conocido o por conocer para efectos de preservación	X	

Información Confidencial: este Trabajo de Grado contiene información privilegiada, estratégica o secreta o se ha pedido su confidencialidad por parte del tercero, sobre quien se desarrolló la investigación. En caso afirmativo expresamente indicaré, en carta adjunta, tal situación con el fin de que se respete la restricción de acceso.	SI	NO
		X

Para constancia se firma el presente documento en Bogotá D.C., a los 18 días del mes de Mayo del año 2017.

EL AUTOR:

Autor 1

Nombres	Apellidos
JENNIFER TATIANA	LEYTON PÉREZ
Documento de identificación No	Firma
CC. 1070964359	