

EVALUACIÓN DE LA OBTENCIÓN DE CELULOSA PARTIENDO DEL BUCHÓN DE AGUA (*EICHHORNIA CRASSIPES*) MEDIANTE LA HIDROLISIS BÁSICA Y EL PROCESO ENZIMÁTICO DEL HONGO *PLEUROTUS OSTREATUS*.

**JESSICA ALEXANDRA MUÑOZ MONTAÑEZ
DIEGO ALEJANDRO ZAPATA MORENO**

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

2019

EVALUACIÓN DE LA OBTENCIÓN DE CELULOSA PARTIENDO DEL BUCHÓN DE AGUA (*EICHHORNIA CRASSIPES*) MEDIANTE LA HIDROLISIS BÁSICA Y EL PROCESO ENZIMÁTICO DEL HONGO *PLEUROTUS OSTREATUS*.

**JESSICA ALEXANDRA MUÑOZ MONTAÑEZ
DIEGO ALEJANDRO ZAPATA MORENO**

**Proyecto integral de grado para optar por el título de:
INGENIERO QUÍMICO**

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

2019

Nota de aceptación.

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Bogotá, D.C. Agustó de 2019

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente Institucional y Rector del Claustro

Dr. MARIO POSADA GARCÍA-PEÑA

Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos

Dr. LUIS JAIME POSADA GARCÍA-PEÑA

Vicerrectoría Académica y de Postgrados

Dra. ANA JOSEFA HERRERA VARGAS

Decano Facultad de Ingeniería

Dr. JULIO CESAR FUENTES ARISMENDI

Director Programa Ingeniería Química

Ing. 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.

CONTENIDO

	pág.
RESUMEN	17
INTRODUCCION	18
OBJETIVOS	20
1. GENERALIDADES	21
1.1 CARACTERÍSTICAS DEL BUCHÓN DE AGUA	23
1.1.1 Características físicas o morfológicas del Buchón de agua.	24
1.1.2 Características químicas del Buchón de agua.	26
1.2 COMPUESTOS DEL BUCHÓN DE AGUA	27
1.2.1 Celulosa.	27
1.2.2 Hemicelulosa.	28
1.2.3 Lignina.	29
1.2.4 Otras sustancias.	29
1.3 HUMEDAL EL GUALÍ	30
1.4 PROCESOS DE OBTENCIÓN DE CELULOSA	31
1.4.1 Procesos Químico.	31
1.4.2 Proceso Semiquímico.	32
1.4.3 Proceso Biodegradable.	33
1.4.4 Proceso Mecánico.	33
1.5 HIDRÓLISIS.	34
1.5.1 Hidrólisis Ácida.	34
1.5.2 Hidrólisis Básica.	35
1.5.3 Hidrólisis Enzimática.	35
1.6 HONGOS	35
1.6.1 Pleurotus Ostreatus.	37
1.7 DEGRADACIÓN DE LIGNINA A PARTIR DE MICROORGANISMOS	39
1.8 IMPORTANCIA DE LA CELULOSA EN LA INDUSTRIA	40
2. METODOLOGÍA	42
2.1 RECOLECCIÓN DEL BUCHÓN DE AGUA	43
2.1.1 Selección de materia prima.	44
2.2 CARACTERIZACIÓN DEL BUCHÓN DE AGUA	46
2.2.1 Caracterización física.	46
2.2.2 Caracterización química.	49

2.3 PREPARACIÓN DEL BUCHÓN DE AGUA	53
2.3.1 Reducción de Partícula.	53
2.3.2 Secado.	54
2.3.3 Tamizaje Granulométrico.	54
2.4 OBTENCIÓN DE CELULOSA	54
2.4.1 Hidrólisis básica.	55
2.4.2 Hidrólisis enzimática por medio el Hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> .	57
2.4.3 Cuantificación.	65
2.5 DISEÑO DE EXPERIMENTOS	66
2.5.1 Proceso enzimático del hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> .	66
2.5.2 Hidrólisis Básica.	66
3. DESARROLLO EXPERIMENTAL.	69
3.1 RECOLECCIÓN DEL BUCHÓN DE AGUA	69
3.1.1 Selección de materia prima.	70
3.2 CARACTERIZACIÓN DEL BUCHÓN DE AGUA	72
3.2.1 Caracterización física.	72
3.2.2 Caracterización química.	73
3.3 PREPARACIÓN DEL BUCHÓN DE AGUA	74
3.3.1 Reducción de Partícula.	74
3.3.2 Secado.	74
3.3.3 Tamizaje.	75
3.4 OBTENCIÓN DE CELULOSA	75
3.4.1 Hidrólisis básica.	76
3.4.2 Hidrólisis enzimática por medio el Hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> .	81
3.4.2.2 Proceso enzimático del hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> .	86
3.4.3 Cuantificación.	87
3.4.3.2 Proceso enzimático del hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> .	87
4 ANÁLISIS DE RESULTADOS	89
4.1 HIDRÓLISIS BÁSICA	89
4.2. PROCESO ENZIMÁTICO DEL HONGO <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i>	100
4.3 BALANCE DE MATERIA	102
4.4 SELECCIÓN DEL MÉTODO	104
5. CONCLUSIONES	117
6. RECOMENDACIONES	119
BIBLIOGRAFÍA	120

LISTA DE GRÀFICAS

	pág.
Gràfica 1. Crecimiento del hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> en los diferentes medios de cultivo	86
Gràfica 2. Distribuci3n F.	90
Gràfica 3. Interacci3n entre variables tiempo y concentraci3n con la variable respuesta.	92
Gràfica 4. Consecuencia De las variables e interacciones en el dise1o factorial.	93
Gràfica 5. Predecible vs Actual.	95
Gràfica 6. Independencia A y B vs. Normalidad.	96
Gràfica 7. Residual Vs. Predicho	97
Gràfica 8. Variable Respuesta Cantidad de Celulosa obtenida por Hidr3lisis Bàsica.	98
Gràfica 9. Cantidad de lignina removida.	99
Gràfica 10. Composici3n final del Buch3n de Agua implementado en el caldo No 2 respecto al inicial.	100
Gràfica 11. Composici3n final del Buch3n de Agua implementado en el caldo No 3 respecto al inicial.	101
Gràfica 12. Comparativo de la Composici3n final del Buch3n de Agua implementado en el caldo No 2 y 3	102

LISTA DE ECUACIONES

	pág.
Ecuación 1. Determinación de Humedad.	46
Ecuación 2. Solidos volátiles.	48
Ecuación 3. Determinación de cenizas.	48
Ecuación 4. Determinación porcentaje de extractivos.	50
Ecuación 5. Determinación porcentaje de celulosa.	51
Ecuación 6. Corrección determinación porcentaje de celulosa.	51
Ecuación 7. Determinación del porcentaje de lignina.	53

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del Jacinto de agua.	24
Tabla 2. Composición química del Jacinto de agua según diferentes autores.	26
Tabla 3. Composición química del Jacinto de agua según diferentes autores.	27
Tabla 4. Matriz de experimentos para obtención de celulosa.	67
Tabla 5. Medidas de muestra aleatoria del buchón de agua	71
Tabla 6. Cantidad de materia prima recolectada y seleccionada	72
Tabla 7. Caracterización del Buchón de agua.	72
Tabla 8. Determinación de Humedad.	73
Tabla 9 Determinación de Cenizas.	73
Tabla 10. Determinación de Sólidos Volátiles.	73
Tabla 11. Resultados caracterización química del buchón de agua.	74
Tabla 12. Datos del peso en gramos de celulosa obtenida.	87
Tabla 13. Datos del peso de lignina removida.	87
Tabla 14. Caracterización del buchón de agua después del hongo	88
Tabla 15. Caracterización del buchón de agua después del hongo.	88
Tabla 16. ANOVA	90
Tabla 17. Desviación estándar y media.	94
Tabla 18. Ventajas y desventajas del NaOH.	107
Tabla 19. Ventajas y desventajas del Hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> .	111
Tabla 20. Comparativo entre el Hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> y el Hidróxido de sodio.	112
Tabla 21. Recurso humano	113
Tabla 22. Datos iniciales.	113
Tabla 23. Materia prima.	114
Tabla 24. Proyección de la producción.	115

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Morfología del Buchón de Agua.	25
Figura 2. Estructura de la celulosa.	28
Figura 3. Estructura química de la hemicelulosa.	29
Figura 4. Diagrama de las etapas del desarrollo de la evaluación de obtención de celulosa.	42
Figura 5. Proceso de recolección del buchón de agua.	43
Figura 6. Buchón de agua presente en el humedal el Gualí.	44
Figura 7. Diagrama de proceso de la selección de la materia prima.	45
Figura 8. Clasificación del tamaño del buchón de agua	45
Figura 9. Determinación de Humedad y solidos Volátiles.	47
Figura 10. Determinación de cenizas.	49
Figura 11. Determinación de extractivos.	50
Figura 12. Determinación de Celulosa.	52
Figura 13. Determinación de lignina.	53
Figura 14. Acondicionamiento del buchón de agua.	54
Figura 15. Diagrama de proceso de la Hidrólisis básica.	56
Figura 16. Hidrólisis Enzimática.	57
Figura 17. Diagrama de proceso de Siembra del Hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> .	59
Figura 18. Diagrama de proceso preparación de medio de cultivo PDA.	60
Figura 19. Diagrama de proceso preparación de medio de cultivo Caldo No.1.	60
Figura 20. Diagrama de proceso preparación de medio de cultivo Caldo No.2.	61
Figura 21. Diagrama de proceso preparación de medio de cultivo Caldo No.3.	61
Figura 22. Diagrama de Proceso de Replicación del Hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> .	63
Figura 23. Diagrama de Proceso de Adición del Hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> al buchón de agua	64
Figura 24. 90g de muestra recolectada.	70
Figura 25. Proceso de obtención de celulosa montaje tipo Soxhlet 1.	76
Figura 26. Proceso de obtención de celulosa montaje tipo Soxhlet 2.	77
Figura 27. Proceso de separación de lignina mediante el Rotavaporador.	78
Figura 28. Lignina removida y Licor negro Clarificado.	80
Figura 29. Crecimiento adecuado del hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> y sus posibles problemas de contaminación en la siembra	82
Figura 30. Representación gráfica del proceso de replicación del hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> .	83
Figura 31. Contaminación por bacterias y crecimiento adecuado en el buchón de agua	85
Figura 32. Balance de masa de los procesos de selección, separación, trituración, secado y Tamizado.	103

Figura 33. Balance de masa hidrólisis básica.	104
Figura 34. Balance de masa Proceso enzimático del Hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> .	104

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Analisis bromatologico proporcionado por el laboratorio AGRILAB.	127
Anexo B. Modelo estadistico del diseño de experimentos proporcionado por el programa DESIGN EXPERT.	128

GLOSARIO

BIODEGRADACION: es el deterioro de los materiales por la disolución química efectuada por los microorganismos

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA: determinación de las características químicas, físicas y estructurales de un material.

CEPA: es una porción o parte extraída de un microorganismo mayor, es considerada la muestra de un estudio microbiológico.

CONCENTRACIÓN QUÍMICA: es la relación entre el soluto y el solvente de una solución química

CURVA DE CRECIMIENTO: mecanismo gráfico matemático que representa el crecimiento de un microorganismo en función del tiempo

DESLIGNIFICACIÓN: eliminación parcial o completa de la lignina en los materiales fibrosos como la madera

DIGESTIÓN: es la descomposición de un material

DISOLUCIÓN: es la mezcla homogénea de dos o más sustancias que no reaccionan entre si

ENZIMA: son proteínas que funcionan como catalizadores biológicos específicos y selectivos en las diferentes reacciones químicas de los seres vivos.

HONGO: son organismo eucariontes microscópicos encargados de la degradación natural de la materia orgánica en la naturaleza.

INCUBACIÓN: es el medio propicio que contienen las condiciones necesarias y óptimas de temperatura y humedad para el desarrollo de un cultivo microbiológico

MEDIO DE CULTIVO: es el material compuesto de sustancias alimenticias específicas, con el propósito de que un microorganismo tenga los nutrientes necesarios para su desarrollo.

METABOLITO PRIMARIO: son aquellos compuestos que son fundamentales y básicos en la formación y desarrollo de un microorganismo.

PDA: sustancia conocida como Agar-Papa-Dextrosa es usado para generar un medio de cultivo para el desarrollo de un microorganismo.

REPLICACIÓN: sinónimo de repetir o reproducir, empleado con el fin de referirse a la reproducción del hongo, sembrando desde una caja de petri a otra.

TITULACIÓN: procedimiento cuantitativo analítico para determinar factores de concentración en una mezcla desconocida.

RESUMEN

La celulosa es un polímero natural formado por unidades de glucosa. En el proceso de la fabricación de papel es la materia prima fundamental en la formación de pasta celulósica; la efectividad y pureza de la obtención de este componente recae principalmente en que cantidad se puede remover o eliminar la lignina, debido a que esta es la encargada de darle la rigidez a la fibra vegetal y también le proporciona el color oscuro a la pasta lo que industrialmente dificulta el proceso de blanqueo. Con el fin de cuidar el medio ambiente se ha dado la necesidad evaluar alternativas en la extracción de celulosa en distintas materias primas, desarrollando diferentes procesos en cuanto el uso de reactivos con el objetivo de disminuir el impacto ambiental y lograr el aprovechamiento de cualquier tipo de residuo o material que pueda ser reutilizado o implementado en la industria.

De acuerdo a esto el propósito de este trabajo investigativo radica en retirar el buchón de agua del humedal el Gualí para así mismo promover la conservación de este y así poder evaluar la posibilidad de obtener celulosa a partir del buchón de agua. Como primera medida se realizó un pretratamiento a la materia prima que constaba en realizar la trituración y secado, Como segunda fase se realizó un desarrollo experimental preliminar para la determinación de parámetros como el montaje, la concentración y la proporción de cada uno de los procesos para establecer condiciones tanto en el proceso químico como en el biológico respectivamente.

Para la tercera fase se evalúan dos rutas de obtención de celulosa , la primera es un proceso por hidrolisis básica a partir del hidróxido de sodio(NaOH) donde se varió la concentración y el tiempo de reacción del reactivo con la fibra vegetal a 5%,10% y 15% durante un periodo de tiempo de 1h,1h 1/2 y finalmente 2 horas con la finalidad de obtener la pasta celulósica, usando una base fuerte y evaluando la menor concentración posible de reactivo en el tiempo, el segundo procedimiento se realizó por un proceso de hidrolisis enzimático donde se empleó el hongo *Pleurotus Ostreatus* considerado un microorganismo lignocelulósico donde se mide la capacidad de degradación de lignina y sus condiciones de crecimiento en la materia prima para la obtención de celulosa .

Por último, se realiza un análisis matemático y estadístico de los resultados obtenidos en ambos procesos con el propósito de establecer la cantidad de celulosa obtenida y el porcentaje de lignina removida en cada uno de ellos, y así poder brindar una estimación de si los procesos se consideran efectivos para este tipo de extracción.

Palabras Claves: celulosa, fibra, pasta, reactivo, hongo, ambiental, rendimiento, humedal, concentración.

INTRODUCCION

Debido a la prioridad mundial en la preservación del medio ambiente y al buen uso de los recursos naturales, la importancia de la búsqueda de nuevos procesos y materias primas que satisfagan la demanda de producción de los diferentes productos a nivel industrial que cumpla con la disminución del impacto ambiental se han convertido en un reto, por lo cual el ser humano ha tenido la necesidad de indagar nuevas rutas de investigación.

La parte central en el cual se desarrolló este proyecto es la conservación del humedal el Gualí, el cual comprende un área de 1196 hectáreas con una capa de agua de 268 hectáreas, según estos datos de la alcaldía municipal de Funza confirma las abundantes cualidades naturales, como lo es la capacidad que tiene este como refugio de especies en peligro de extinción, además se evidencia los canales de riego para la agricultura del sector y su papel fundamental como amortiguador de crecientes y almacenamiento de agua. En la actualidad el Humedal Gualí cuenta con una maleza acuática conocida como buchón de agua que es considerada una plaga que afecta directamente las fuentes hídricas, interfiriendo con la oxigenación necesaria en el cuerpo de agua ocasionando la muerte de la biodiversidad presente en el medio. Hoy en día el aprovechamiento del buchón es escaso, existen algunos métodos que permiten controlar la proliferación de esta plaga de los cuales son poco rentables y eficientes.

Por esta razón, la empresa KANANCE INGENIERIA S.A.S ubicada en el municipio de Mosquera, siendo una empresa dedicada a brindar soluciones a problemas puntuales en diferentes sectores como la industria, la salud, la educación y el comercio entre otros, mediante la prestación de servicios de ingeniería y el desarrollo de productos tecnológicos, busca dar una solución puntual que les permita aportar al municipio y a los intereses que se tienen de mantener el humedal como reserva ambiental, a partir de la recolección de esta plaga para llevar a cabo un proceso de investigación con el cual se pretende implementarla como materia prima para la producción de celulosa debido a que el proceso convencional de extracción de este componente se ha convertido en un problema crítico mundial por la masiva deforestación de árboles para la extracción de celulosa lo que ha ocasionado efecto invernadero, erosión de suelos, disminución de hábitats ecológicos en la preservación de fauna y flora entre otros. Es tanto el daño que a nivel de la superficie terrestre lo que equivale a territorios como China y la India se ha deforestado y que selvas como el Amazonas que es uno de los ecosistemas que más preserva biodiversidad en el planeta se está dejando perder.

Basados en la situación actual mencionada anteriormente, el desarrollo de la investigación va enfocada directamente a generar la oportunidad y viabilidad de convertir el buchón de agua como sustituto ecológico en los procesos convencionales de extracción de celulosa para el aprovechamiento de esta materia

prima natural, a partir del análisis de dos vías metodológicas, para la comparación entre un método convencional químico y la implementación de un método biológico con el uso de un microorganismo lignocelulósico capaz de degradar una gran parte del contenido de lignina presente en el buchón; generando una posibilidad de desarrollar una idea de proyección industrial que sea viable buscando la reducción del el impacto ambiental en la obtención de celulosa respecto a los procesos convencionales.

Los procesos convencionales químicos y mecánicos actualmente ofrecen a la industria eficiencia y rendimientos altos en los procesos de obtención de celulosa, pero sin tener en cuenta el daño ambiental que conlleva obtener esta materia prima en la industria del papel.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la obtención de celulosa partiendo del buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) mediante la hidrólisis básica y el proceso enzimático del hongo *Pleurotus Ostreatus*.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar las características, la composición química y el potencial del buchón de agua como materia prima para la obtención de celulosa.

- ✓ Obtener celulosa del buchón de agua utilizando la hidrólisis básica por medio de un desarrollo experimental.
- ✓ Obtener celulosa del buchón de agua por medio del proceso enzimático del hongo *Pleurotus Ostreatus* de acuerdo con un desarrollo experimental.
- ✓ Establecer ventajas y desventajas de los procesos de obtención de celulosa por los métodos básico y enzimático

1.GENERALIDADES

En este capítulo se describen conceptos fundamentales que se desarrollan en el transcurso de los diferentes procesos de caracterización y evaluación del buchón de agua, teniendo en cuenta la parte física, química y morfológica de la materia prima; con el objetivo de determinar la cantidad presente de las diferentes sustancias que lo componen y así verificar la cantidad de los componentes de interés de este material fibroso desarrollado en esta investigación.

Se realiza una revisión bibliográfica con la finalidad de evidenciar las características del buchón de agua, los problemas que ocasiona ambientalmente y la oportunidad que se expone en este documento de tomarlo como materia prima potencial en la obtención de celulosa; evaluando la cantidad de este componente presente en la planta. Según estudios de composición química expuestos en la tabla N 2 por diversos autores, confirman el alto contenido del componente de interés, lo que permite realizar una comparación de datos bibliográficos con el análisis de resultados del desarrollo experimental desplegado en capítulos posteriores. De esta manera el contenido de celulosa y las diversas soluciones que conlleva remover esta planta de los ecosistemas, se convierten en parámetros y soportes determinantes para la posibilidad de considerar esta materia prima potencial en la obtención de celulosa.

Es de importancia determinar conceptos relacionados a la composición química del buchón de agua para conocer e identificar la estructura y las particularidades de cada una de ellas, con el propósito de tener en cuenta el posible comportamiento químico que pueden tener con los distintas metodologías y reactivos utilizados en el desarrollo experimental de este proyecto debido a que son moléculas muy complejas y variables.

La composición química de esta planta va directamente relacionada con la fuente de extracción de la materia prima, según ¹ JUAREZ LUNA la composición química del buchón de agua varía respecto a la edad y al entorno en el que se desarrolló, es necesario enunciar las características generales del humedal el Gualí logrando así abarcar el lugar de donde se extrae el buchón de agua y definiendo la composición química de la materia prima por medio de una caracterización inicial. Dado este estudio, es fundamental para realizar el análisis de los rendimientos de extracción de celulosa de cada uno de los procesos evaluados en el proyecto.

¹ JUÁREZ LUNA, Gregorio Nicolás. Cambios en la composición del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) debidos a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica. Trabajo de grado profesional en Ingeniería Bioquímica. México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Departamento de Ingeniería. 2011.2p. [Citado el 30 de Julio 2018]. Disponible en Internet: <http://tesis_juarez_luna_gregorio.pdf>

Se tienen en cuenta los diferentes procesos industriales y convencionales para la obtención de celulosa con el propósito de poder analizar sus metodologías y reactivos empleados en cada uno de estos métodos; para argumentar la viabilidad de obtener el mismo producto de interés por medio de procedimientos que poseen un menor impacto ambiental y que genere una rentabilidad.

De igual forma se consideran conceptos microbiológicos para definir y argumentar el uso de los hongos *Pleurotus Ostreatus*, basados en su morfología y en la capacidad de degradación de lignina para la obtención de celulosa, debido a que la eficiencia del proceso en la extracción de este componente radica en la cantidad de lignina removida de la materia prima.

El buchón de agua ²Es una materia prima de fácil degradación, de acuerdo a la tabla 2 y 3 de los estudios de caracterización química mostrado por diferentes autores se puede inferir que esta planta cuenta con la composición ideal para la producción de celulosa ya que posee altos y considerables contenidos del componente de interés y bajos contenidos de lignina lo que facilita su despolimerización y separación a partir de procesos fisicoquímicos menos contaminantes, es una materia prima que al ser de fácil adaptabilidad significa que no requiere un medio controlado o muy específico para generarla, lo que en cuestión de costos la hace factible. Otro punto a resaltar es que, a nivel agrícola, comercialmente no es competitiva alimenticia.

Esto hace que sea una materia prima con visión industrial para el desarrollo de cualquier tipo de proyecto que se beneficie con los diferentes componentes inorgánicos e orgánicos relacionados a la composición del buchón de agua.

Hoy en día el aprovechamiento del buchón es escaso, existen algunos métodos que permiten controlar la proliferación de esta plaga, dentro de los cuales se encuentran, uno poco rentable como lo es la recolección por medio de retroexcavadoras, junto con una prensa hidráulica que lo compacta con el fin de desecharlo posteriormente y otro que posibilita su recolección e implementación como materia prima para la fabricación de abono orgánico en la actividad agrícola. Por otro lado, se han realizado estudios por parte de diferentes entidades como la PETAR Bogotá con el propósito de tratar distintos cuerpos de agua debido a que el buchón presenta cualidades de absorción de metales pesados.

Actualmente la materia prima de muchos productos cada vez es más escasa y más costosa lo que genera que el ser humano busque opciones que cumplan la misma necesidad, En todo tipo de proceso la materia prima es el pilar de la producción, por esta razón es relevante la necesidad de buscar materias primas baratas. Los

² OSPINO VILLALBA, Karen y RIOS, Luis Alberto. Producción de bioetanol a partir de Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) respecto a otros materiales lignocelulósicos [en línea]. 1 ed., enero-julio del 2012. Revision.p 42-53. [Consultado: 28 de octubre del 2018]. Disponible en Internet: < file:///C:/Users/Diego/Downloads/302-316-1-PB.pdf >

procesos de producción de pasta celulósica convencionales son prometedores en términos de rendimientos y cantidad de producto obtenido; poseen falencias importantes pero la más relevante es el sector ambiental.

Hoy en día hace viable o no un proceso el tipo de método o metodología usada que garantice la productividad y el bienestar ambiental empleando el mínimo de recursos posible para lograr un proceso productivo eficiente y rentable. Colombia posee una alta disponibilidad y variedad de material lignocelulósico debido a su amplia biodiversidad y variedad climática; Posee muchas ventajas frente a otros materiales lignocelulósicos como lo es su crecimiento exponencial, la alta composición de celulosa, la baja composición de lignina y es una planta resistente al ambiente.

³En diferentes estudios se ha determinado que el buchón de agua contiene alfa celulosa, caracterizada como la mejor celulosa que se emplea para la fabricación de papel, en países desarrollados esta particularidad que posee la planta la usan para producir artesanías, papel, cajas, empaques, libretas entre otros; a nivel industrial. La idea de la implementación del buchón de agua para darle un valor agregado y una utilidad ha crecido alrededor del mundo, en Colombia realmente poseen una gran cantidad de esta planta dado que se da las condiciones para su proliferación, dando la oportunidad que en el transcurso del tiempo se generen varias iniciativas de utilizar esta planta como fuente primordial de pasta de celulosa para la producción de artículos papeleros debido a su terminación natural y su contribución con el medio ambiente al ser una materia prima renovable y sin costo. Esto se puede encontrar como una oportunidad de generación de empleo y de formación de empresa para promover la exportación de papel en el país.

La situación actual del buchón de agua es bastante prometedora en la implementación como materia prima alternativa ya que está enfocada en la evaluación de metodologías que buscan la disminución del impacto ambiental en la obtención de celulosa.

1.1 CARACTERÍSTICAS DEL BUCHÓN DE AGUA

El buchón o Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) es una planta flotante originaria de Sudamérica, más específicamente del Amazonas. Esta planta es considerada como una especie invasora ya que recubre superficies de agua dulce, “puede reproducirse por vía sexual produciendo hasta 12000 semillas por individuo y por

³ AVENDAÑO, Mary Luz. Cuadernos que salen del agua.[en línea].En: EL ESPECTADOR.13 de julio del 2009.parr 5-7.[Consultado: 28 de octubre del 2018].Disponible en Internet:<<https://www.elespectador.com/impreso/vivir/articuloimpreso150561-cuadernos-salen-del-agua>>

vía asexual, mediante la propagación de clones o estolones horizontales”⁴, “se estima que dos plantas adultas pueden originar cerca de 30 nuevos individuos en un promedio de 23 días, cuando las condiciones ambientales son óptimas para su crecimiento”⁵; “crece preferentemente en cuerpos de agua nutricionalmente enriquecidos, pero también es capaz de hacerlo sobre suelos húmedos”⁶; pertenece a la familia de las Pontederiaceae”⁷. En la Tabla 1. Se resume su clasificación taxonómica.

Una de sus características principales y que la hace tan importante a la hora de contribuir al medio ambiente, es la capacidad que tiene para absorber, acumular y degradar metales pesados. Proceso que se conoce como fitorremediación.

Tabla 1. Clasificación taxonómica del Jacinto de agua.

Reino	Plantae.
División	Magnoliophyta.
Clase	Liliopsida.
Orden	Commelinales.
Familia	Pontederiaceae.
Género	Eichhornia.
Especie	E. crassipes.

Fuente. JUÁREZ LUNA, Gregorio Nicolás. Cambios en la composición del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) debidos a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica. Trabajo de grado profesional en Ingeniería Bioquímica. México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Departamento de Ingeniería. 2011.2p. [Citado el 30 de Julio 2018]. Disponible en Internet: <http://tesis_juarez_luna_gregorio.pdf>

1.1.1 Características físicas o morfológicas del Buchón de agua. El Jacinto de agua es una especie de raíces sumergidas, posee hojas de color verde brillante, carece de tallo aparente, equipada de un rizoma, muy particular, emergente, del que

⁴ VALDERRAMA 2008, OPANDE et al. 2004. Citado por YUSTI MUÑOZ, Ana Paola. Uso del Buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) por la comunidad aviar de dos humedales del valle geográfico del río cauca, Colombia. Trabajo de grado profesional en Biología. Colombia, Cali.: Universidad del Valle facultad de ciencias naturales y exactas.2012.3p. [Citado el 30 de Julio 2018]. Disponible en Internet: <<http://bibliotecadigital.univalle.edu.co/bitstream/10893/8442/1/CB-0461355.pdf>>

⁵ Ibid., P.3.

⁶ JUÁREZ LUNA, Gregorio Nicolás. Cambios en la composición del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) debidos a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica. Trabajo de grado profesional en Ingeniería Bioquímica. México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Departamento de Ingeniería. 2011.2p. [Citado el 30 de Julio 2018]. Disponible en Internet: <http://tesis_juarez_luna_gregorio.pdf>

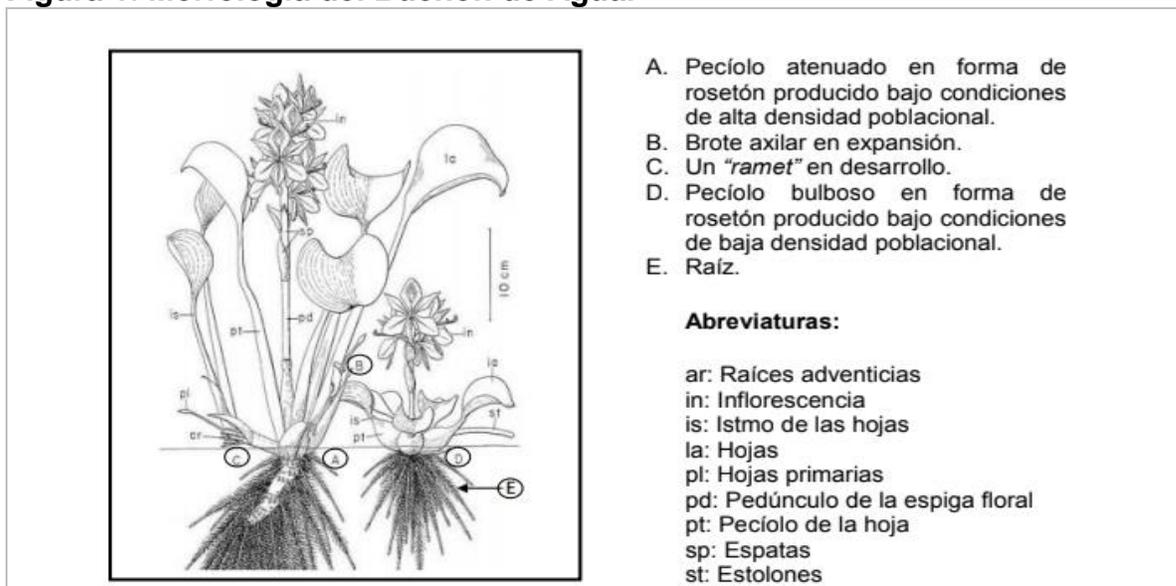
⁷ Ibid., p.1.

se abre un rosetón de hojas que tienen una superficie esponjosa notablemente inflada en forma de globo que forma una vejiga llena de aire, mediante la que el vegetal puede mantenerse sobre la superficie acuática. Posee además hojas sumergidas lineares, y las emergidas, entre obovadas y redondeadas, provistas de pequeñas hinchazones que facilitan la flotación.

En verano produce espigas de flores lilas y azuladas que recuerda vagamente a la del Jacinto. Las raíces son muy características, negras con las extremidades blancas cuando son jóvenes y negro violáceas cuando son adultas⁸.

Las plantas nuevas suelen prosperar en los bordes y están enraizadas, pero conforme crecen se van juntando debido al empuje del viento hasta que forman matas o balsas que “pueden alcanzar hasta 45 ha de tamaño”⁹. En la figura 1. Se evidencia la morfología del Jacinto de agua.

Figura 1. Morfología del Buchón de Agua.



Fuente. JUÁREZ PULIDO, Gregorio Nicolás. Cambios en la composición de Lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) debido a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica. Tesis Ingeniería Bioquímica. México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Departamento de Ingeniería, 2011. 4 p.

⁸ Jacinto de agua, Camalote, Camalotes, Lampazo, Violeta de agua, Buchón, Taruya [en línea]. [Citado el 30 de Julio del 2018]. Disponible en Internet:< <http://fichas.infojardin.com/acuaticas/eichhornia-crassipes-jacinto-de-agua-camalote-camalotes.htm>>

⁹ Ibid.

1.1.2 Características químicas del Buchón de agua. Teniendo en cuenta diversas fuentes bibliográficas se han podido establecer las características químicas principales del buchón de agua dentro de las cuales se encuentran como componentes primordiales para nuestra investigación la Celulosa, Hemicelulosa y Lignina entre otros. En la Tabla 2 y 3 se evidencian los compuestos químicos característicos de esta planta.

De acuerdo con las investigaciones se puede apreciar que el componente mayoritario presente en el buchón de agua es la Hemicelulosa, componente que hace parte de la pared celular de las plantas; seguido de la celulosa que “es la biomolécula orgánica que forma la mayor parte de la biomasa terrestre”¹⁰.

Tabla 2. Composición química del Jacinto de agua según diferentes autores.

Referencia	Muestra	C (%)	H (%)	L (%)	C+H+L (%)	A (%)	E (%)
<i>Wolverton y McDonald, 1981</i>	P. C.	21.5	33.9	6.0	61.4	11.1	27.5
<i>Patel y col., 1993</i>	P. C.	17.8	43.4	7.8	69.0	20.2	10.8
<i>Mishima y col., 2006</i>	P. C.	21.1	25.9	12	59.0	16.3	24.7
<i>Nigam, 2002</i>	P. C.	18.2	48.7	3.5	70.4	-	-
<i>Bolenz y col., 1990</i>	T. y H.	31	22	7	60.0	15	25.0
<i>Goswani y Saikia, 1994</i>	T. y H.	32	21	6.7	59.7	18.4	15.7
<i>Abraham y Kurup, 1997</i>	T. y H.	35	18.3	4.6	58.0	15.1	27.0
<i>Kivaisi y Mtila, 1998</i>	T. y H.	25.2	23.1	9.7	58.0	-	-
<i>Tan y col., 2008</i>	T. y H.	27.4	27.4	11.5	66.3	12.7	21
<i>Lindsey y Hirt, 2000</i>	T. y H.	32.0	21	14	67	19.9	4.72
<i>Bhattacharya y col., 2010</i>	T. y H.	25	35	10	70	20	-
<i>Chanakya y col., 1993</i>	H	18	34.0	26.3	78.3	-	21.7
<i>Mishima y col., 2006</i>	H	18.1	25.0	13.3	56.4	16.5	27.1
<i>Girisuta, 2008</i>	H	46.7	-	27.7	74.4	18.2	7.4
<i>Mishima y col., 2008</i>	H	19.7	27.1	-	-	-	-

C = Celulosa; H = Hemicelulosa; L = Lignina; A = Cenizas y E = Extractivos.
C + H + L = Sumatoria del contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina.
P. C. = Planta Completa; T y H = Tallo y hoja; H = Hoja.

Fuente. JUÁREZ PULIDO, Gregorio Nicolás. Cambios en la composición de Lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) debido a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica. Tesis Ingeniería Bioquímica. México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Departamento de Ingeniería, 2011. 18p.

En la tabla anterior se identifican los compuestos de acuerdo con las siguientes convenciones.

C= Celulosa; H= Hemicelulosa; L=Lignina; A=Cenizas y E= Extractivos.

¹⁰ Celulosa. EcuRed. [en línea]. [Citado el 30 de Julio del 2018]. Disponible en Internet:<
<https://www.ecured.cu/Celulosa>>

Tabla 3. Composición química del Jacinto de agua según diferentes autores.

Autores	Componentes en porcentaje base seca (%)			
	Lignina	Celulosa	Hemicelulosa	Cenizas
Anjanabha Bhattacharya y PawanKumar, 2010	10	25	35	20
Abdelhamid y Gabr (1991)	9,27	19,5	33,4	25,7
Bolenz <i>et al.</i> (1990)	7	31	22	15
Patel <i>et al.</i> (1993)	7,8	17,8	43,4	20,2
Sornvoraweat y Kongkiattikajorn (2010)	4,37	19,02	32,69	-
J. N. (2002)	3.50	18.20	48.7	-
Girisuta <i>et al.</i> (2008)	27.7		46.7	-
Poddar <i>et al.</i> (1991)	9.93	25.61	18.42	-
Chanakya <i>et al.</i> (1996)	26.36	33.97	18	-
Mukherjee <i>et al.</i> (2004)	15.2	36.5	22.0	-
Ahn <i>et al.</i> (2011)	12.22	34.19	17.66	-
Ma <i>et al.</i> (2010)	2.8	18.2	29.3	1.2

Fuente. OSPINO VILLABA, Karen; RIOS, Luis Alberto. Producción de Bioetanol a partir de Jacinto de agua (*Eichhornia Crassipes*) respecto a otros materiales lignocelulósicos. En: Revista AGUNKUYA.vol.2. N.1(jun.,2012).49p.

1.2 COMPUESTOS DEL BUCHÓN DE AGUA

Ospino, Ríos¹¹ exponen que la mayoría de los autores que han estudiado la composición del Jacinto de agua, coinciden en que la mayoría de las veces se ha obtenido un contenido más alto de Hemicelulosa, bajos contenidos de lignina y cantidades significativas de celulosa.

De acuerdo con esto se puede decir que el Buchón o Jacinto de agua está compuesto principalmente por azúcares y polisacáridos; “biomoléculas formadas por la unión de una gran cantidad de monosacáridos, este es el tipo de carbohidrato más complejo y más grande entre todos”¹².

1.2.1 Celulosa. La Celulosa es el principal componente de las paredes celulares de los árboles y otras plantas. Está constituida por una larga cadena de carbohidratos polisacáridos. La estructura de la celulosa se forma por la unión de moléculas de β -glucosa a través de enlaces β -1,4-glucosídico, lo que hace que sea insoluble en

¹¹ OSPINO VILLABA, Karen; RIOS, Luis Alberto. Producción de Bioetanol a partir de Jacinto de agua (*Eichhornia Crassipes*) respecto a otros materiales lignocelulósicos. En: Revista AGUNKUYA.vol.2. N.1(jun.,2012); p.50. [en línea]. [Citado el 31 de Julio del 2018]. Disponible en Internet:<<http://revia.areandina.edu.co/ojs/index.php/Cc/article/view/302/331>>

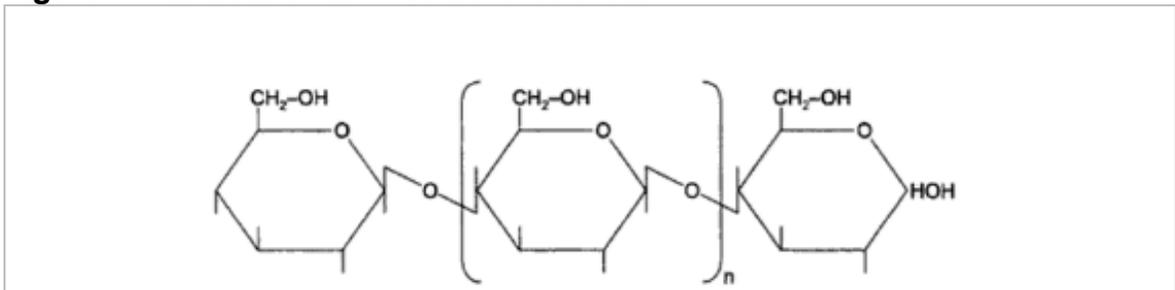
¹² Carbohidratos en plantas, funciones, en donde se encuentra y su obtención [en línea]. Abril 5 del 2011. [Citado el 31 de Julio del 2018]. Disponible en Internet:<<http://carbohidratosytemasrelacionados.blogspot.com/2011/04/carbohidratos-en-plantas-funciones.html>>

agua. La celulosa tiene una estructura lineal o fibrosa, en la que se establecen múltiples puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de distintas cadenas yuxtapuestas de glucosa, haciéndolas muy resistentes e insolubles al agua. De esta manera, se originan fibras compactas que constituyen la pared celular de las células vegetales, dándoles así la necesaria rigidez¹³.

“La pared de una célula vegetal joven contiene aproximadamente un 40 % de celulosa; la madera un 50 %, mientras que el ejemplo más puro de celulosa es el algodón, con un porcentaje mayor al 90 %”¹⁴.

En la Figura 2. Se puede apreciar la estructura de la celulosa con los respectivos puentes de hidrogeno que se forman entre cadenas lo cual le proporciona su configuración fibrilar.

Figura 2. Estructura Química de la celulosa.



Fuente. Figura 6.27. Disponible en: Estructura, Función y Metabolismo de carbohidratos. En: PACHECO LEAL, Daniel. Bioquímica médica. México: Limusa, 2004.254p

1.2.2 Hemicelulosa. “Es una mezcla compleja de polisacáridos, cuya composición y frecuencia varía entre los tejidos, las especies vegetales y la etapa de desarrollo de la planta. Son un componente importante de la pared celular primaria y pueden constituir una cierta proporción de la lamela media y de la pared secundaria. Son precursores de bajo peso molecular de la celulosa por lo cual es más soluble”¹⁵.

¹³ UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MEXICO. Facultad de química [en línea]. [Citado el 31 de Julio del 2018]. Disponible en Internet:<http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Seminario-Celulosa_27101.pdf>

¹⁴ Química y Tecnología de Macromoléculas [en línea]. Abril 10 del 2012. [Citado el 31 de Julio del 2018].

Disponible en Internet: <<http://www.eis.uva.es/~macromol/curso08-09/pls/celulosa.htm>>

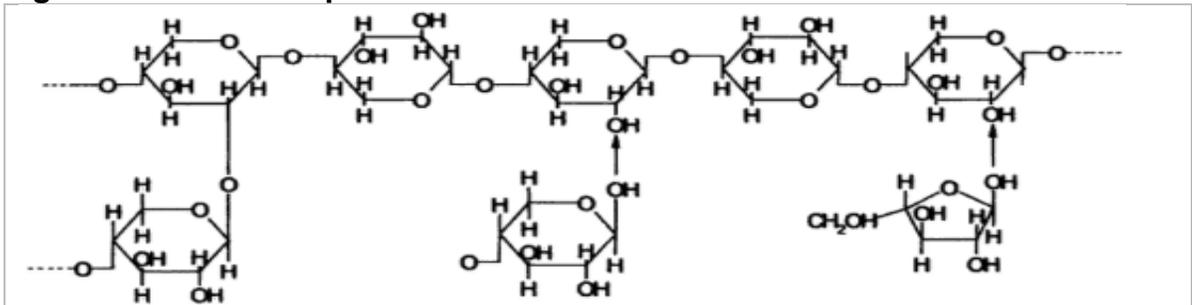
¹⁵COULTATE, 1984.Citado por LAVERDE ACURIO, Jorge Luis. Estudio de las condiciones óptimas para la obtención de jugo clarificado de arazá, mediante procesos enzimático y membranario. Trabajo de grado profesional en Ingeniería Agroindustrial. Ecuador, Quito.: Escuela politécnica nacional facultad de Ingenieria.2010.20p. [Citado el 31 de Julio 2018]. Disponible en Internet:<<https://books.google.com.co/books?id=uYAZAQAAMAJ>>

“Las hemicelulosas se unen a los extremos de los polisacáridos pépticos y en varios puntos de las fibrillas de celulosa”¹⁶ como se observa en la figura 3.

En las maderas este compuesto se encuentra presente en la matriz figurando en un 27%, mientras que en la corteza solo figura un 15%.

La hemicelulosa se describe como una molécula con ramificaciones, siendo idónea para unirse a otras moléculas por medio de enlaces que constituyen la pared rígida que protege a la célula¹⁷.

Figura 3. Estructura química de la hemicelulosa.



Fuente. Figura 6. Disponible en: COULTATE, 1984. Citado por LAVERDE ACURIO, Jorge Luis. Estudio de las condiciones óptimas para la obtención de jugo clarificado de arazá, mediante procesos enzimático y membranario. Trabajo de grado profesional en Ingeniería Agroindustrial. Ecuador, Quito.: Escuela politécnica nacional facultad de Ingeniería.2010.20p.

1.2.3 Lignina. “La lignina es un polímero de origen aromático con alto peso molecular que tiene como base estructural unidades de fenil-propano y posiblemente está ligada a los polisacáridos (poliosas) de la madera. En su composición química elemental aparecen únicamente los átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno. La composición básica elemental en términos de porcentajes varía particularmente si la lignina es obtenida de árboles coníferos o latifoliadas y de cómo ha sido el método de separación de esta. Dentro de sus funciones en las plantas se encuentra proporcionar rigidez, reducir la permeabilidad de la pared celular al agua, entre otras”.

1.2.4 Otras sustancias. En el buchón de agua además de los compuestos mencionados anteriormente se encuentran presentes otras sustancias, como lo son

¹⁶ OLLE,1997. Citado por LAVERDE ACURIO, Jorge Luis. Estudio de las condiciones óptimas para la obtención de jugo clarificado de arazá, mediante procesos enzimático y membranario. Trabajo de grado profesional en Ingeniería Agroindustrial. Ecuador, Quito.: Escuela politécnica nacional facultad de Ingeniería.2010.20p. [Citado el 31 de Julio 2018]. Disponible en Internet:< <https://books.google.com.co/books?id=uYAZAQAAMAAJ>>

¹⁷ Hemicelulosa. [en línea]. [Citado el 31 de Julio del 2018]. Disponible en Internet:< <https://es.wikipedia.org/wiki/Hemicelulosa>>

algunos compuestos inorgánicos, dentro de los cuales se encuentran los metales pesados, procedentes de la capacidad que tiene la planta para absorberlos según el cuerpo de agua que habite. También contiene sustancias como la clorofila, ceras y xantofilas¹⁸.

1.3 HUMEDAL EL GUALÍ

El humedal es una interacción entre un medio acuático y uno terrestre este posee grandes extensiones de tierra que contienen variedad de especies de fauna y flora endémicas, este es considerado un hábitat que proporciona el ambiente propicio para la reproducción y conservación de especies. El humedal el Gualí esta " Ubicado en la parte central de la cordillera Oriental Colombiana, justo en el occidente de la sabana de Bogotá, sobre los municipios de Funza, Tenjo y Mosquera, con un área aproximada de 1.196 hectáreas se extiende una de las maravillas ambientales de mayor riqueza del departamento de Cundinamarca"¹⁹ El humedal "Gualí-Tres Esquinas es el hogar de 18 familias de aves, con un total de 33 especies, 17 acuáticas, seis migratorias y tres endémicas (propias) que se encuentran amenazadas de extinción. Y, según señala la CAR, en comparación con el total de especies de la fauna registradas para los humedales de la Sabana, la pérdida de especies en la zona es bastante notoria y preocupante."²⁰

Respecto a la riqueza de este ambiente natural se centraliza en la fauna y la flora que contiene, siendo de vital importancia debido a que dentro de sus ejemplares se encuentran animales y plantas nativas y características de la región. Coratierras²¹expone que este lugar es considerado como refugio ambiental de diferentes especies, como lo son el Curí, la Rana Sabanera, El Lagarto Collajero, El Cucarachero de Pantano, La Tingua Bogotana, La Tingua de pico verde entre otras especies presentes en el ecosistema, este humedal tiene una gran importancia en la preservación del equilibrio, amortiguación y protección ecológico en el municipio

¹⁸ JUÁREZ LUNA, Gregorio Nicolás. Cambios en la composición del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) debidos a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica. Trabajo de grado profesional en Ingeniería Bioquímica. México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Departamento de Ingeniería. 2011.2p. [Citado el 30 de Julio 2018]. Disponible en Internet: <http://tesis_juarez_luna_gregorio.pdf>

¹⁹ CORATIERRA. Humedal Gualí, riqueza ambiental colombiana En: con el corazón en la tierra. Abril 20-2017.Disponibles en Internet:< <http://coratierras.org/2017/04/20/best-spots-to-see-wildlife-in-the-u-s/>>

²⁰ OLIVEROS, Verónica. Humedal Gualí-tres esquinas será protegido. En: El Espectador, Bogotá D. C. 31, enero, 2014. Disponibles en Internet:< <https://www.elespectador.com/noticias/bogota/humedal-guali-tres-esquinas-sera-protegido-articulo-471982>>

²¹ CORATIERRA. Humedal Gualí, riqueza ambiental colombiana En: con el corazón en la tierra. Abril 20-2017.Disponibles en Internet:< <http://coratierras.org/2017/04/20/best-spots-to-see-wildlife-in-the-u-s/>>

de Mosquera y sus alrededores dado que para para estos municipios este entorno ecológico es fundamental desde el punto de vista hidrológico ya que funciona como amortiguador de crecientes y almacenamiento de agua evitando así las inundaciones.

Respecto a la flora Vasco y Sánchez comentan que²² el humedal contaba con gran diversidad de especies y terreno rodeado por un gran follaje, pero al transcurrir el tiempo el hombre la ha eliminado para la siembra de cultivos y pastales con el fin de emplearlos en la ganadería como lo son las praderas de “pasto kikuyo”, frutas y algunas hortalizas. También este humedal promueve la educación ambiental y la recreación.

1.4 PROCESOS DE OBTENCIÓN DE CELULOSA

Por medio de la revisión bibliográfica se han podido identificar los diferentes procesos que se utilizan actualmente para la obtención de celulosa, dentro de los cuales se encuentran químicos, mecánicos, Semiquímico, y biodegradables.

1.4.1 Procesos Químico. ²³En este proceso la celulosa es retirada por componentes presentes en disoluciones básicas y ácidas manteniendo condiciones de operación respecto a temperaturas y presión, buscando obtener una mayor eficiencia y calidad de la celulosa obtenida intentando retirar la mayor parte de lignina presente en la fibra vegetal y reduciendo los métodos de blanqueo,²⁴ La finalidad de este tipo de proceso es la degradación de la materia prima por el uso de reactivos dando lugar a la formación de reacciones químicas que rompen los enlaces presentes dentro de la fibra vegetal, estos procesos obtienen un mayor rendimiento pero es indispensable el manejo de la temperatura y la presión del sistema reactivo. Los procesos químicos se dividen en procesos básicos y ácidos, dentro de los procesos básicos está el proceso comúnmente conocido como proceso Kraft que usa sustancias como el hidróxido de sodio y sulfuro de sodio y en los ácidos es la implementación de sulfitos con la finalidad de la formación de pasta.

²² VASCO ZAMUDIO Y SANCHEZ. ” análisis de la gestión ambiental del humedal Gualí tres esquinas, vereda el ható(Funza-Cundinamarca).Bogotá Universidad Distrital Francisco José de caldas,2017.p.42-43.Disponible en Internet:<<http://repository.udistrital.edu.co/bitstream/11349/5920/1/VASCO%20ZAMUDIO%20SORANLLY%20PAOLA%202017.pdf>>

²³ SANZ TEJEDOR, Ascensión; Tecnología de la celulosa. La industria papelera. Disponible en Internet:< <https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-03.php>>

²⁴ MEDINA, Raúl y ROSAS, Ernesto; Factibilidad de la obtención de celulosa a partir de los residuos provenientes del despulpado de la mora como materia prima en la industria del papel. Bogotá Universidad: Universidad de America,2004. p.61

²⁵ La hidrólisis ácida utiliza ácidos fuertes para poder hidrolizar la hemicelulosa y la lignina logrando volver estos compuestos solubles en agua y así lograr separarlos de la celulosa presente en la fibra vegetal, la hidrólisis básica o alcalina a diferencia de la ácida es el uso de componentes básicos diluidos como el hidróxido de sodio o también conocida como soda caústica con la finalidad de separar la lignina de las otras cadenas de carbohidratos presentes.

Este proceso produce fibras más homogéneas y mejor deslignificadas, alta blancura en las pulpas y disminuye el uso de energía mecánica porque es sustituido por las reacciones generadas por los agentes químicos. Pero como todo en la industria el manejo de sustancias químicas acarrea problemas ambientales muy fuertes en términos de contaminación en vertimientos y en emisiones al medio ambiente; la calidad de la obtención de celulosa es variable según el agente químico y la metodología usada industrialmente se conocen procesos a partir de sosa, sulfitos y sulfatos y la combinación de procesos mecánicos y químicos. Estos procesos aplican para cualquier tipo de fibra vegetal obteniendo altos rendimientos en términos de tiempo de tratamiento y uso de energía.

El manejo de estos procesos requiere variedad de equipos e infraestructura, consume una gran cantidad de agua y es fundamental la necesidad de la recuperación de los reactivos.

1.4.2 Proceso Semiquímico. Se utiliza una combinación de tratamientos mecánicos con la adición de ciertos reactivos químicos que aceleran y optimizan la separación.²⁶ Según Medina dice que ²⁷ este procedimiento se hizo con el fin de mejorar el rendimiento de los procesos y de la calidad de pulpa de celulosa, existen los procesos como el sulfito neutro (NSSC) es la aplicación de una solución de bisulfito que reacciona y después de haber sucedido la reacción pasa por un proceso de trituración o molienda obteniendo un incremento del rendimiento del 10 al 40% respecto a un proceso químico convencional, también existe otro método donde se emplea un digestor continuo que disminuye el uso de equipos mecánicos.

²⁵ CASTIBLANCO, Lorena y OSPINA, Claudia; Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs). Bogotá. Universidad: Universidad de América, 2015. p.39-40.

²⁶ ARGENBIO; La biotecnología en la fabricación de papel. En: Cuaderno N 97. 207. Disponible en Internet: <<http://www.porquebiotecnologia.com.ar/index.php?action=cuaderno&opt=5&tipo=4¬e=97>>

²⁷ MEDINA, Raúl y ROSAS, Ernesto; Factibilidad de la obtención de celulosa a partir de los residuos provenientes del despulpado de la mora como materia prima en la industria del papel. Bogotá Universidad: Universidad de América, 2004. p.58-61

1.4.3 Proceso Biodegradable. ²⁸Este tipo de procedimiento a medida del tiempo se ha convertido en uno de los campos más estudiados ya que su finalidad es obtener componentes como la celulosa o diferentes productos a nivel industrial buscando remplazar el uso de químicos por materias primas biológicas que cumplen la misma función de extracción en la selectividad de productos de interés, pero es un campo que se considera joven en investigación y que a nivel de rendimiento, eficacia y eficiencia de la producción aún es muy baja para considerarlo rentable. Se ha buscado desarrollar alternativas que logren eliminar limitantes de condiciones de operación de estos procesos debido a que a nivel industrial su costo es muy elevado, actualmente estas metodologías son aplicadas en campos como la medicina, alimentos, procesos de separación, catálisis entre otras.

²⁹ Algunos microorganismos como las bacterias o hongos son capaces de degradar y sintetizar materia orgánica como la Hemicelulosa, pectinas, lignina, celulosa etc., obteniendo un producto más cristalino y con una mayor pureza sin olvidar que es un método convencional y amigable con el ambiente evitando que se produzca contravenciones contra este.

1.4.4 Proceso Mecánico. En la industria el uso de maquinaria y la implementación del mejoramiento de las nuevas tecnologías cobra más importancia día a día debido a que van enfocadas en el mejoramiento de procesos industriales, en cuanto eficiencia, eficacia y rendimiento. En la producción de pasta celulósica se considera este método debido a que utiliza energía mecánica, bajos consumos de agua para separar las componentes de las fibras y obtener compuestos homogéneos sin el uso de químicos logrando tener altos rendimientos.

³⁰Este proceso utiliza energía mecánica para formar la pasta de fibra vegetal por medio de diferentes metodologías como lo es molienda de piedra(SGWP), mecánica de refinación(RMP) y finalmente existe otro proceso termoquímico que suministra energía en forma de calor para agilizar la separación de las cadenas de las fibras presentes en la materia prima estos procesos generan un mayor rendimiento y disminuyen el color oscuro de la pasta, lo que implica una mayor degradación de la lignina ya que hay disminución en el color y rigidez de la pasta obtenida.

²⁸ CARREÑO PINEDA, Luz; CAICEDO MESA, Luis y MARTINEZ, Carlos. Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión. En: Ingeniería y ciencia. Vol8, n 16, pp. 307-335, julio-diciembre 2012. Disponible en Internet:<<http://www.scielo.org.co/pdf/ince/v8n16/v8n16a12.pdf>>

²⁹ CASTIBLANCO, Lorena y OSPINA, Claudia; Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs). Bogotá. Universidad: Universidad de America,2015. p.35-37.

³⁰PAULOWNIA; Proceso para la obtención de celulosa. Disponible en Internet:<<https://sites.google.com/site/paulowniatormentosa/proceso-para-la-obtencion-de-celulosa>>

Actualmente este proceso solo funciona para fibras largas lo que lo convierte en un método obsoleto referente a otras fibras vegetales, también el uso de estas máquinas genera desgaste mecánico en ellas y según el material están expuestas a todo el ambiente corrosivo. Usualmente es usado en la industria del papel para tratamiento de fibras de madera, es un proceso en el cual después de que la materia prima este triturada se somete a altas presiones y a una temperatura de 140°C, gasta mucha energía y desgaste mecánico pero su rendimiento es alto esta entre el 85 y el 95%. ³¹“A nivel mundial, del total de 300 millones de toneladas de celulosas producidas, cerca de un 76% correspondieron a celulosas químicas y sólo un 24% a celulosas mecánicas.”

1.5 HIDRÓLISIS

La hidrólisis es un proceso en el cual se da una reacción química donde el agua interactúa con otra sustancia con el fin de formar una o más sustancias nuevas. Este proceso implica la ionización de la molécula de agua y la división del compuesto hidrolizado. “La hidrólisis por lo general requiere de un catalizador ácido base y se utiliza en la síntesis de muchos compuestos útiles. El termino hidrólisis significa literalmente dividir con agua”³².

1.5.1 Hidrólisis Ácida. “En la hidrólisis ácida el agua puede encontrarse actuando como un ácido o una base, basándonos en la teoría del ácido de Brønsted-Lowry. Es un proceso por medio del cual un ácido prótico es utilizado para poder catalizar la escisión que tiene un enlace químico por medio de una reacción de sustitución nucleófila añadiendo agua. Este término es también usado en algunas ocasiones para referirse a algunas reacciones de acción nucleófila, como por ejemplo en la hidrólisis catalizada por ácido de nitrilos a amidas.

Es utilizada para obtener azúcares reductores con el objetivo de poder conseguir bio etanol a partir de la hidrólisis del bagazo que se obtiene de la caña de azúcar”³³.
³⁴Adicionalmente es utilizada para la obtención de lignina debido a que permite la solubilidad de la celulosa; componente que se encuentra presente al igual que la lignina en las plantas.

³¹ SANZ TEJEDOR, Ascensión. Tecnología de la celulosa. La industria papelera. [en línea]. Química Orgánica Industrial.parr33. [Citado el 30 de agosto del 2018]. Disponible en Internet: <<https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-03.php>>

³² Biología. [en línea]. [Citado el 30 de agosto del 2018]. Disponible en Internet: <<http://terapiaocupacional-biologia.blogspot.com/2013/09/hidrolisis.html>>.

³³ Euston. [en línea]. [Citado el 28 de julio del 2019]. Disponible en Internet: <<https://www.euston96.com/hidrolisis/>>

³⁴ MOCCHIUTTI, Paulina. Fundamentos de producción de pastas celulósicas. Disponible en Internet: < http://www.fiq.unl.edu.ar/celulosa/Coloquio_Tema_2_Adell_y_Mocchiutti.pdf >

1.5.2 Hidrólisis Básica. La hidrólisis básica o alcalina es un proceso en el cual se efectúa una reacción entre una solución básica como el Hidróxido de sodio y el agua. “se caracteriza por la división de una molécula de agua en un grupo de hidrogeno e hidróxido con uno o ambos de estos, apegándose a un producto orgánico de partida”³⁵

1.5.3 Hidrólisis Enzimática. Se conoce como hidrólisis enzimática a la reacción que se produce por medio de un grupo de enzimas conocidas como hidrolasas. Al igual que en cualquier proceso de hidrolisis en esta también se presenta la división de moléculas de hidrogeno y la unión a productos orgánicos.

1.6 HONGOS

³⁶Son organismos eucariontes que viven en superficies con mucha humedad, cuya función es ser el descomponedor primario del material muerto alimentándose por absorción de nutrientes, degradan las sustancias por medio de la formación de enzimas contempladas como catalizadores selectivos. A grandes rasgos el hongo secreta enzimas como las amilasas que rompen el almidón convirtiendo las cadenas complejas en un compuesto más simple como los monómeros de glucosa después lo metaboliza con las rutas de glicolisis, ciclo de Krebs y síntesis de proteínas.

Cada enzima actúa sobre una sustancia en específico produciendo componentes claves que son de vital importancia en los procesos industriales, pero son moléculas muy sensibles lo que hace estos procesos más complejos como sucede en la producción de antibióticos, la industria alimentaria entre otros.

Estos microorganismos se reproducen por esporas siendo su mecanismo y estructura de dispersión con el fin de colonizar nuevos terrenos, las esporas tienen la habilidad de permanecer latentes hasta que la espora viajando por medio de corrientes de aire encuentre las condiciones óptimas de humedad y nutrientes para poder desarrollarse, también se caracterizan por su alta resistividad a las diferentes condiciones ambientales como las altas temperaturas.

³⁷Son microorganismos heterótrofos (no pueden producir su propio alimento) que no hacen fotosíntesis, su reproducción puede ser sexual o asexual, tienen la capacidad de almacenar glucógeno, son no móviles, tienen pared celular de quitina y no tiene peptidoglicano a diferencia de las bacterias y generalmente son difíciles

³⁵ *Ibíd.*

³⁶VIVIENDO LA SALUD. ¿Qué son los hongos? Los 9 tipos principales y sus características. Disponible en internet: :< <https://viviendolasalud.com/salud-y-remedios/hongos-tipos-caracteristicas>>

³⁷CONCEPTODEFINICION.DE.definicion de hongos. Publicado abril 3 2014.Disponible en Internet:< <https://conceptodefinicion.de/hongos/>>

de erradicar. El hongo está compuesto por un sombrerillo o píleo, láminas o himenio, un anillo, una vulva, micelios, hifas y finalmente los basidios lugar donde el hongo almacena las esporas para poder reproducirse.

Su clasificación es según su estructura, el micelio puede ser aéreo o terrestre si es terrestre le proporciona una gran ventaja debido a que el micelio este agarrado del sustrato logrando así que la disponibilidad de nutrientes sea mayor, estos pueden crecer sin tanta agua dado que ellos se esponjan para adquirir humedad del medio.

³⁸Los hongos pueden degradar sustancias complejas como la celulosa, Hemicelulosa y lignina convirtiéndolas en una materia prima fundamental a largo plazo en la industria .Estos hongos se clasifican según su metabolismo degradativo por ejemplo según ISA Hispana ³⁹La pudrición en la madera la debilita, generándose un deterioro en la estructura molecular de los arboles causando fracturas , disminución en el transporte de savia entre otros problemas esto lo ocasionan los hongos xilófagos pertenecientes al grupo basidiomicetos donde su alimentación se basa en componentes principalmente como lo son la celulosa Hemicelulosa y lignina , no todos los tipos de pudrición son iguales por lo cual se clasifican en 3 según la selectividad de sustrato que tenga el hongo como alimento , está la pudrición blanca donde el ataque enzimático remueve la lignina antes o al mismo tiempo que remueve la celulosa, haciendo que se reduzca la resistividad de la madera , seguida de la podrición café que se caracteriza por eliminar la celulosa dejando como residuo la lignina teniendo una apariencia distintiva de color oscura y finalmente la pudrición blanda es realizada generalmente por los ascomicetos que degradan selectivamente el componente celulósico y es de fácil confusión con la pudrición blanca por su color por que en ambos casos el color obtenido es blanco.

Los hongos de podredumbre blanca son específicos para la degradación de lignina y celulosa, lo interesante en esta clase de hongo es que estos compuestos son usados como metabolito secundario lo que implica que son los compuestos sintetizados a partir de los excedentes del metabolito primario usados en el crecimiento y supervivencia del hongo. Así puede generar las enzimas específicas en la degradación de lignina como lo son las oxidasas y peroxidasas que catalizan y rompen los enlaces des polimerizando la molécula.

En las diferentes variedades de hongos que existen se destacan dos clases fundamentales en el ecosistema en la degradación lignocelulosica de la naturaleza dentro de las cuales están los hongos de podredumbre blanca y los hongos de

³⁸ CASTIBLANCO, Lorena y OSPINA, Claudia; Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs). Bogotá. Universidad: Universidad de America,2015. p.36.

³⁹ ISA Hispana. Identificación del tipo de pudrición de la madera y hongos xilófagos en arboles urbanos. Disponible en Internet:<<https://www.isahispana.com/treecare/articles/decay-fungi>>

podredumbre parda. Los hongos de podredumbre parda tienen un problema debido a que estos en la degradación de lignina es limitada ya que su interés de alimentación no es selectiva lo que ocasiona es que empiezan a degradar y a despolimerizar polisacáridos sin afectar directamente la lignina lo que influye en el bajo rendimiento de celulosa obtenida, caso distinto ocurre con la clasificación de ⁴⁰Los hongos de pudrición blanca, son el más importante grupo de microorganismos responsables de la biodegradación del polímero natural más complejo que existe, la lignina. Debido a que estos microorganismos son selectivos con la despolimerización de la lignina promueven directamente mayores rendimientos en la obtención de productos como lo es la pasta celulósica.

Teniendo en cuenta que en el proceso es de vital importancia el uso de hongos de pudrición blanca; se decide implementar el hongo *Pleurotus Ostreatus* también conocido como Orellana debido a su fácil accesibilidad ya que es un hongo comestible, económico y del cual las condiciones óptimas de operación como lo son temperatura, humedad y medio de cultivo para su desarrollo, son fáciles de mantener.

Generalmente estos procesos biológicos son usados con residuos agroindustriales “brindando ventajas en los procesos como lo son: bajos costos, bajo requerimiento de energía y altos rendimientos sin generación de subproductos contaminantes”⁴¹

1.6.1 *Pleurotus Ostreatus*. Este ejemplar es un descomponedor perteneciente al grupo de hongos de podredumbre blanca está considerado como un parasito saprofitico débil, generalmente este crece en la mayoría de plantas arborea cerca de los ríos debido a que su entorno posee las condiciones de humedad óptimas para su crecimiento.

“La palabra *Pleurotus* viene del griego “pleuro”, que significa formado lateralmente o en posición lateral, refiriéndose a la posición del estípite respecto al píleo. La palabra *Ostreatus* en latín quiere decir en forma de ostra y en este caso se refiere a la apariencia y al color del cuerpo fructífero”⁴².

⁴⁰ Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín;QUINTERO Diaz,Carlos; DEGRADACIÓN DE PLAGUICIDAS MEDIANTE HONGOS DE LA PUDRICIÓN BLANCA DE LA MADERA.Medellin.Universidad : Universidad Nacional de Colombia ,2015.Recuperado

de:<<https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/26394/371239>>

⁴¹ CASTIBLANCO, Lorena y OSPINA, Claudia; Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs). Bogotá. Universidad: Universidad de America,2015. p.37.

⁴² CORREDOR Hernández, Ricardo; LOPEZ Rodríguez, Claudia. Evaluación del crecimiento y producción del *pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. Bogotá. Universidad: Pontificia Universidad Javeriana. p.27.Disponible en internet:< <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis257.pdf>>

⁴³Entre sus características principales esta su crecimiento y color estas son condiciones variables, sin embargo, lo más distintivo son el color crema y gris, su cutícula es enroscada cuando el hongo es joven, pero al madurar se observa fino y ondulado. Respecto a las láminas son de color claro, el pie se confunde muchas veces con el color de la materia prima donde creció y la carne del hongo es firme y blanca.

⁴⁴El *Pleurotus* en particular también se le conoce con el nombre de Orellana y está considerado como un hongo comestible y cultivable, este en la industria alimentaria juega un gran papel caracterizado por su potencial en contenido de proteínas, minerales y vitaminas. Es contemplado como suplemento alimentario dentro de la dieta del ser humano debido a que posee componentes como el sodio, cobre, magnesio, hierro entre otros siendo componentes vitales para el funcionamiento idóneo del cuerpo enfocados en el mejoramiento del sistema inmunológico, sistema cardiovascular y manejo del peso.

Este hongo es fácil de cultivar y generalmente se hace con la finalidad de obtener alimento para el ser humano a partir de residuos agrícolas, estos residuos le sirven al hongo como medio de cultivo o fuente de alimentación, pero lo usual estos se emplean para el mejoramiento de suelos o comida en el gremio ganadero. Son reconocidos por su capacidad para degradar toxinas ambientales en general sustancias a base de hidrocarburos o altas fuentes de carbono.

Estas setas son muy demandadas por los emprendedores por sus ventajas, una de ellas y quizás la más atractiva es que al ser un hongo saprofito primario no requiere un sustrato compostado o tratado lo que hace que el crecimiento de este generalmente se de en desechos orgánicos como la madera, el algodón, residuos de café, bagazo de la caña de azúcar, productos de papel y en general en cualquier desecho que en su composición contenga material lignocelulósico seco.⁴⁵ El hongo *Pleurotus* posee la capacidad de producción de enzimas como la manganoso peroxidasa (MnP), versátil peroxidasa (VP) y la lacasa que le permiten degradar la lignina y metabolizarla como fuente de alimentación o sustrato en su proceso natural de crecimiento, para que todo esto suceda se deben tener en cuenta las

⁴³ Asociación microbiológica fungipedia. catálogo de setas y hongos (*pleurotus ostreatus*. [en línea]. Disponible en internet:< <https://www.fungipedia.org/hongos/pleurotus-ostreatus.html>>

⁴⁴ SETAS DE SIECHA. Propiedades y beneficios de la Orellana. Disponible en Internet:< <https://www.setasdesiecha.com/orellana-propiedades-beneficios.html>>

⁴⁵ CASTIBLANCO Amaya, Lorena; OSPINA Santos, Claudia. Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs) en la empresa MAAT SOLUCIONES AMBIENTALES SAS. Bogota. universidad: universidad de america,2015. p.38

condiciones óptimas de crecimiento como lo son factores de humedad, temperatura, disponibilidad de oxígeno entre otras.

1.7 DEGRADACIÓN DE LIGNINA A PARTIR DE MICROORGANISMOS

⁴⁶En el proceso natural de degradación de lignina se da por el ataque enzimático de enlaces específicos de la molécula de lignina, estas enzimas por lo general son peroxidasas y fenol oxidasas provenientes de microorganismos aerobios como los hongos de podredumbre blanca que “juegan un papel importante en el ciclo biogeoquímico del carbono, además son capaces de degradar una variedad de contaminantes ambientales, tales como compuestos aromáticos clorados, hidrocarburos aromáticos heterocíclicos, colorantes y diversos polímeros sintéticos de alto peso molecular”⁴⁷ y tienen en cuenta la selectividad del metabolito de interés como lo es la lignina.⁴⁸ Estos hongos secretan diferentes enzimas como las peroxidasas, manganeso peroxidasa que son las enzimas encargadas de oxidar la lignina reduciendo la posibilidad de que se puedan re polimerizar y promueve la formación de compuestos aromáticos, por lo general estas enzimas se encuentran inmovilizadas en la parte superior del micelio del hongo.

⁴⁹Es claro que la degradación de lignina comienza en la etapa de culminación del crecimiento debido a que en este punto el co sustrato se ha consumido casi por completo en el medio de cultivo lo que ocasiona que el hongo entre a una zona de latencia donde las últimas reservas de sustrato se acaban, y sometiendo al hongo a que después de haber degradado aquellos compuestos más simples se dé la necesidad de sobrevivir buscando la manera de degradar componentes más complejo como lo es la lignina. El hongo lignocelulósico según su morfología tiene la capacidad de degradar la lignina, como la lignina no es una fuente aprovechable directa de carbono ocasiona que este no se pueda desarrollar en un material lignocelulósico como única fuente de carbono en su entorno y si el hongo no crece no tiene la capacidad de producir las enzimas que le faciliten degradar la lignina con el fin de que esta sea usada como alimento.

⁴⁶ Gutiérrez Martínez, A. Mecanismos de biodegradación de la lignina. En: Revista IBEROAMERICANA DE MICROBIOLOGIA.vol.13. 1996.p.18-23. [en línea]. Disponible en Internet:<

<http://digital.csic.es/bitstream/10261/71580/1/Mecanismo%20de%20biodegradaci%C3%B3n%20de%20la%20lignina.pdf>>

⁴⁷ MUÑOZ, Laura. E valuación de enzimas degradadoras de lignina producidas por aislamientos fúngicos de cultivos de arroz. Bogotá Universidad: Pontificia Universidad Javeriana,2012. p.20.

⁴⁸ Ibid.; p.20

⁴⁹ CASTIBLANCO Amaya, Lorena; OSPINA Santos, Claudia. Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs) en la empresa MAAT SOLUCIONES AMBIENTALES SAS. Bogota. universidad: universidad de america,2015. p.37

Es conveniente usar un co-sustrato que le brinde las condiciones óptimas de crecimiento y que posea una estructura molecular más simple y fácil de metabolizar para el hongo con el objetivo de generar las condiciones óptimas para producir enzimas como las mencionadas anteriormente y así degradar la lignina.

1.8 IMPORTANCIA DE LA CELULOSA EN LA INDUSTRIA

“Los hidratos de carbono, $(\text{CH}_2\text{O})_n$, son los productos orgánicos naturales más abundantes de la naturaleza y su importancia biológica e industrial es elevada. La celulosa es el compuesto orgánico natural más abundante y, por tanto, materia prima potencial para la I.Q.O.”⁵⁰; El mayor consumo de este componente es en la industria papelera, fibras textiles, acetato y nitrato de celulosa. El aislamiento de la pasta de celulosa define la calidad y la clase de celulosa obtenida de acuerdo al proceso mecánico o químico como se obtuvo.

Los diferentes tratamientos químicos para obtener los derivados de la celulosa a nivel industrial son de vital importancia como por ejemplo se encuentra la celulosa regenerada, esta se usa en la industria textil por medio de H_2SO_4 , Na_2SO_4 y ZnSO_4 formando fibras sedosas; otro componente es el acetato de celulosa, este se obtiene por un proceso de hidrolisis y comercialmente es usado en lacas. En la actualidad la celulosa se encuentra como fibras en películas fotográficas, pinturas, resinas, cemento y es un posible sustituto en la fabricación de vidrios; Este compuesto en su mayor proporción es usado en la industria para la fabricación del papel.

De la manufactura de la celulosa salen varios derivados celulósicos como la trementina y el tal oíl que se emplean como materia prima en la industria química de jabones, alimentos y producción de extracción de aromas. La fibra de celulosa blanca es usada para generar resistencia, suavidad y relleno en otros productos papeleros como la cartulina; esto varía respecto a las proporciones que se usen en las mezclas obteniendo la diversidad de productos papeleros comerciales.

A nivel mundial el uso adecuado de los diferentes recursos naturales que nos brinda el entorno ha creado mayor relevancia en todo el sector industrial. La demanda papelera va en aumento, se dice que cada persona usara en productos obtenidos a partir de la celulosa 100 árboles.

La producción de papel a nivel ambiental genera grandes problemas en equilibrio del sostenimiento de los ecosistemas y esto comienza desde su fabricación hasta el mal uso de los residuos del proceso , hoy en día se ha generado conciencia en protocolos de reciclaje aumentando drásticamente la recuperación de productos papeleros con el objetivo de disminuir la deforestación logrando recolectar

⁵⁰ SANZ TEJEDOR, Ascensión. Tecnología de la celulosa. La industria papelera. [en línea]. Química Orgánica Industrial.parr33. [Citado el 30 de agosto del 2018]. Disponible en Internet: <<https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-03.php>>

aproximadamente de 48 a 134 millones de toneladas lo que representa el 45% respecto al consumo de los productos. La producción de papel y cartón en el mundo se sitúa actualmente en torno a los 300 millones de toneladas. De estas un 43% se utiliza para envases y embalajes, un 30% para impresión y escritura, un 12% para papel de prensa y un 15% para usos higiénicos, sanitarios y otros papeles.

Las tendencias y mejoras en la industria de obtención de celulosa cada vez están más interesadas en el mejoramiento de los procesos y de las tecnologías para aumentar la eficiencia de los procesos y bienestar del medio ambiente , actualmente la extracción de esta pasta celulósica convencional se obtiene la mayor parte de la pasta proveniente de los árboles, el consumo de agua del proceso ha disminuido considerablemente según estudios por tonelada de celulosa producida se usan 40 metros cúbicos de agua donde con los procesos iniciales de extracción eran de 120 a 140 metros cúbicos usando esta agua como recirculación al proceso.

También es caracterizado hoy en día por “La reducción en las emisiones ha sido otra de las tendencias registradas en esta industria. El nivel de AOX (Absorbable Organic Halogens) ha disminuido en los últimos 20 años desde 8 kg/Tm a 0,2-0,5 kg/Tm de celulosa, el BOD (Biochemical Oxygen Demand) en los últimos 10 años ha pasado de 15 kg/Tm a 1,5 kg/Tm de celulosa y los compuestos sulfurados se han reducido en cerca de 90% desde los años 70.”⁵¹

⁵¹ SANZ TEJEDOR, Ascensión. Tecnología de la celulosa. La industria papelera. [en línea]. Química Orgánica Industrial.parr39. [Citado el 30 de agosto del 2018]. Disponible en Internet: <<https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-03.php>>

2 METODOLOGÍA

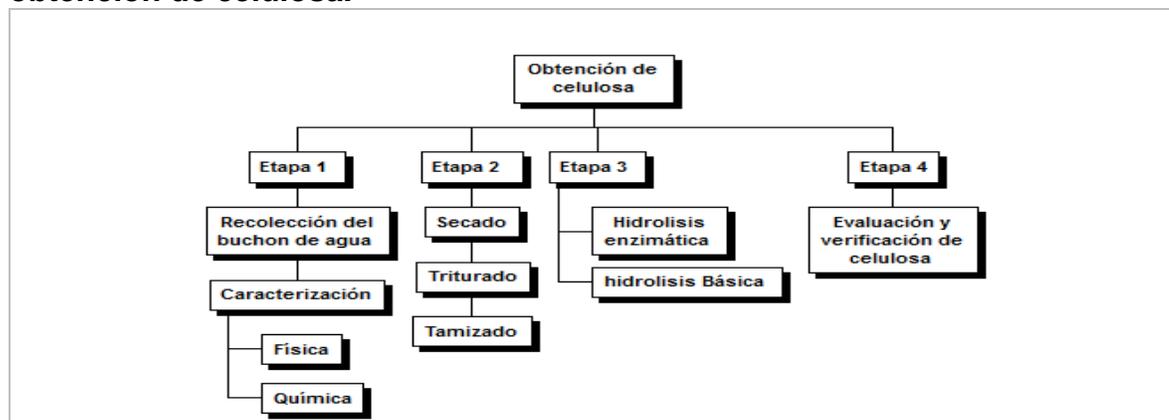
En el mundo debido a la gran biodiversidad que existe, se han podido identificar en la naturaleza variedad de fuentes fibrosas que son elaboradas a partir de diferentes procesos biológicos como la fotosíntesis. Este proceso les permite a las plantas dentro de sus múltiples beneficios sintetizar algunos de esos compuestos; uno de ellos, la celulosa, la cual se encuentra contenida de forma abundante en las paredes celulares de las plantas, y cuya síntesis en esta se da mediante reacciones complejas en las hojas por medio de compuestos como carbono, agua, minerales, clorofila y luz solar entre otros.

Actualmente las industrias papeleras desarrollan diferentes procesos de extracción de celulosa provenientes de la madera de los árboles, logrando procesar e imprimir hasta 115 billones de hojas anuales.

En este capítulo se presentan dos técnicas que permiten evaluar la obtención de celulosa, una de ellas por procedimientos químicos, como lo es la hidrólisis básica y otra por procedimientos microbiológicos como lo es la hidrólisis enzimática, las cuales serán implementadas en el buchón de agua determinando la efectividad de los métodos partiendo de una caracterización inicial que permitirá definir la cantidad de lignina y celulosa inicial presentes en el Buchón de agua.

Para desarrollar esta investigación se tendrán en cuenta 4 principales etapas como se muestra en la figura 4; en la primera de ella se establece la recolección y caracterización de la materia prima, en la segunda se realizan procedimientos de trituración y tamizado, en la tercera se implementan las técnicas basadas en cada uno de los métodos propuestos como lo son la hidrólisis básica y enzimática y por último se establecen los análisis necesarios para la determinación del método más efectivo.

Figura 4. Diagrama de las etapas del desarrollo de la evaluación de obtención de celulosa.



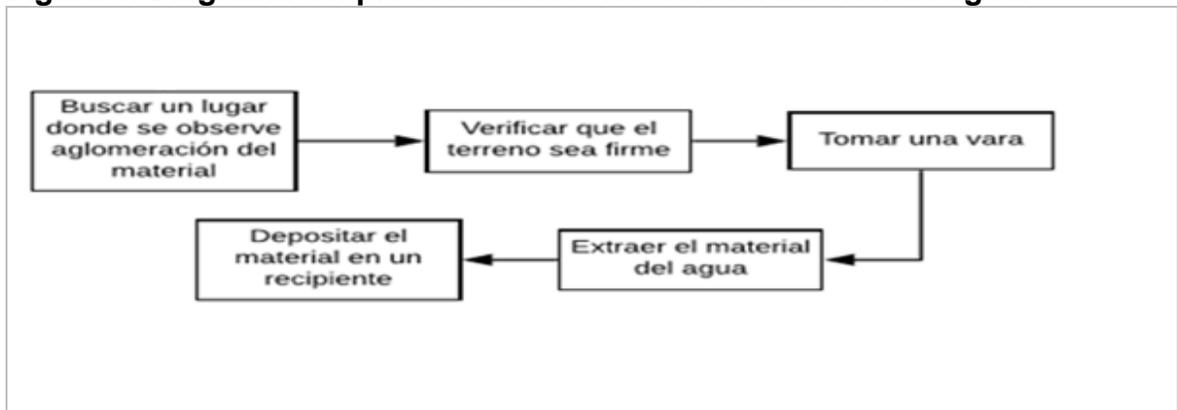
Fuente: elaboración propia.

2.1 RECOLECCIÓN DEL BUCHÓN DE AGUA

Para llevar a cabo este procedimiento es importante contar con la ubicación de un humedal, lago o laguna de agua dulce que evidencie el desarrollo del buchón de agua en ese medio; como lo es el Humedal del Gualí. Al momento de la recolección se debe tener en cuenta que esta se llevara a cabo de una forma más eficiente si se busca un espacio en el que exista aglomeración del material buscando además un espacio firme que permita al recolector permanecer seguro y evitar caídas que ocasionen accidentes. Una vez determinado el espacio se procede a recolectar la materia prima y depositarla en un recipiente que permita su traslado.

Este procedimiento se llevó a cabo mediante los procesos que se muestran en la figura 5.

Figura 5. Diagrama del proceso de recolección del buchón de agua.



Fuente: elaboración propia.

Figura 6. Buchón de agua presente en el humedal el Gualí.



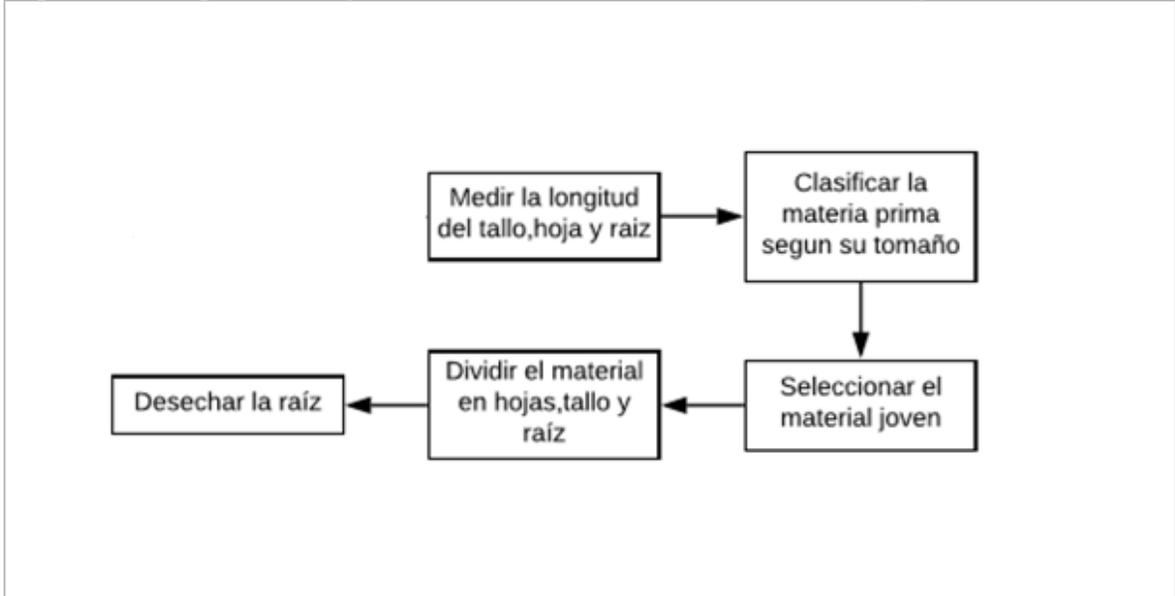
Fuente: elaboración propia.

2.1.1 Selección de materia prima. En la selección de la materia prima de buchón de agua se tienen ciertos criterios de selección según como lo son las características morfológicas, composición química y origen de la planta.

⁵²Hay que tener en cuenta que según estudios el contenido de celulosa presente en la planta cambia en el transcurso del tiempo. A medida que el buchón de agua madura o envejece el contenido de celulosa disminuye cosa contraria e indirectamente proporcional ocurre con el contenido de lignina donde a medida que envejece la planta esta aumenta generando una mayor rigidez en la planta; debido a estos análisis se puede considerar que el buchón de agua más conveniente es el joven ya que posee mayor contenido de celulosa y menor contenido de lignina. Procedimiento que se lleva a cabo como se muestra en la figura 7.

⁵² *Ibíd.*, p.48-58.

Figura 7. Diagrama de proceso de la selección de la materia prima.



Fuente: elaboración propia.

Asimismo, es importante conocer el origen de donde viene la muestra del buchón de agua debido a que según su entorno puede afectar la morfología propia de la planta, ya que esta puede presentar, por ejemplo, un mayor contenido de metales si se desarrolla en zonas de alta contaminación.

Figura 8. Clasificación del tamaño del buchón de agua



Fuente. JUAREZ LUNA, Gregorio; Cambios en la composición del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) debidos a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica. México, Universidad: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, 2011.p.30.

2.2 CARACTERIZACIÓN DEL BUCHÓN DE AGUA

Este procedimiento es de vital importancia ya que permite mediante pruebas físicas y químicas, determinar e identificar los diferentes componentes que contiene el buchón de agua. Realizando este tipo de prueba se puede obtener los datos correspondientes de la cantidad porcentual de lignina y celulosa presente en la materia prima, permitiendo obtener el rendimiento de los diferentes procesos relacionados en esta investigación como lo son el camino químico y microbiológico respectivamente.

2.2.1 Caracterización física. Este tipo de caracterización se realiza con el fin de obtener los datos iniciales correspondientes a las propiedades físicas del buchón de agua; estas propiedades permiten conocer la capacidad de absorción, humedad y volatilidad del material, información que es indispensable para otras posibles aplicaciones del material en la industria.

- ❖ **Humedad.** Se conoce como la capacidad que tiene el material para absorber agua de su entorno. Para su estudio se recomienda realizar la técnica gravimétrica indirecta.

Procedimiento: se pesan 2g de Buchón de agua, se introducen en una capsula previamente descargada y de peso conocido, se introduce a la mufla a $\pm 100^{\circ}\text{C}$ por un periodo de tiempo de 1 hora. Posteriormente se retira la capsula y se lleva al desecador durante 15 min obteniendo peso constante. Por último se retira la capsula del desecador y se lleva a la balanza analítica para registrar el peso.

Ecuación 1. Determinación de Humedad.

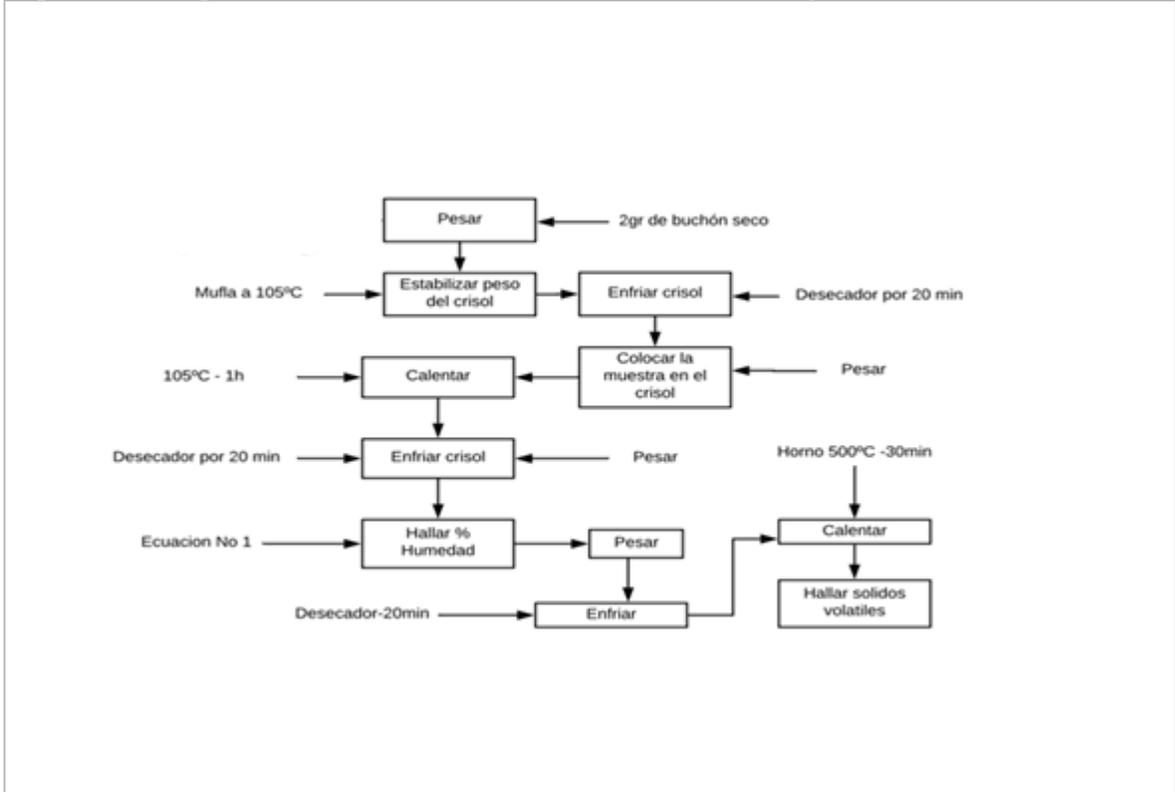
$$\text{Humedad} = P^{\circ} - P_f$$

$$P^{\circ} = \text{peso inicial}$$

$$P_f = \text{peso final}$$

Fuente. COLOMER F, GALLADO A, ROMERO S, BOVEA M. Los residuos sólidos en las titulaciones técnicas. 2008. p 3. Citado por: CASTIBLANCO Amaya, Lorena; OSPINA Santos, Claudia. Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs) en la empresa MAAT SOLUCIONES AMBIENTALES SAS. Bogotá. Universidad: universidad de américa, 2015. p.47

Figura 9. Diagrama de la determinación de Humedad y solidos Volátiles.



Fuente: elaboración propia.

- ❖ **Porcentaje de Cenizas y Sólidos volátiles.** Estas propiedades se pueden determinar fácilmente de acuerdo a la volatilidad a 500 °C, a esta temperatura la fracción orgánica se oxidará y desaparecerá en forma de gas, quedando la fracción inorgánica en forma de cenizas. De ahí que se empleen los términos sólidos volátiles y sólidos fijos o cenizas respectivamente, para hacer referencia a compuestos orgánicos e inorgánicos de los sólidos.⁵³

Procedimiento: para la determinación de sólidos volátiles la muestra se introduce a la mufla a una temperatura de 500°C por un tiempo de 20 a 30 minutos. Se pasa al desecador por un tiempo mínimo de 10 minutos, se pesa y se toman los valores.

⁵³ CARACTERIZACIÓN AGUA RESIDUAL. Caracterización física. Sección 4. Disponible en internet:<
http://aulavirtual.usal.es/aulavirtual/demos/simulacion/modulos/curso/uni_03/u3c3s4.htm>

Ecuación 2. Sólidos volátiles.

$$\text{Sólidos Volátiles} = P(100^{\circ}\text{C}) - P(500^{\circ})$$

Fuente. COLOMER F, GALLADO A, ROMERO S, BOVEA M. Los residuos sólidos en las titulaciones técnicas. 2008. p 4. Citado por: CASTIBLANCO Amaya, Lorena; OSPINA Santos, Claudia. Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs) en la empresa MAAT SOLUCIONES AMBIENTALES SAS. Bogotá. Universidad: universidad de américa, 2015. p.47

Donde

P (100°C): peso obtenido después de 100°C

P (500°C): peso obtenido después de 500°C

Para la determinación de cenizas se pesan 2 g de buchón y se pone en un crisol de peso conocido. Se introduce a la mufla a una temperatura igual a 500°C por un tiempo de 20 a 30 minutos. Una vez concluido el proceso de calcinación, se pasa al desecador para enfriar el material por un tiempo de 10 min, luego se pesa y se calcula el contenido de cenizas.

Ecuación 3. Determinación de cenizas.

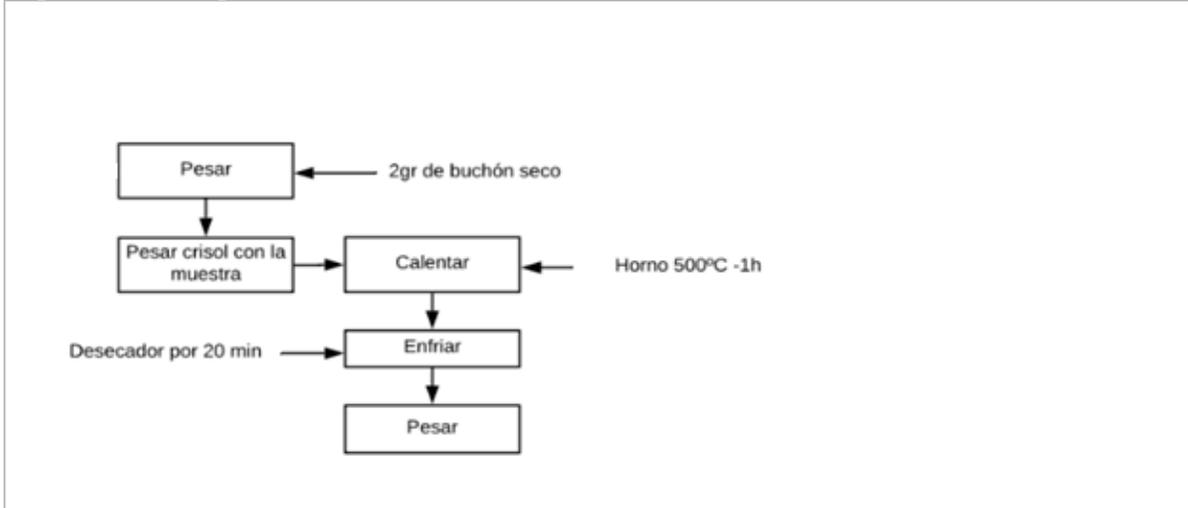
$$\text{Cenizas} = P(500^{\circ}\text{C})$$

Fuente. COLOMER F, GALLADO A, ROMERO S, BOVEA M. Los residuos sólidos en las titulaciones técnicas. 2008. p 3. Citado por: CASTIBLANCO Amaya, Lorena; OSPINA Santos, Claudia. Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs) en la empresa MAAT SOLUCIONES AMBIENTALES SAS. Bogotá. Universidad: universidad de américa, 2015. p.48

Donde

P (500°C): peso de la muestra a 500°C

Figura 10. Diagrama de determinación de cenizas.



Fuente: elaboración propia.

2.2.2 Caracterización química. Este procedimiento se desarrolla con el fin de conocer el porcentaje de los compuestos de lignina y celulosa presente en el buchón de agua, teniendo en cuenta la determinación de extractivos, los cuales permiten determinar la cantidad de celulosa real, por medio de parámetros de corrección especificada en la ecuación N 6.

Determinación de extractivos. Este procedimiento se desarrolló según los protocolos de la norma TAPPI T 204 os-46. El buchón además de contener celulosa y lignina está formada por compuestos extraíbles, comúnmente llamados como extractivos. Estos son depósitos residuales de los procesos fisiológicos que realizan las células.

Procedimiento: se pesaron entre 4g y 8g de buchón triturado, anhidro y se depositaron en un dedal de extracción. El dedal se colocó en un equipo de extracción tipo Soxhlet con una mezcla de alcohol-benceno (1:2 v/v) y se ajustó el calentador de tal forma que la velocidad de evaporación reciclara el solvente 6 veces por hora. Después de 6 horas, el solvente se evaporó a un volumen comprendido entre 20 y 25 ml en un Rotavaporador, posteriormente se transfirió el extracto a un crisol de peso conocido, lavándolo con pequeñas cantidades de solvente fresco. Por último, se secó por 1 hora a 105 ± 3 °C.

Ecuación 4. Determinación porcentaje de extractivos.

$$\%Extractivos = \frac{Pe - Prs}{Pm}$$

Fuente. HONORATO SALAZAR, J. Amador. HERNANDEZ PEREZ, Jorge. Determinación de componentes químicos de la madera de cinco especies de encino del estado de Puebla. 1983, p 83.

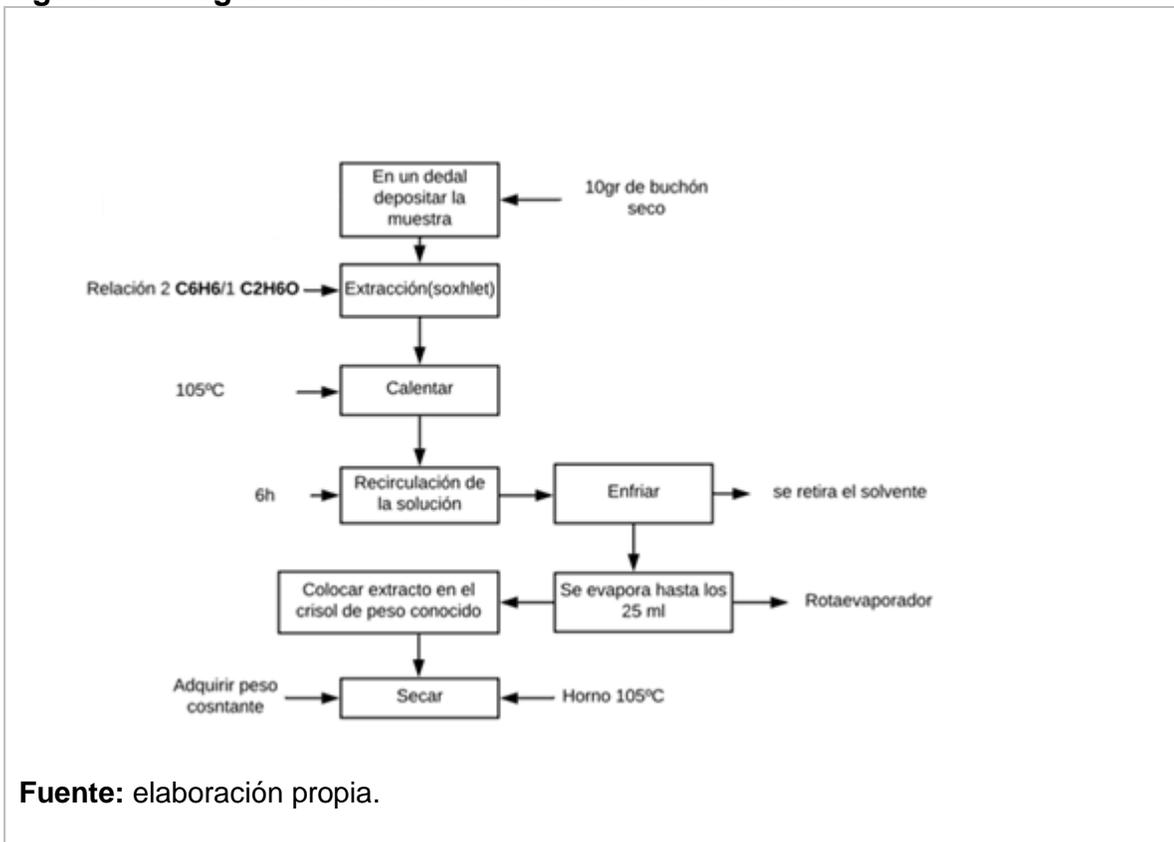
Dónde

Pe: peso anhidro del extracto

Prs: peso anhidro del residuo del solvente

Pm: peso anhidro de la muestra de madera solida

Figura 11. Diagrama de determinación de extractivos.



Fuente: elaboración propia.

Determinación de celulosa. Esta determinación se desarrolló según el método modificado de Kurschner y Hoffer.

Procedimiento: se pesó 1 gramo de buchón anhidro libre de extractos se colocó en un balón esmerilado; se le añadieron 20 ml de etanol y 5 ml de ácido nítrico concentrado. Se hirvió en baño María a reflujo durante 30 minutos usando un condensador de reflujo para mantener la concentración. La solución se pasó por un filtro Gooch de porosidad media y peso conocido. El líquido se desechó y el sólido se sometió a una segunda digestión de 30 minutos con 25 ml de etanol-ácido nítrico.

Por último, se efectuó una tercera digestión con 100 ml de agua destilada por una hora.

La muestra se filtró, se lavó con agua destilada caliente, posteriormente con 100 ml de solución saturada de acetato de sodio y por último con agua destilada caliente. El residuo se secó en un horno a una temperatura de 105 ± 3 °C para luego enfriarlo en un desecador de cristal sobre gel de sílice y pesarlo.

Ecuación 5. Determinación porcentaje de celulosa.

$$\% \text{ de Celulosa} = \frac{Por}{Po} * 100$$

Fuente. BAUTISTA HERNANDEZ, Roberto. HONORATO SALAZAR, José Amador. Composición química de la madera de cuatro especies del género Quercus. 2006, p 30.

Dónde:

Por: peso seco del residuo

Po: peso anhidro de la muestra

Ecuación 6. Corrección determinación porcentaje de celulosa.

$$\% \text{Celulosa total} = \% \text{Celulosa} - \left(1 - \frac{\% \text{extraíbles}}{100} \right)$$

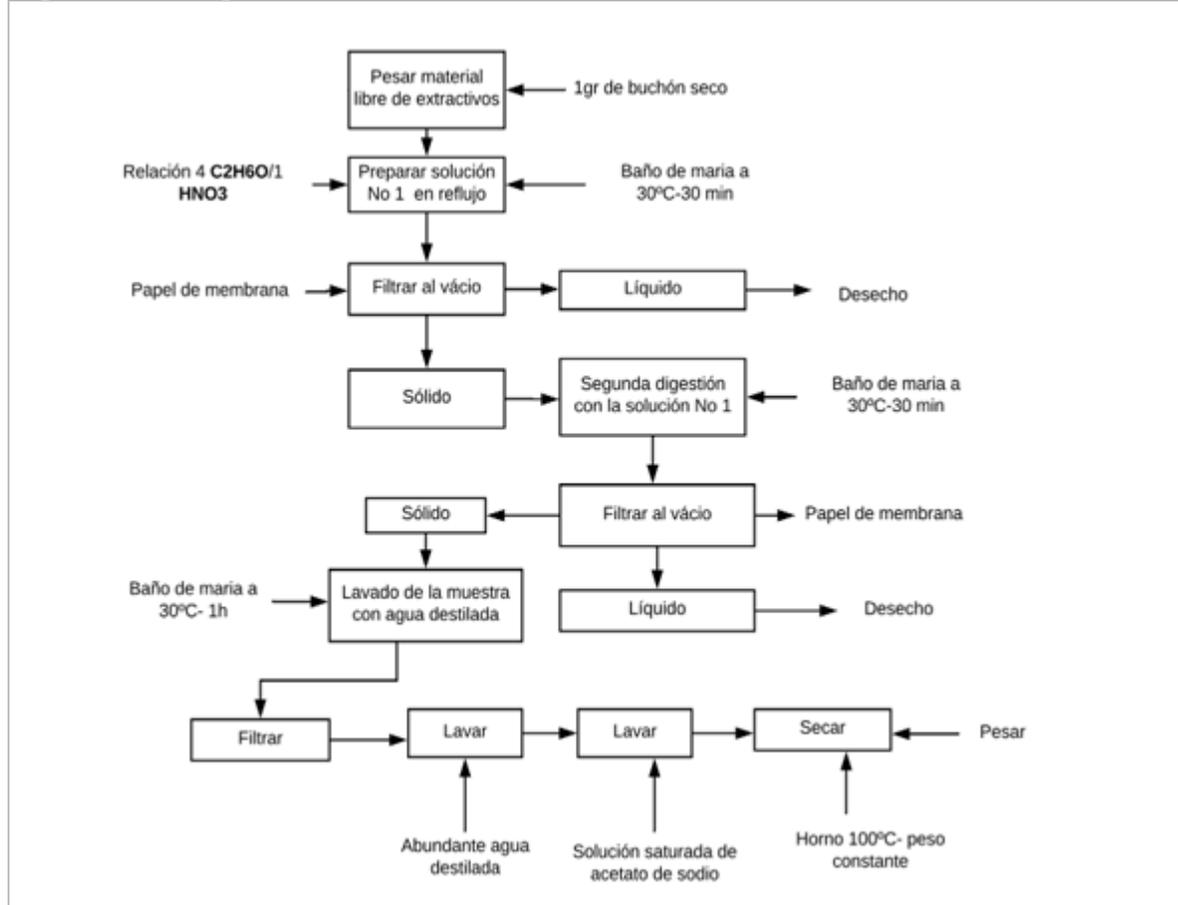
Fuente. ALVARADO ALMANZA, Carlos. HEREDIA, Ulise. Reducción del nivel de lignina en la corteza del eucaliptus urophylla mediante tratamiento térmico. Revista INGENIERIA UC. 2011, vol. 18, p 30.

Dónde:

% Celulosa= Porcentaje de celulosa (Ecuación 5)

% Extraíbles = Porcentaje de extraíbles (Ecuación 4)

Figura 12. Diagrama de determinación de Celulosa.



Fuente: elaboración propia.

Determinación de lignina. Este procedimiento se llevó a cabo teniendo en cuenta la norma TAPPI T222 os-74 para lignina insoluble en ácido.

Procedimiento: Se usan 2g de material libre de extractivos, se agregan 2 ml de H₂SO₄ concentrado. Se mezcla durante 60 min a 30°C en baño María.

Luego se agrega agua destilada para disminuir la concentración del ácido. Esta solución se calienta en una autoclave a 121 °C durante 60 min. Luego se filtra, después de esta operación se obtiene un líquido que corresponde a la lignina soluble y un sólido que se debe lavar con agua destilada para someterla finalmente a un proceso de secado en donde el peso final es la lignina ácido insoluble.

Ecuación 7. Determinación del porcentaje de lignina.

$$\% \text{ lignina} = \frac{x_0}{x} * 100$$

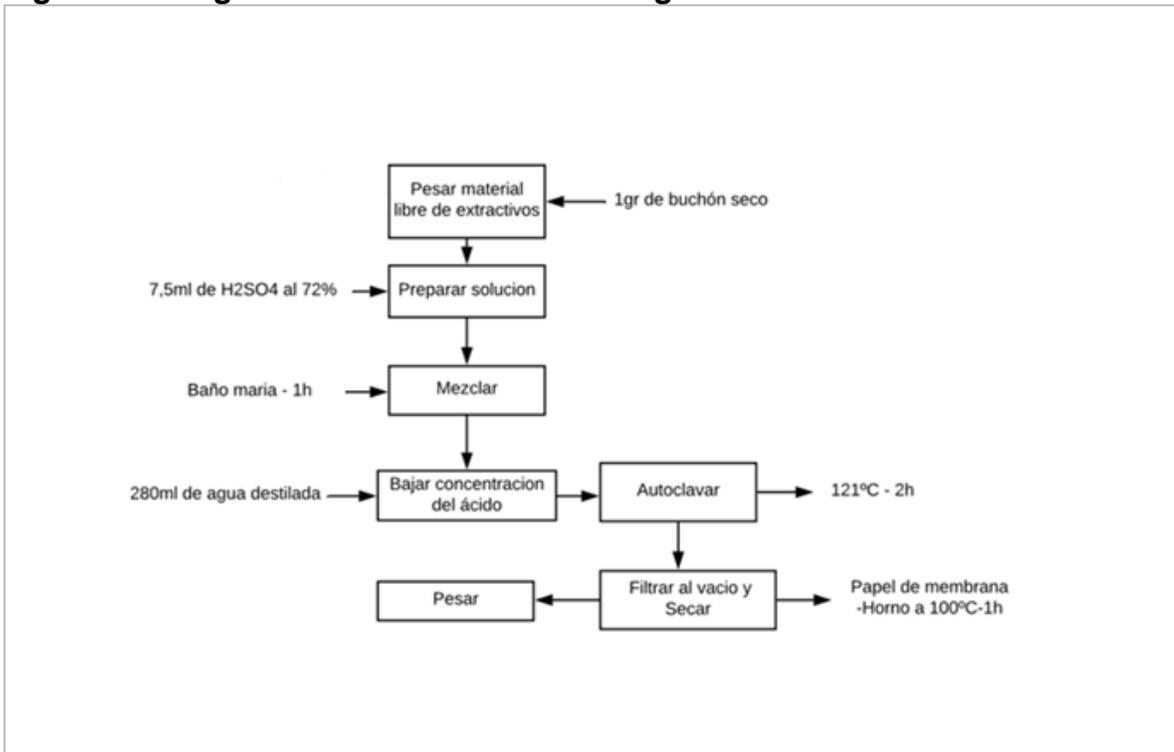
Fuente. TRIANA CARANTON, Cristian. Producción de etanol a partir de residuos provenientes del cultivo de café. 2010, p 23.

Dónde:

x₀: Peso seco de la muestra

x: Peso inicial de la muestra

Figura 13. Diagrama de determinación de lignina.



Fuente: elaboración propia.

2.3 PREPARACIÓN DEL BUCHÓN DE AGUA

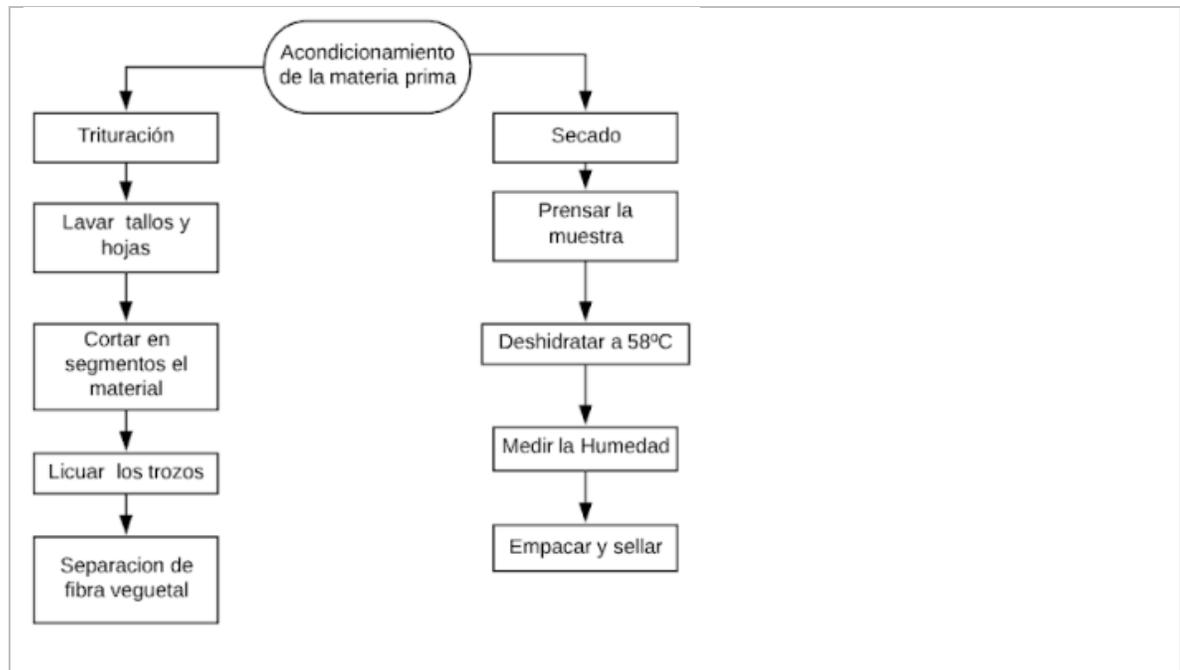
Para poder evaluar cada uno de los métodos es necesario acondicionar la materia prima por medio de un proceso de secado y reducción del tamaño de partícula como se muestra en la figura 9.

2.3.1 Reducción de Partícula. Una vez recolectado y seleccionado el buchón de agua adecuado, se procede a triturar hasta obtener un tamaño de partícula homogéneo inferior a 8 mm; para facilitar el proceso de hidrólisis se recomienda pulverizar la partícula a 5 mm, esto con el fin de aumentar el área de contacto

Al conseguir un contacto uniforme con dicha partícula, se facilita el ataque con el hidróxido de sodio.

2.3.2 Secado. El buchón de agua fue recolectado, lavado y secado a una temperatura de 58 °C durante 2 horas en un deshidratador.

Figura 14. Diagrama de acondicionamiento del buchón de agua.



Fuente: elaboración propia.

2.3.3 Tamizaje Granulométrico. El tamizado es una operación unitaria que permite la separación de sólidos por la diferencia de tamaño de partículas. Este proceso se da por medio de la utilización de mallas y movimientos vibratorios del equipo utilizado, estas mallas difieren entre sí en el tamaño de las aberturas que tiene cada una lo cual permite seleccionar el material que cumpla con la condición de reducción de partícula adecuada.

2.4 OBTENCIÓN DE CELULOSA

Para la obtención de celulosa existen diversos tipos de procesos, como los mencionados en el capítulo 1. Para escoger las metodologías de extracción de celulosa es importante tener en cuenta el tipo de fibra que se desea procesar, ya que de acuerdo a si son duras o blandas, se pueden escoger los procedimientos más eficientes eficaces y efectivos. Las fibras duras son aquellas que proceden de árboles como pinos, coníferas, abetos, etc. Por el contrario, las fibras blandas constituyen un pequeño porcentaje en la elaboración de pulpas para papel, debido

a que no se encuentran presentes en gran cantidad, como lo son las cáscaras de algunos cereales, las semillas de las frutas, tallos de plantas pequeñas, entre otros. Teniendo en cuenta los métodos químicos el que proporciona mayores beneficios económicos es el método a la soda; el cual emplea menor cantidad de materia prima, utiliza un solo reactivo para la digestión que se lleva a cabo y requiere bajas concentraciones del mismo. Además, provee ciertas ventajas debido a que el tiempo máximo de digestión es de 2 horas, el cual es significativamente bajo comparado con métodos que llegan a necesitar hasta 48 horas de digestión.

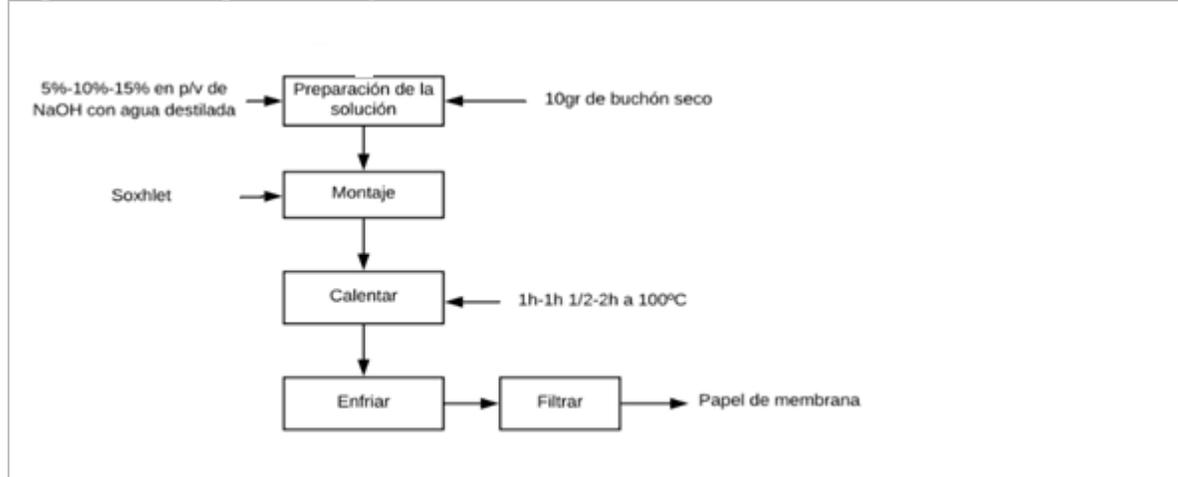
Es importante además tener en cuenta, que, en la actualidad, es de vital interés para el ser humano que en los procesos industriales se comiencen a cerrar los ciclos de utilidad tal y como sucede en los ciclos de la naturaleza, dado que por décadas la industria ha generado bastantes residuos contaminantes que generan múltiples afectaciones a la naturaleza ocasionando el deterioro de nuestro planeta tierra.

Por ello otro de los métodos que se busca evaluar esta investigación, es el método de la hidrólisis enzimática, el cual está dado por medio de un microorganismo que genera una enzima conocida como peroxidasa, esta contribuye con la degradación de la lignina evitando la adición de componentes artificiales lo cual disminuye el impacto ambiental en cuando vertimientos y emisiones propias de los procesos realizados por los métodos químicos convencionales.

2.4.1 Hidrólisis básica. Basados en investigaciones previas desarrolladas como proyecto de grado de la Fundación Universidad de América sobre la extracción de celulosa partiendo de fibras vegetales como lo es la pulpa de la mora y teniendo en cuenta que este método es uno de los más utilizados en la industria para la producción de papel, se deciden establecer las técnicas de cuantificación en peso y relaciones estequiometrias necesarias para la evaluación de la extracción de celulosa usando como materia prima el buchón de agua.

Este proceso es conocido como uno de los procesos alcalinos para la extracción de celulosa, en el cual se usa el hidróxido de sodio como reactivo químico principal. Una vez finaliza el proceso de preparación del buchón de agua se procede a realizar la hidrólisis básica como se evidencia en la figura 15.

Figura 15. Diagrama de proceso de la Hidrólisis básica.



Fuente: elaboración propia.

Del “fundamento del proceso a la soda se conoce que no se producen mayores efectos en el contenido de celulosa obtenida cuando se aumentan los tiempos de residencia durante más de 2 horas”⁵⁴; por lo cual se decide realizar la evaluación de este método planteando tres variaciones de 1 hora, 1 1/2 horas y 2 horas. En cuanto a la concentración de hidróxido de sodio la bibliografía sugiere bajas concentraciones para materiales vegetales de fibras blandas, siendo concentraciones bajas alrededor del 5 % en peso. Para materiales de fibras duras se manejan concentraciones de 15 a 17 % como en el caso de maderas de árboles grandes.⁵⁵ Por esto se consideró que la obtención de celulosa se realizará con las concentraciones de NaOH del 5 %, 10 % y 15 % en peso.

Por otra parte, la bibliografía señala que en la manipulación de fibras blandas a la soda se deben utilizar concentraciones bajas, es decir que no superen un porcentaje del 15% ya que a partir de este se comienzan a tratar fibras duras como es el caso de la madera.

Para efectuar el proceso de hidrólisis básica se realiza un montaje de digestión tipo Soxhlet el cual consta de un condensador de reflujo, un extractor o sifón y un balón esmerilado. Su funcionamiento “consiste en hacer hervir en el balón esmerilado el disolvente con el cual se va a extraer la materia sólida deseada, esta se encuentra en la muestra depositada en el dedal dentro del extractor. Los vapores del disolvente ascienden por el extractor y se condensan en el refrigerante, cayendo gota a gota sobre el dedal, lo que permite que la parte soluble pase por gravedad al balón esmerilado”⁵⁶. Para este proceso se colocan 250ml de solución de hidróxido de

⁵⁴AUSTIN, GEORGE. Manual de Procesos Químicos en la Industria. Mc Graw Hill. 1990

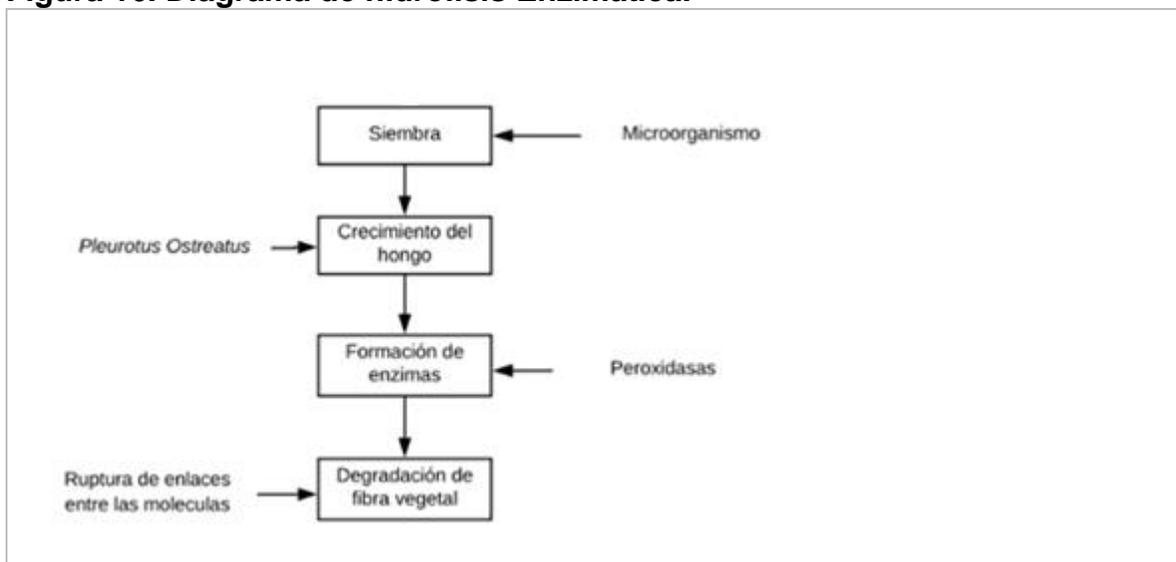
⁵⁵ LIBBY, EARL. Ciencia y tecnología sobre pulpa y papel. Editorial Continental. 1982.

⁵⁶ ENCURED. Extractor de Soxhlet. [en línea]. Consultado el 30 de octubre de 2018. Disponible en internet en < https://www.ecured.cu/Extractor_de_soxhlet>

sodio en un balón esmerilado junto con 10 gramos de buchón de agua, que son depositados dentro del dedal y se comienza el proceso de digestión según los tiempos establecidos.

2.4.2 Hidrólisis enzimática por medio el Hongo *Pleurotus Ostreatus*. Partiendo de la teoría de que los hongos de pudrición blanca son los únicos capaces de degradar completamente la lignina por medio de enzimas como la peroxidasa, se decide establecer un procedimiento utilizando el proceso enzimático del hongo *Pleurotus Ostreatus*; este permitirá evaluar la degradación de lignina en el buchón de agua y comparar la efectividad del proceso respecto al método de hidrólisis básica.

Figura 16. Diagrama de hidrólisis Enzimática.



Fuente: elaboración propia.

2.4.2.1 Métodos de obtención de la cepa del hongo, inoculación y crecimiento.

Para la aplicación de este método se contó con la asesoría del TECNOPARQUE del SENA; entidad que cuenta con un microbiólogo dentro de sus gestores, el cual sugirió y direccionó la metodología adecuada para llevar a cabo el estudio microbiológico.

Obtención de la cepa para replicar. Este procedimiento es una forma sencilla para obtener la cepa y tener una copia igual del hongo para replicar.

En un ambiente de absoluta asepsia, conteniendo los materiales anteriormente esterilizados, se coloca el hongo, el cual deberá estar en buen estado y libre de tierra y/o insectos. El hongo se corta longitudinalmente con una navaja; con la ayuda de unas pinzas estériles y frías, se toman fragmentos del micelio del hongo y se colocan en cajas de Petri con medio de cultivo. Las cajas con los aislamientos se incuban entre 25-28°C, en un ambiente de obscuridad o penumbra; 2 o 3 días después, se observará crecimiento micelial en forma algodonosa sobre la superficie

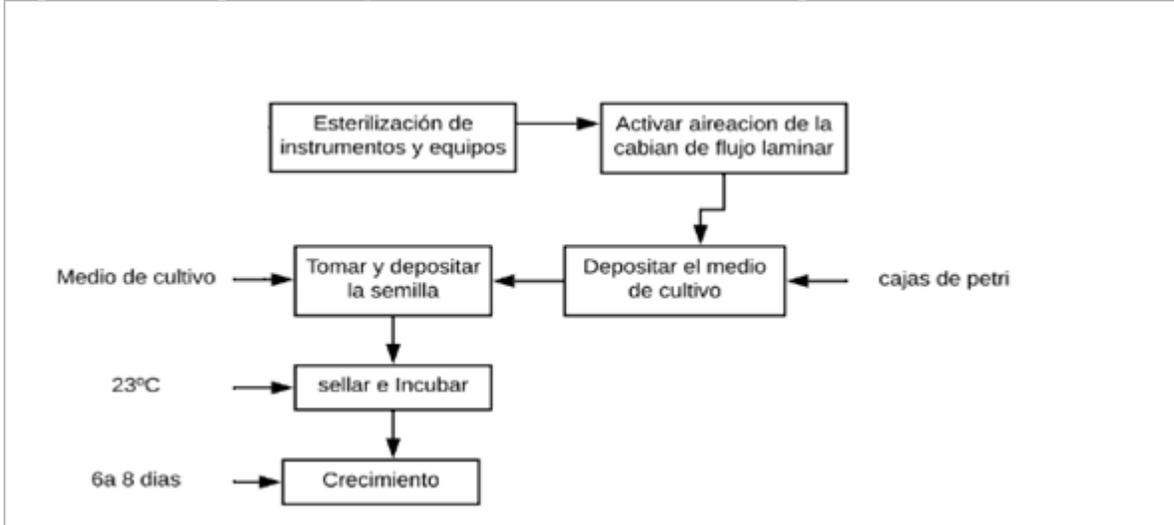
del medio. El color deberá ser blanco o blanco amarillento, lo que indicará que el aislamiento se realizó correctamente. Se deben seleccionar los cultivos con mejor apariencia y transferirse a nuevas cajas con medio de cultivo.

Aislamiento de la cepa por medio de esporas. En este aislamiento, se debe contar con una esporada del hongo; esta se obtiene colocando el sombrero del hongo con las láminas hacia abajo sobre papel estéril por un tiempo de 6 a 8 horas. Con el fin de evitar la contaminación y favorecer un ambiente húmedo para que la descarga de esporas se realice adecuadamente, el hongo y el papel se tapan con un recipiente limpio y también estéril. Pasado el tiempo, se retira el hongo del papel, quedando éste con las esporas contenidas en forma de una huella radial, posteriormente se seca en una incubadora durante 24 horas a 28-30°C.

Cuando se ha obtenido la esporada sobre el papel, con una navaja estéril se corta un pequeño fragmento de aproximadamente 1 cm, el cual se sumerge en 100 ml de agua destilada fría, agitándose para que las esporas se disuelvan en el líquido. De esta dilución, con ayuda de una pipeta, se toman 0.5 ml y se colocan en cajas de Petri con medio de cultivo. La caja se mueve ligeramente para distribuir homogéneamente el agua con las esporas en todo el medio. Las cajas se incuban en las mismas condiciones mencionadas para el aislamiento por tejido y 7 días después, se observará el desarrollo del micelio algodonoso. Se debe tener en cuenta que este proceso se debe realizar en condiciones de esterilidad absoluta.

Obtención por medio de semillas. Este proceso es bastante similar a los dos enunciados anteriormente, con la diferencia que el hongo se puede adquirir aislado en una semilla la cual se activará en el momento que se le proporcionen el medio y condiciones de desarrollo adecuadas para su crecimiento. En este proceso se toma la semilla y se coloca sobre una caja de Petri que contenga el medio de cultivo, se sella y se lleva a un proceso de incubación a 23°C evidenciando el crecimiento algodonoso del micelio a partir del 4 día. Todo esto teniendo en cuenta condiciones de total asepsia.

Figura 17. Diagrama de proceso de Siembra del Hongo *Pleurotus Ostreatus*.



Fuente: elaboración propia.

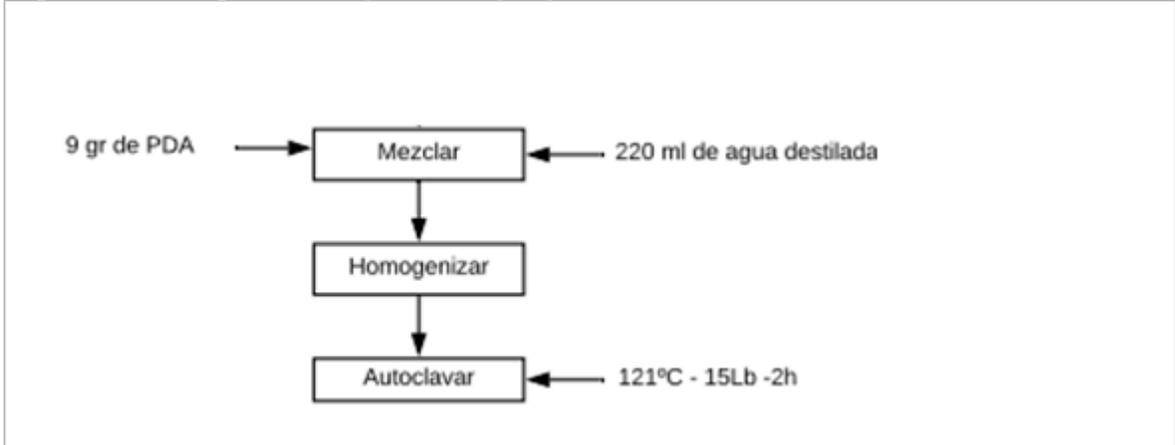
Preparación del medio de cultivo. Para que el hongo se desarrolle adecuadamente en el laboratorio, se emplean medios de cultivo sólidos que le proporcionan los nutrientes necesarios que posibilitan su crecimiento. Los medios de cultivo se venden usualmente en casas comerciales en diferentes presentaciones, como el caso del agar con extracto de malta y el agar con papa y dextrosa, sin embargo, es posible prepararlos.

PDA

Este compuesto es también conocido como agar papa dextrosa y es usado comúnmente como ingrediente fundamental en la preparación de un medio de cultivo para hongos o levaduras, este se puede complementar con ácidos o antibióticos para evitar el crecimiento bacteriano. Usualmente este medio se usa para realizar estudios visuales del crecimiento de hongos como recuento en placa y en estudios relacionados a cosméticos, está compuesto de papa liofilizada y azúcares.

Procedimiento. se toma un Erlenmeyer de 500 ml se siguen las instrucciones de preparación del medio sólido PDA rotulado en la etiqueta del frasco donde se muestra una relación, que dice que por cada litro de agua destilada se debe mezclar con 41 gr de suspensión, siguiendo esta relación matemática se preparan 9 gr de suspensión en 220ml de agua destilada. Finalmente, y después de homogenizar la mezcla se lleva a un proceso de auto clavado a una temperatura de 121°C, 15 lb de presión y 2 horas de duración.

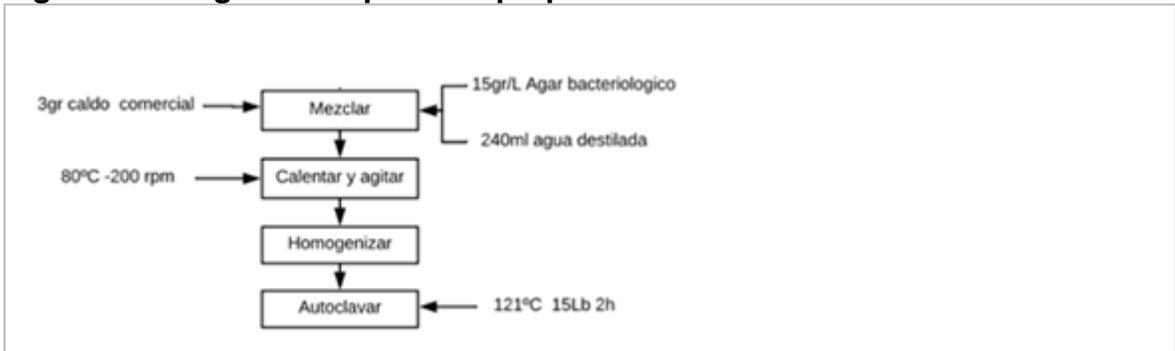
Figura 18. Diagrama de proceso preparación de medio de cultivo PDA.



Fuente: elaboración propia.

Caldo No.1. En un Erlenmeyer de 500 ml se agregan 3g de caldo nutritivo comercial en rocas o deshidratado, se adiciona agar bacteriológico siguiendo las indicaciones expuestas en el rotulo del frasco que indica que por cada litro de agua destilada se preparan 15g de agar, de acuerdo a esta proporción se le agregan a la solución 3,6g de agar bacteriológico en 240ml de agua. Se debe tener en cuenta que esta mezcla se debe realizar en constante calentamiento y agitación. Por último, se introduce buchón de agua y se realiza un proceso de auto clavado según las condiciones anteriormente mencionadas.

Figura 19. Diagrama de proceso preparación de medio de cultivo Caldo No.1.

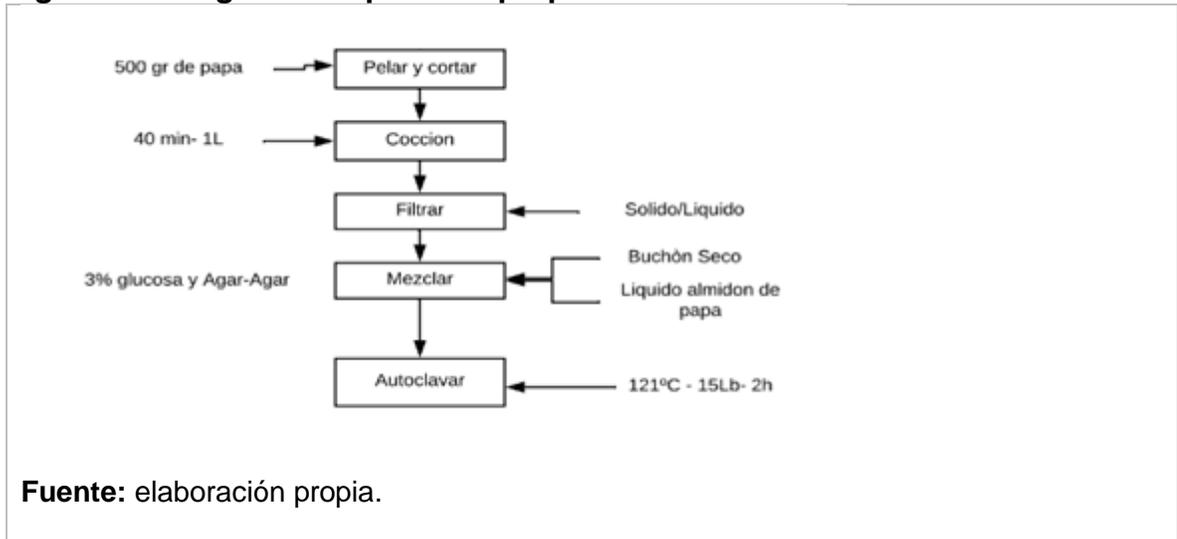


Fuente: elaboración propia.

Caldo No.2. Como primera medida se debe lavar y pelar 1libra de papa, se introduce en un Beaker de 2 litros con suficiente agua buscando que esta sobrepase el nivel de la papa y se lleva a cocinar a una temperatura moderada. Durante su cocción se debe agitar hasta que la papa se ablande, enseguida se debe realizar un puré con la papa con el objetivo de que expulse el almidón a una temperatura mayor de los 80°C. La suspensión se filtra para obtener el caldo.

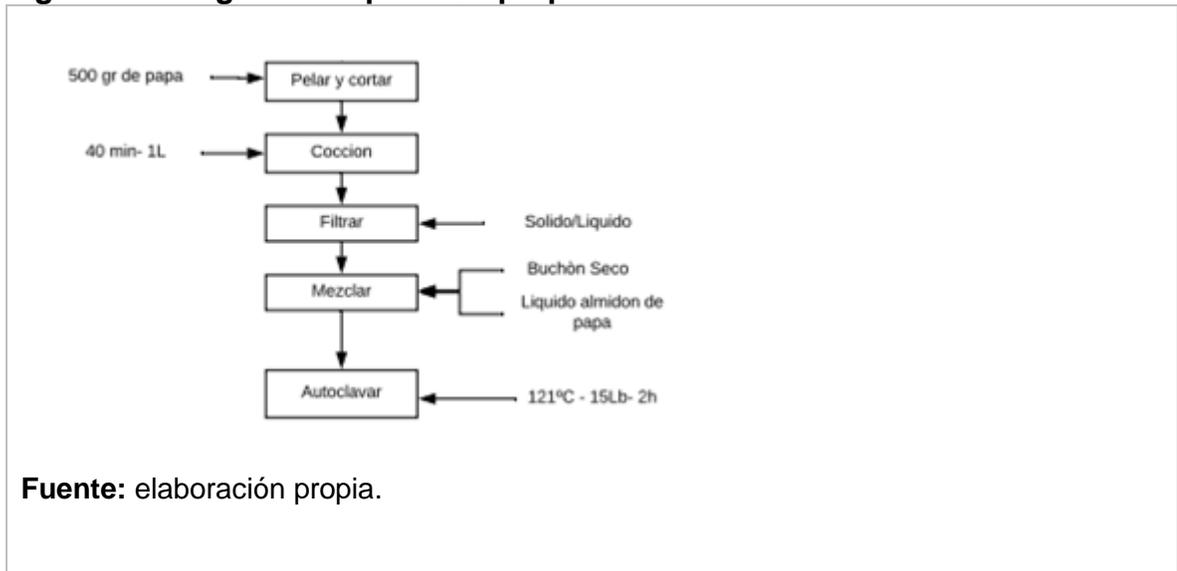
Se adiciona el 3% de glucosa y de agar-agar en peso en relación a la cantidad de caldo nutritivo a preparar y finalmente se introduce buchón de agua, se agita constantemente y se introduce en un proceso de auto clavado a 121°C y 15 lb de presión por un periodo de 2 horas.

Figura 20. Diagrama de proceso preparación de medio de cultivo Caldo No.2.



Caldo No.3. En la preparación de este medio de cultivo se siguieron las mismas indicaciones que se ejecutaron en la preparación del caldo 2, con la diferencia que este no contiene glucosa.

Figura 21. Diagrama de proceso preparación de medio de cultivo Caldo No.3.

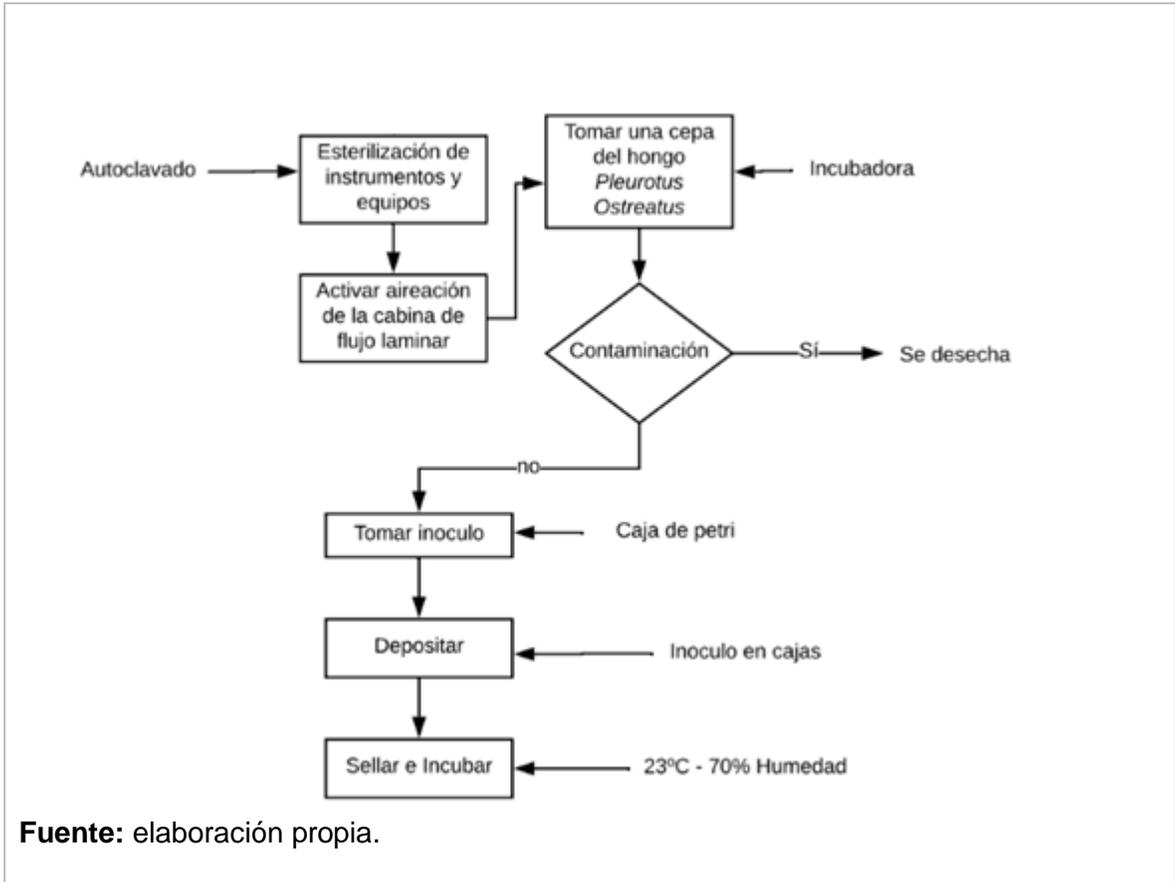


Replicación. En este proceso también es importante tener en cuenta la asepsia al momento de replicar el hongo, por lo cual se debe realizar el proceso de esterilización de cada uno de los elementos a utilizar como se especificó en los procedimientos de siembra. Realmente el proceso de replicación es muy similar a la siembra solo que en este proceso en vez de sembrar la semilla para producir la cepa del hongo *Pleurotus Ostreatus*, se toma una de las cepas obtenidas en el proceso de siembra observando que esta se encuentre en un crecimiento óptimo y libre de contaminación.

Asimismo se repite el protocolo de siembra usando la cepa seleccionada ,esta se destapa en la cabina y con un asa circular previamente esterilizado se procede a hacer agujeros alrededor del borde de la caja de Petri con el objetivo de tomar trozos del micelio joven del hongo y con ayuda del asa o de unas pinzas estériles y frías, se hace esta aclaración dado que si los instrumentos están calientes el hongo al ser un microorganismo sensible a la temperatura se podría morir y al sembrarlos no se observe crecimiento de este; Tomando en cuenta la especificación dada después se deposita cada trozo en la parte central de cada una de las cajas donde contienen un medio de cultivo que les proporcionara los nutrientes necesarios para que este crezca y así se logre la replicación deseada, obteniendo una copia idéntica de la cepa del hongo *Pleurotus Ostreatus*.

Finalmente se introducen a la incubadora a las mismas condiciones del proceso de siembra, con el propósito de realizar una observación del crecimiento de este al transcurrir el tiempo.

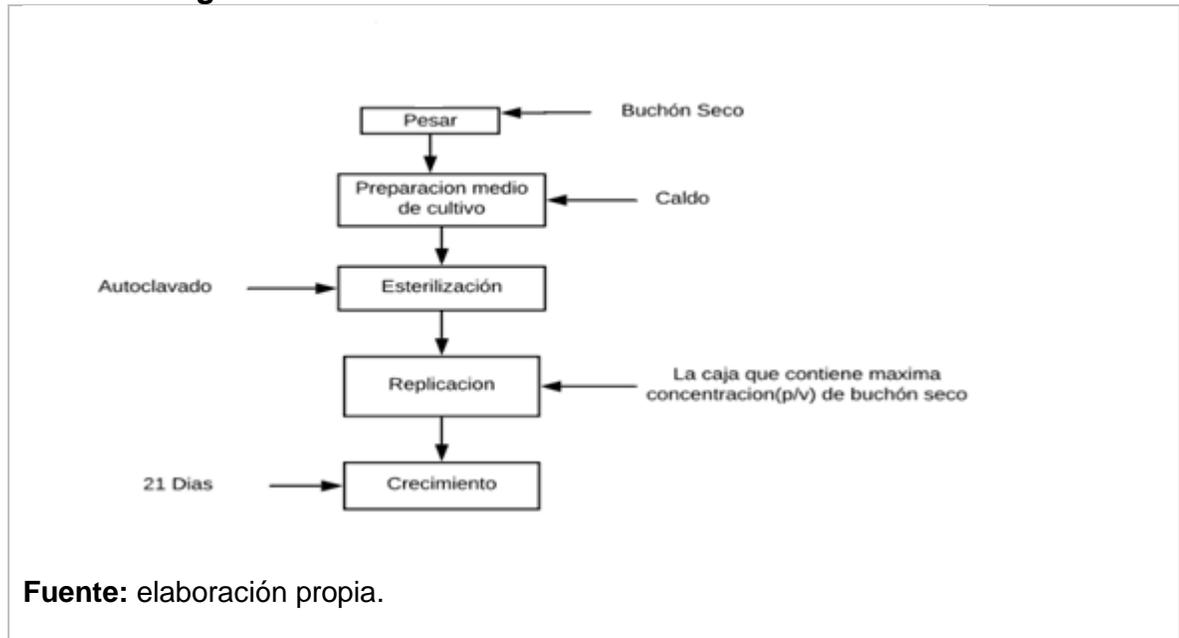
Figura 22. Diagrama de Proceso de Replicación del Hongo *Pleurotus Ostreatus*.



Fuente: elaboración propia.

Adición del inocular al buchón. Una vez se seleccionan los medios de cultivo a evaluar y se evidencia un crecimiento adecuado del hongo se procede a realizar la inoculación desde las cajas de Petri con mayor concentración en peso de buchón, hacia dos recipientes más grandes, con el propósito de comenzar el proceso de obtención de celulosa.

Figura 23. Diagrama de Proceso de Adición del Hongo *Pleurotus Ostreatus* al buchón de agua



Fuente: elaboración propia.

Procedimiento. Se pesa la cantidad de buchón necesario para la evaluación, se realizan los respectivos caldos, y se procede a esterilizar como se mencionó en el proceso de siembra. Inmediatamente termina el proceso de esterilización se procede a realizar una réplica teniendo en cuenta las condiciones de asepsia necesarias para evitar la contaminación de los recipientes; por último, se sellan los recipientes con su respectivas tapas y papel vinipel para introducirlos posteriormente a la incubadora por un tiempo de 21 días.

Condiciones de operación. Las condiciones de operación permiten establecer los parámetros básicos para el crecimiento y desarrollo óptimo del hongo *Pleurotus Ostreatus*, teniendo en cuenta los factores que pueden retrasar o inactivar su metabolismo como el pH, la temperatura, la humedad y el tipo de semilla.

- ❖ **pH.** El pH es una condición física que genera inestabilidad en el crecimiento de los hongos *Pleurotus*, por esto está determinado que el rango para su desarrollo es entre 5.5 y 7.53.⁵⁷

Se verificó bibliográficamente el pH de los medios proporcionados, siendo la papa el componente mayoritario de estos se puede decir que se en el medio adecuado

⁵⁷ ALBARRACION CALDERON, Luis Carlos. MARTINEZ NIETO, Patricia. RODRÍGUEZ BORRAY, Gonzalo. Suplementación para bovinos de carne a partir del enriquecimiento proteico del bagazo de caña por acción del hongo *Pleurotus Ostreatus*. 2011, p 13. Disponible en: <http://corpomail.corpoica.org.co/BACFILES/BACDIGITAL/56688/56688.pdf>

ya que “Las papas, como la mayoría de los vegetales, tienen un bajo contenido ácido y tienen un valor de pH de 6.1”⁵⁸

- ❖ **Temperatura.** La temperatura es una condición susceptible en el desarrollo de los hongos al momento de cultivarlos. En el *Pleurotus Ostreatus* el micelio puede crecer en una temperatura entre 0 y 35 °C con temperatura óptima de 20 a 26 °C⁵⁹
- ❖ **Humedad.** Cuando se habla de humedad es importante tener en cuenta la cantidad de agua disponible, existente en el ambiente y en los sustratos ya que esta permite el desarrollo de los hongos.

El término más relevante es la humedad relativa que está definida como la cantidad de humedad de la que disponen los microorganismos del medio ambiente que los rodea⁶⁰. Es necesario que la temperatura en el sitio de incubación permanezca de 23 a 24°C y el área de incubación debe ser un lugar oscuro fresco y cerrado, con el fin de mantener una humedad relativa del 70-80%.⁶¹

- ❖ **Tipo de semilla.** El tipo de semilla es fundamental en el crecimiento del hongo debido a que esta forma la expansión de masa de micelio que permite potenciar metabólicamente al hongo en sus condiciones ideales, posibilitando un crecimiento eficiente en los sustratos de producción.

La función de la semilla es resguardar el hongo, cumpliendo el papel de una incubadora de nutrientes con el fin de preservarlo y que una vez se tengan las condiciones óptimas de crecimiento, este pueda crecer y desarrollarse.

2.4.3 Cuantificación. Teniendo en cuenta que, en el proceso de hidrólisis básica, se obtiene la pasta de fibra celulósica debido al ataque con un agente químico alcalino como lo es el hidróxido de sodio, su cuantificación se puede hacer directamente por peso aplicando la ecuación número 5 correspondiente al porcentaje de celulosa. Por otra parte, en el proceso enzimático del Hongo *Pleurotus*

⁵⁸ MUY FITNESS.” ¿son las papas acidas o alcalinas?”. Disponible en Internet:<https://muyfitness.com/son-las-papas-acidas-o-alcalinas_13171399/>

⁵⁹ CULTIVO DE SETAS.” Setas comestibles. Disponible en internet:<<http://www.cultivodesetas.es/setas-comestibles/como-cultivar-setas-pleurotus-ostreatus>>

⁶⁰GIMENO, Alberto. Principales factores condicionantes para el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas (2-5). MICOTOXINAS. Publicado el 04 de mayo de 2002. Párr.2-3. [Consultado el 24 de octubre de 2018]. Disponible en internet:<<https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/principales-factores-condicionantes-desarrollo-t26065.htm>>

⁶¹ HERNÁNDEZ CORREDOR, Ricardo Alfredo y LÓPEZ RODRÍGUEZ, Claudia Liliana. Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus Ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Microbiología Industrial. P.32.

Ostreatus debido a la presencia de biomasa es necesario en primera instancia retirar la biomasa mediante un proceso de auto clavado y posteriormente usar la fibra en una nueva caracterización como se llevó a cabo en la determinación de celulosa de acuerdo con la técnica mencionada en el numeral 2.2 y realizar los cálculos de acuerdo con la ecuación mencionada. Por último, se compara el resultado de celulosa obtenida respecto al de la caracterización realizada.

2.5 DISEÑO DE EXPERIMENTOS

Partiendo de la naturaleza de los fenómenos estudiados, es posible analizar los factores que influyen de forma directa en los resultados que se desean obtener respecto a cada uno de los métodos aplicados en la investigación, por ello es importante evaluar la posibilidad de realizar un diseño de experimentos que permita obtener las condiciones ideales en los procedimientos.

2.5.1. Proceso enzimático del hongo *Pleurotus Ostreatus*. Debido a que este proceso se va a tratar con un solo tipo de materia prima como lo es el buchón de agua y que se conocen las condiciones óptimas de crecimiento del hongo, pH, temperatura y humedad; condiciones que van fijas en el procedimiento de obtención de celulosa debido a que la variación de cualquiera de estos parámetros podría generar situaciones de estrés en el hongo produciendo quizás algún metabolito indeseado y posiblemente impidiendo la producción de la enzima de interés que en este caso es la peroxidasa; por ello se considera que no existe la necesidad de realizar algún tipo de diseño en esta evaluación.

2.5.2. Hidrólisis Básica. Partiendo del comportamiento de las variables que tienen incidencia en el contenido de celulosa, se tiene en cuenta un diseño de experimentos con el fin de establecer de qué forma afectan el tiempo y la concentración de NaOH la obtención de celulosa partiendo del buchón de agua cuando se efectúa la digestión.

Para establecer una estrategia experimental es necesario definir cuáles son las variables independientes además de la variable respuesta que significa la finalidad de la experimentación y por lo tanto son los valores medidos en cada una de las corridas. “Las variables independientes y de respuesta pueden ser de diferentes tipos: continua, discontinua y categórica. Las variables continuas son aquellas en las que la información se produce sin interrupción y siempre afectará de la misma manera. Las variables categóricas son aquellas en las que la información que se encuentra se repite de tiempo en tiempo en periodos regulares, es decir, que para unos datos puede llegar a afectar la variable y para otros no. Las variables discontinuas son aquellas que proporcionan una información valedera ocasional, este tipo de datos se dan eventualmente, y por lo tanto, depende de otras circunstancias para que se presente la misma situación”.⁶²

⁶² MARTINEZ BENCARDINO, CIRO. Estadística y Muestreo. ECOE Ediciones. 2000.

Para un buen análisis de los datos es importante además plantear las hipótesis correspondientes para cada uno de los factores, las cuales permiten determinar si la concentración y/o el tiempo influyen en el proceso de obtención de celulosa.

- ❖ **Hipótesis Nula:** Indica que no existe una relación entre la concentración de NaOH y el tiempo de reacción en la obtención de celulosa.
- ❖ **Hipótesis Alternativa:** Indica que existe una relación entre la concentración de NaOH y el tiempo de reacción en la obtención de celulosa.

Teniendo en cuenta las hipótesis se plantean las siguientes variables:

- ❖ **Variables controladas:** Temperatura (92°C), Presión atmosférica de la ciudad de Bogotá (560 atm).
- ❖ **Variables independientes:** Como variables se tienen la concentración de hidróxido de sodio con niveles de 5%,10%,15% y el tiempo de digestión con niveles de 1 hora, 1½ hora y media y 2 horas.
- ❖ **Variable respuesta:** La Variable respuesta corresponde al porcentaje de celulosa obtenido.

Las variables independientes y la variable de respuesta proporcionadas en esta investigación son catalogadas como variables continuas ya que estas se producen sin interrupción y afectan siempre de la misma forma.

Los efectos del tiempo de digestión respecto a las concentraciones de NaOH que permiten evaluar el contenido de celulosa obtenido, se verificaron por medio de la siguiente matriz:

Tabla 4. Matriz de experimentos para obtención de celulosa.

Concentración / Tiempo	1 hora	1 1/2 horas	2 horas
5% de NaOH			
10% de NaOH			
15% de NaOH			

Fuente: elaboración propia.

Teniendo en cuenta que se tienen dos factores y tres niveles, se consideró el diseño factorial 3² con replicas completas, dando como resultado la realización de 27 experimentos.

En la bibliografía se menciona bajas concentraciones para materiales vegetales de fibras blandas, siendo concentraciones bajas alrededor del 5 % en peso. Para materiales de fibras duras se manejan concentraciones de 15 a 17 % como en el caso de maderas de árboles grandes.⁶³ Por esto se consideró que la obtención de

⁶³ LIBBY, EARL. Ciencia y tecnología sobre pulpa y papel. Editorial Continental. 1982.

celulosa se realizará con las concentraciones de NaOH del 5 %, 10 % y 15 % en peso como uso de intervalos intermedios y de igual proporción para la evaluación. Se determinó que el tiempo de digestión deberá ser menor de 2 horas, planteando tres variaciones de 1 hora, 1 1/2 horas y 2 horas debido a que el fundamento del proceso a la soda menciona que no se producen mayores efectos en el contenido de celulosa obtenido cuando se aumentan los tiempos de residencia durante más de 2 horas.⁶⁴

⁶⁴ AUSTIN, GEORGE. Manual de Procesos Químicos en la Industria. Mc Graw Hill. 1990

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

En este capítulo se evidencian los resultados obtenidos en la caracterización del buchón de agua y en cada uno de los métodos, tanto hidrólisis básica como enzimática. Se presentan además los respectivos desarrollos experimentales preliminares, los cuales permitieron establecer algunos parámetros para llevar a cabo de forma eficiente la experimentación.

3.1 RECOLECCIÓN DEL BUCHÓN DE AGUA

El proceso de recolección se realizó en el humedal Gualí, se buscó un lugar donde se pudiera observar una gran cantidad del material flotando en las orillas del riachuelo y previniendo cualquier tipo de accidente se mantuvieron las medidas de precaución respecto a las condiciones del terreno, que no fuera frágil o que la cantidad de arbusto a su alrededor fuera firme, para así mismo poder llegar hasta un punto cercano a la orilla.

Con ayuda de un instrumento fabricado con una varilla de acero argollado con una diadema de tubo de PVC y una malla, facilito que por medio de una acción mecánica de palanca se lograra extraer la planta del cuerpo de agua, esto se realizó el día 24 de junio del presente año en las horas de la tarde, se extrajeron aproximadamente 2 kg de material. Al ser una cantidad pequeña fue fácil de transportar; al procesar el material se observó que no era suficiente para los estudios a realizar, por lo cual se decidió realizar una nueva recolección en masa logrando extraer del humedal 90kg de materia prima que fue transportada en un platón desde el humedal hasta las instalaciones de la empresa Kanance Ingeniería S.A.S. Todo el procedimiento se realizó a la temperatura ambiente que registraba ese día en la ciudad de Mosquera es decir 15°C.

Figura 24. 90 Kg de muestra recolectada.



Fuente: elaboración propia.

3.1.1 Selección de materia prima. Se realizó una primera toma de muestra del humedal el Gualí donde se tomaron datos como fue las medidas de longitud respecto al tallo, hoja y raíz y el peso total de cada planta mostrada en la tabla N 7. según la revisión bibliográfica ⁶⁵ Juárez dice que esta clasificación se deduce al grado de madurez de la planta que se divide en 3 etapas la primera etapa es cuando la planta es joven su tallo puede medir entre 30 y 35 cm de longitud y sus hojas entre 5 y 6 cm y se estima que tiene aproximadamente 4 meses de edad , la segunda etapa o mediana su tallo es más robusto y mide aproximadamente entre 40 y 45cm de longitud y sus hojas de 8 a 10cm y se estima que tiene 7 meses de edad y finalmente la tercera etapa es cuando la planta alcanza su madurez cuando su tallo es robusto y alargado y mide alrededor de los 60 a 70 cm de largo y sus hojas entre los 12 y 15cm de longitud y esta madurez es alcanzada aproximadamente cuando el buchón tiene 11 meses de edad, con relación a esto los datos obtenidos en la tabla N 7 y considerando la morfología de crecimiento exponencial que posee esta planta se puede afirmar que la muestra aleatoria que se tomó de los 73 kg de buchón de agua extraídos del humedal era joven.

⁶⁵JUAREZ LUNA, Gregorio; Cambios en la composición del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) debidos a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica.Mexico.Universidad: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, 2011.p.30.

Tabla 5. Medidas de muestra aleatoria del buchón de agua

Planta completa					
Muestra	Tallo (mm)	Raiz (mm)	Peso total (g)	Hojas(mm)	
1	230	35	126,4	65	
2	200	45	55,5	53	
3	200	35	51,5	42	
4	230,5	40	114,1	58	
5	240	30	55	63	
6	223	38	126,5	54	
7	160,5	40	39,6	46	
8	140	30	27,2	49	
9	250	60	96,3	62	
10	190	50	61,5	47	
11	150	110	89,4	52	
12	280	42	112	61	
13	170	40	42,1	52	
14	270	90	268,4	58	
15	170	90	62,6	53	
16	180	40	44,5	58	
17	330	140	182,1	63	
Suma	3614,000	955,000	1554,700	936	
Promedio	212,588	56,176	91,453	55,0588235	
	Peso total de Raices (g)		222,5		
	Peso Muestra Total Sin Raiz (g)		1332,200		
	Peso Muestra Triturada (g)		623,4		
	Peso Muestra Deshidrata 11 horas a 58°C (g)		39,8		

Fuente: elaboración propia.

Se efectuó una recolecta de 90kg pero solo se contempló que estaba en buen estado 73kg debido a las consideraciones expuestas anteriormente incluso se consideró el material en estado de descomposición o que percibe la presencia de insectos o gusanos y finalmente en el proceso de selección se debe tener claro que el materia de fibra vegetal útil son solo tallos y hojas lo que significa que se debe eliminar la raíz debido a que al estar en contacto íntimo con los cuerpos de agua según la morfología de la planta esta tiene la capacidad de absorber diferentes compuestos de su entorno entre ellos y en gran proporción metales pesados este detalle es de gran importancia debido a que la presencia de estos metales en los procesos se consideran contaminantes ambientales nocivos. Además, la raíz es un indicador de la posible edad del buchón ya que este si es de color claro y corta se puede asumir que es joven y que la carga de contaminación adsorbida en su proceso natural es baja cosa contraria si es de color negra deduce que la carga de contaminación es bastante alta.

Tabla 6. Cantidad de materia prima recolectada y seleccionada

<i>buchón de agua recolectado</i>	90 kg	
<i>buchón de agua seleccionado</i>	73	Kg
<i>Raíces y material en mal estado del material seleccionado</i>	31,3	Kg
<i>Tallos y hojas (fibra vegetal) para analizar</i>	41,7	Kg

Fuente: elaboración propia.

3.2 CARACTERIZACIÓN DEL BUCHÓN DE AGUA

El buchón de agua procedente del Humedal del Gualí fue sometido a una caracterización fisicoquímica en las instalaciones de Tecnoparque del SENA teniendo en cuenta las técnicas especificadas en el numeral 2.2. Esta caracterización se efectuó con el fin de conocer la composición de la materia prima a trabajar. De acuerdo con la metodología realizada se obtienen los resultados consignados en la tabla.

Tabla 7. Caracterización del Buchón de agua.

Parámetro	Porcentaje en la Biomasa
%sólidos volátiles	55,16
% Extractivos	18,243
%Humedad	89,3
%cenizas	12,38
%Lignina	7,81
%celulosa	32,4

Fuente: elaboración propia.

3.2.1 Caracterización física. A continuación, se evidencian los resultados correspondientes a la caracterización física del buchón de agua; humedad, cenizas y sólidos volátiles teniendo en cuenta que para obtener resultados con mayor exactitud se deben descargar previamente las capsulas y posteriormente realizar el procedimiento de acuerdo con las técnicas mencionadas en el capítulo 2.

Cada uno de los procedimientos contó con 6 réplicas, que permitieron establecer el valor promedio para cada uno de los parámetros caracterizados.

Tabla 8. Determinación de Humedad.

Humedad	Po	Pf	po-pf
1	27,66	26,8115	0,8485
2	31,24	30,3391	0,9009
3	21,3	20,3489	0,9511
4	20,34	19,4504	0,8896
5	29,78	28,8915	0,8885
6	20,36	19,4806	0,8794
Suma			5,358
Humedad			0,893

Fuente: elaboración propia.

Tabla 9 Determinación de Cenizas.

CENIZAS	
1	0,0997
2	0,1105
3	0,1372
4	0,1253
5	0,13
6	0,14
PROMEDIO	0,12378333 3

Fuente: elaboración propia.

Tabla 10. Determinación de Sólidos Volátiles.

Sólidos volátiles	P(100°C)	P(500°C)	P(100)- P(500)
1	26,8115	25,7497	1,0618
2	30,3391	29,3305	1,0086
3	20,3489	19,3972	0,9517
4	19,4504	18,4453	1,0051
5	28,8915	27,32	1,5715
6	19,4806	18,46	1,0206
SUMA			6,6193
SOLIDOS			1,10321666
%Sólidos			7 55,1608333 3

Fuente: elaboración propia.

3.2.2 Caracterización química. Esta caracterización se llevó a cabo según las técnicas y ecuaciones mencionadas en el numeral 2.2.2; logrando obtener porcentaje de extractivos, celulosa y lignina como se muestra en la tabla N 11.

Tabla 11. Resultados caracterización química del buchón de agua.

Parámetros	Buchón de agua
% Extractivos	18,243
%Lignina	7,81
%celulosa	32,4
% Agua	41,57

Fuente: elaboración propia.

De la caracterización se evidencia que existe una relación directa entre los procesos realizados a nivel de laboratorio y los autores mencionados en el numeral 1.1 además de los autores presentados en la tabla número 3 los cuales establecen porcentajes similares de celulosa y lignina contenidos en el buchón de agua.

3.3 PREPARACIÓN DEL BUCHÓN DE AGUA

En la preparación de la materia prima se tuvieron en cuenta principalmente dos aspectos, como lo son el secado y la trituration, los cuales facilitan cada uno de los procesos a implementar, incrementando el área de contacto.

3.3.1 Reducción de Partícula. Como primera medida se tomó cada una de las plantas se lavaron y se dividieron en tallos hojas y raíz en bolsas por separado de tal manera que la raíz como no se iba tomar en cuenta en el estudio por factores descritos anteriormente se considera un desecho del proceso, después con la ayuda de un bisturí se toma los tallos y se cortan en segmentos ligeramente pequeños de igual manera las hojas, esto con el fin de prevenir que al ser un material fibroso se atasque en las cuchillas de la licuadora facilitando el proceso de trituration. El recipiente de la licuadora era aproximadamente de 1 litro de capacidad entonces se le agrego 500 ml de agua y una cantidad considerable de muestra y se puso a licuar a velocidad media durante 2 minutos para evitar que el fusible se quemara y que el motor se recalentara dejando descansar el equipo por lapsos de tiempo. Después se saca el contenido de la licuadora pasándola por un colador para separar la fase liquida de la fibra vegetal de buchón licuada.

3.3.2 Secado. En este proceso se intentó disminuir al máximo la cantidad de recursos de energía a emplear respecto a temperatura de operación y energía suministrada al proceso. Como primera medida se introdujo el buchón licuado a un horno casero que opero durante 11 horas a una temperatura de 58 °C con la finalidad

de eliminar el agua presente en la muestra y poder determinar su humedad, debido a que este proceso su tiempo de duración era bastante largo se tomó una muestra del buchón licuado aproximadamente de 200g se envolvió en tela y se introdujo en un recipiente metálico para pasarlo por una prensa hidráulica logrando así eliminar por presión mecánica aproximadamente el 68% de agua presente en la muestra ,esta es llevada a un deshidratador extractor a la misma temperatura del horno mencionado anteriormente logrando reducir el proceso de secado a 2 horas.

Finalmente, la muestra seca se pasa por una serie de tamices logrando determinar un tamaño de partícula homogéneo y pequeño inferior a 10mm esto se realiza con el fin de que en los procesos de hidrolisis se asegure una mayor área de contacto entre el reactivo y la muestra y sea un proceso más efectivo, por último, se verifica que el material este seco para empacarlo y proceder con las metodologías experimentales llevadas a cabo en el laboratorio. Se debe considerar que ⁶⁶en el proceso de secado a la temperatura de 60 °C de acuerdo con la bibliografía se debe mantener un porcentaje de humedad inferior al 13% para evitar la aparición de microorganismos en procesos de deshidratación y logrando que no haya injerencia por degradación en los diferentes componentes presentes en la materia prima.

3.3.3 Tamizaje. Se realizó un muestreo teniendo en cuenta la técnica mencionada en el numeral 2.3.3 para ello se tomaron 3,5kg de buchón de agua para tamizar, se seleccionó una serie de 5 tamices de acuerdo con la inspección visual del material; se colocaron los tamices en orden incluyendo el fondo, se adiciono la muestra al primer tamiz, se colocó la tapa y se efectuó el tamizado por 5 minutos.

Una vez finalizado el tamizado se verifica el tamaño de partícula obtenido de acuerdo con el ítem 2.3.1 mencionado en el proyecto y se observa que no existe acumulación excesiva del material en la primer o última malla por lo cual se procede a pesar el material de cada tamiz.

3.4 OBTENCIÓN DE CELULOSA

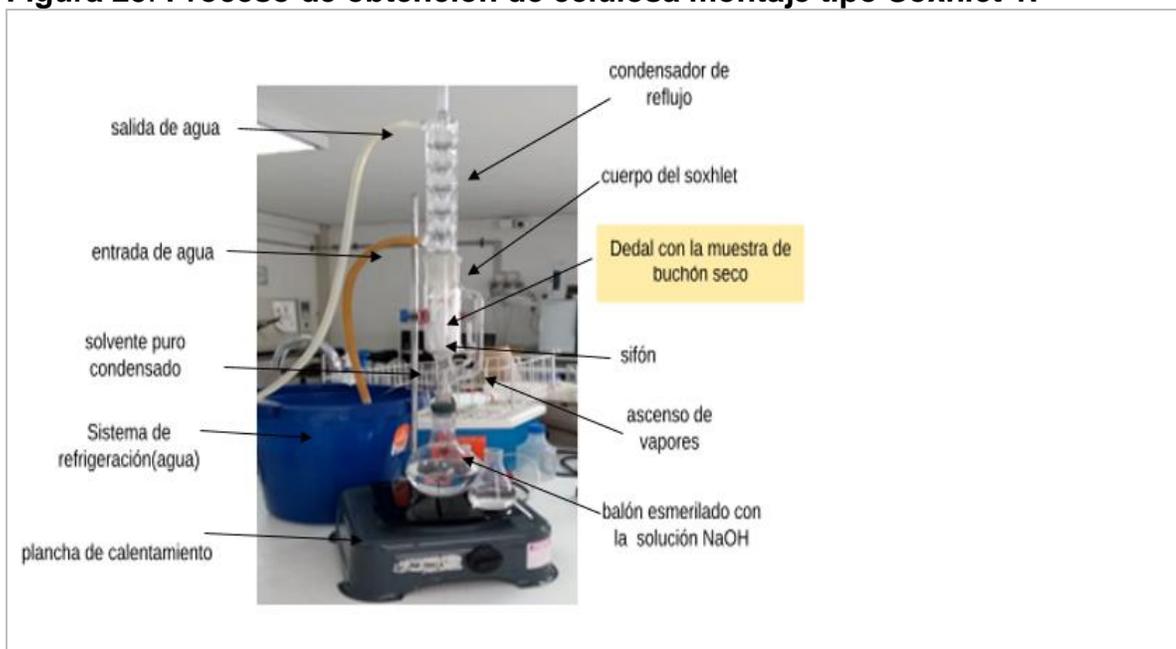
Una vez se obtuvo el material triturado y seco se procedió a establecer las condiciones de obtención de celulosa por medio de la hidrolisis básica y enzimática. La experimentación de las etapas 3 y 4 del proyecto se llevaron a cabo en las instalaciones de Tecnoparque – SENA- Nodo Bogotá.

⁶⁶ JUAREZ LUNA, Gregorio; Cambios en la composición del lirio acuático(*Eichhornia crassipes*) debidos a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica.Mexico.Universidad: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biologicas,2011.p.37-38.

3.4.1 Hidrólisis básica. Para dar inicio a la experimentación basada en hidróxido de sodio, fue necesario realizar un desarrollo experimental preliminar debido a que en la literatura se encontraban rangos de concentraciones para las titulaciones mas no porcentajes exactos, por otra parte se realizó la experimentación para la determinación del montaje que permitía el ataque más efectivo de la materia prima y por último se procedió a realizar la hidrólisis teniendo en cuenta el mejor montaje para efectuar cada uno de los 9 procedimientos requeridos según la matriz de diseño planteada en el numeral 2.5.2 en la tabla 4.

3.4.1.1 Desarrollo experimental preliminar para la determinación de parámetros en la Hidrólisis básica. Debido a que no se conocían las condiciones óptimas de obtención de celulosa en cada uno de los procesos correspondientes a la hidrólisis básica, se realizó una etapa pre experimental en la que se estableció: el montaje adecuado para la obtención de celulosa, la concentración de ácido necesaria para la precipitación de lignina presente en el licor negro, y así mismo el método óptimo de separación. El primer montaje que se realizó para la extracción de celulosa fue un montaje tipo Soxhlet.

Figura 25. Proceso de obtención de celulosa montaje tipo Soxhlet 1.

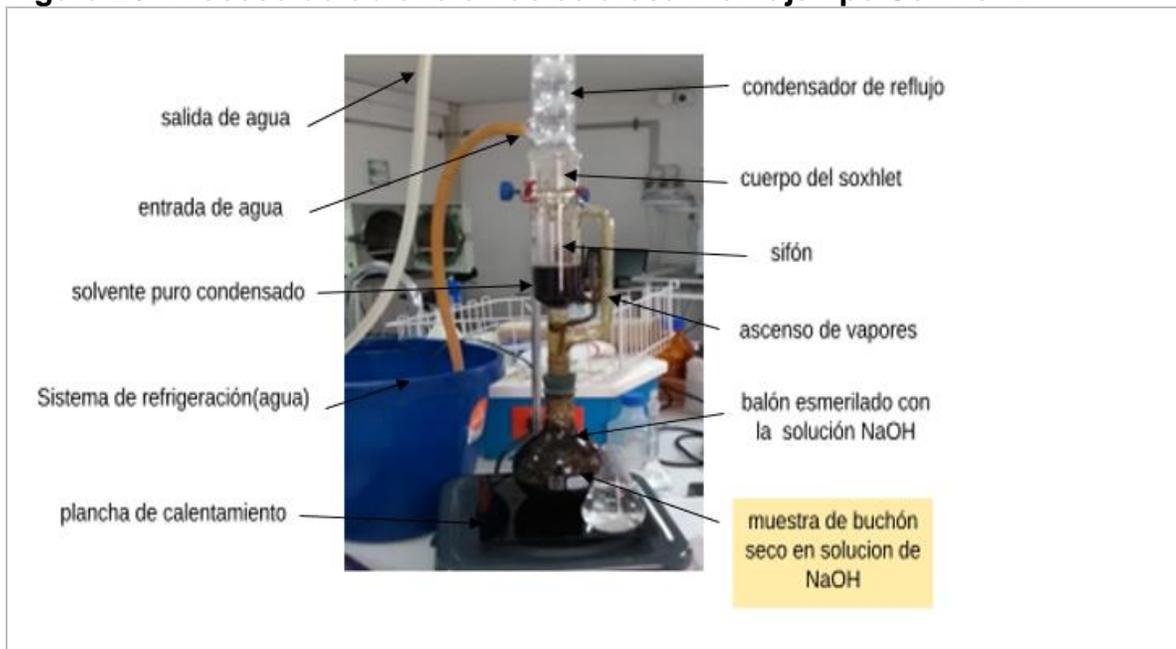


Fuente: elaboración propia.

El montaje para la digestión consta de un condensador de agua, un sistema de refrigeración, la cámara de extracción, el sistema de sifón y el contenedor de solvente. Para mantener la refrigeración se utilizó una bomba de recirculación sumergida en un balde con aproximadamente 8 L de agua. En la cámara de extracción se adicionaron 10 g de buchón de agua triturado y seco contenidos en

un papel de filtro, en el contenedor de solvente se agregó hidróxido de sodio al 10% y se dejó actuar durante 1 hora, manteniendo una temperatura constante de 92 °C. El segundo montaje que se realizó para la extracción de celulosa fue de igual forma un montaje tipo Soxhlet similar al anterior, pero esta vez la digestión se planteó adicionando los 10 g de buchón de agua directamente al contenedor de solvente con el fin de que este permanezca en constante contacto con la muestra durante el tiempo que dure la digestión. Al igual que en el procedimiento anterior se dejó actuar durante 1 hora en una solución de hidróxido de sodio al 10% y una temperatura de 92 °C.

Figura 26. Proceso de obtención de celulosa montaje tipo Soxhlet 2.



Fuente: elaboración propia.

Al finalizar cada uno de los procedimientos se pudo observar que al colocar el buchón en el papel de filtro presente en el sistema de sifón no existe un cambio físico significativo respecto a su apariencia inicial y a su vez la concentración de lignina presente en el licor negro retirado es mínima en comparación con la removida en el segundo montaje; además en este segundo procedimiento se aprecia un material con una apariencia fibrosa y pastosa que da indicios de una mejor digestión que puede estar dada por el continuo contacto de la materia prima con el hidróxido de sodio.

En cuanto a la concentración de ácido necesaria para la precipitación de lignina, el interés principal fue la reducción de volumen necesario para acidificar el licor negro saliente de la digestión en la obtención de celulosa, ya que al tener una concentración de ácido muy diluida la cantidad de volumen sería cada vez más alto. La primera experimentación correspondiente a este proceso se realizó con una

solución de ácido sulfúrico al 60%, para ello se hizo un montaje de titulación en el cual el pH inicial de la solución de hidróxido de sodio proveniente de la digestión mantenía un valor de 13.8; para lograr acidificar esta solución y llevarla a un rango de pH entre 1 y 2 el cual permite la precipitación de la lignina, fueron necesarios 25 ml de ácido sulfúrico, por lo cual se decidió aumentar la concentración de ácido sulfúrico a un 80% logrando disminuir el volumen de ácido a 15 ml aproximadamente.

Por otra parte, fue importante determinar el método de separación más efectivo para la separación de lignina con el fin de recuperar el reactivo que en este caso es el ácido sulfúrico concentrado y obtener un precipitado con una apariencia bastante fina y delgada.

Para ello se realizó un primer procedimiento sometiendo la muestra al Rotavaporador con el fin de concentrar el ácido.

Figura 27. Proceso de separación de lignina mediante el Rotavaporador.



Fuente: elaboración propia.

Para este proceso se ajustaron condiciones de 0 bares y 74.7°C. Lograr concentrar el ácido por este método llevaba aproximadamente entre 2 y 3 horas, sin alcanzar la formación de fases que se desea para separar la lignina, obteniendo en vez de ello la formación de cristales que dada la reacción química se consideran como sulfato de sodio lignocelulósico. Debido a esto y a la rigurosidad de los procedimientos que se quieren evaluar en el proyecto se decidió someter la muestra a un segundo procedimiento, en el que se colocaba la muestra una vez titulada con ácido sulfúrico al 80% en la autoclave a 121°C logrando reducir el tiempo del proceso a 1 hora y obteniendo las dos fases necesarias para la separación de la lignina.

3.4.1.2 Proceso de hidrólisis básica. Una vez determinadas las condiciones y procedimientos que dificultaban la experimentación, se establecieron los intervalos

de concentración y tiempo a los cuales se debe llevar a cabo la investigación; esto se realizó con el objetivo de realizar las réplicas correspondientes con parámetros previamente establecidos y constantes.

AUSTIN, GEORGE⁶⁷ menciona en el manual de Procesos Químicos en la Industria, que el fundamento del proceso a la soda se basa, en que no se producen mayores efectos en el contenido de celulosa obtenido, cuando se aumentan los tiempos de residencia durante más de 2 horas. Por otra parte, la bibliografía señala que en la manipulación de fibras blandas a la soda se deben utilizar concentraciones bajas, es decir que no superen un porcentaje del 15% ya que a partir de este se comienzan a tratar fibras duras como es el caso de la madera.

Por esta razón en esta investigación se decide variar el tiempo de digestión del buchón en el hidróxido de sodio durante 1 hora, 1 ¹/₂ horas y 2 horas, a diferentes concentraciones de 5%,10% y 15%, manteniendo presión atmosférica y 92°C, temperatura aproximada de ebullición del agua en la ciudad de Bogotá.

La forma en la que se llevó a cabo cada una de las digestiones se describe a continuación.

En primera instancia se deben preparar las soluciones de NaOH al 5%,10% y 15%. Este procedimiento se lleva a cabo en un balón aforado usando agua destilada y el contenido de perlas de hidróxido necesario para lograr cada una de las concentraciones. La cantidad a preparar se estima según el número de experimentos que se desea realizar por cada concentración, es importante además tener en cuenta la capacidad del contenedor de solvente que se va a utilizar, que en este caso es un balón esmerilado de 500ml por lo cual se establece que se necesitan 250ml de solvente para cada experimento a realizar.

Teniendo el material seco, triturado y las soluciones preparadas se pesan 90 g de buchón de agua y se realiza un montaje tipo Soxhlet, este montaje permite mantener la concentración de hidróxido de sodio que se desea evaluar durante el tiempo estimado, evitando la evaporación del agua.

Para ello se coloca un contenedor de solvente con hidróxido de sodio al 5%,10% o 15% según se requiera con 10 g de buchón de agua, y se deja actuar según el experimento determinado con la matriz del diseño de experimentos durante 1 hora, 1 ¹/₂ horas y 2 horas manteniendo presión atmosférica y una temperatura de 92°C. Después de que ha transcurrido el tiempo de digestión de cada experimento y de que se ha enfriado el sistema a temperatura ambiente, se procede a realizar un filtrado al vacío para retirar el máximo contenido de licor negro, el filtrado se realiza utilizando papel filtro Whatman, ya que con este se tiene mayor precisión al

⁶⁷ AUSTIN, GEORGE. Manual de Procesos Químicos en la Industria. Mc Graw Hill. 1990.

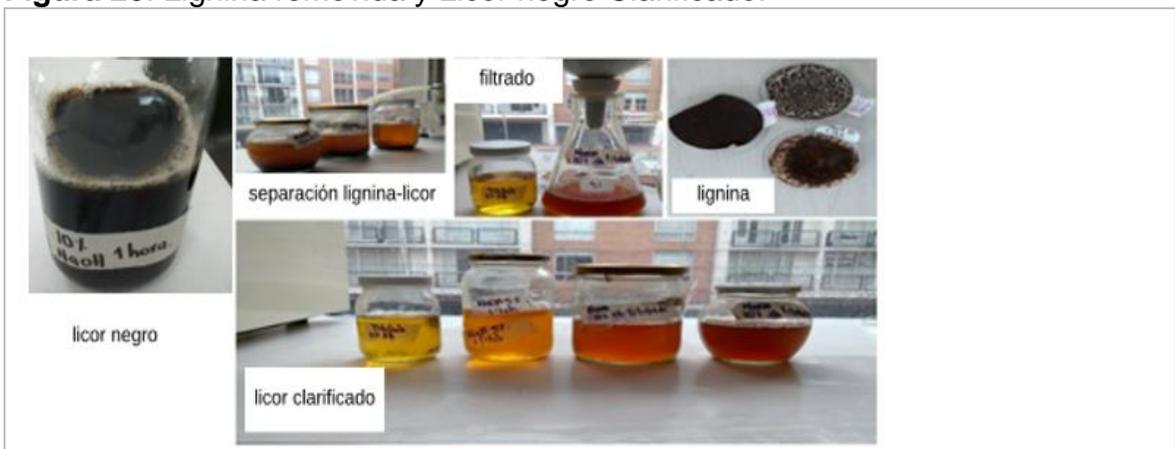
momento de filtrar, debido a que sus poros son más pequeños lo que garantiza un resultado más exacto.

A continuación se lava la pasta filtrada con agua destilada con el fin de retirar completamente el hidróxido de sodio presente, posteriormente se agrega la muestra a un crisol el cual es pesado y llevado a la mufla a una temperatura entre 100 y 110°C hasta obtener peso constante, inmediatamente se retira la muestra de la mufla, se lleva al desecador y se deja por aproximadamente 15 min para enfriar y pesar posteriormente en una balanza analítica que permitirá determinar el peso de la celulosa extraída del buchón de agua.

Determinación de lignina removida. Para estimar la cantidad de lignina removida, primero se preparó una solución de ácido Sulfúrico (H_2SO_4) concentrado en un balón aforado de 100 ml y se procedió a realizar un montaje de titulación, este permite disminuir el pH del licor negro acidificando la muestra, lo que genera un precipitado ligero correspondiente a la lignina insoluble en ácido. Con el fin de concentrar el ácido y facilitar la separación, cuando se tienen las muestras de cada uno de los experimentos acidificadas se llevan a un proceso de auto clavado a 121°C. Luego de este proceso y de que se han enfriado las muestras, se procede a realizar un proceso de filtrado al vacío de la misma manera que se realizó con la pasta de celulosa, permitiendo obtener la lignina insoluble en ácido y el licor clarificado. Debido a que la cantidad de lignina presente en el buchón de agua es mínima, el proceso de secado en mufla se realiza en las mismas condiciones de la pasta celulósica, pero se disminuye el tiempo a 20 minutos. La muestra se seca sobre papel de filtro Whatman, donde una vez se tiene seco y frío se pesa y se estima la cantidad de lignina removida.

A continuación, se puede apreciar la muestra del licor proveniente de la extracción de celulosa, una vez se ha removido la lignina.

Figura 28. Lignina removida y Licor negro Clarificado.



Fuente: elaboración propia.

3.4.2 Hidrólisis enzimática por medio el Hongo *Pleurotus Ostreatus*.

Siembra. En este procedimiento se deben tener en cuenta algunas condiciones para poder llevar acabo la esterilización de los elementos a utilizar en este tipo de ejecución. Como primer paso se debe lavar, secar y forrar en papel Kraft elementos como lo son las cajas de Petri, la espátula, el asa de siembra, la bata y el medio de cultivo para así introducirlos en la autoclave a 121°C durante 2 horas.

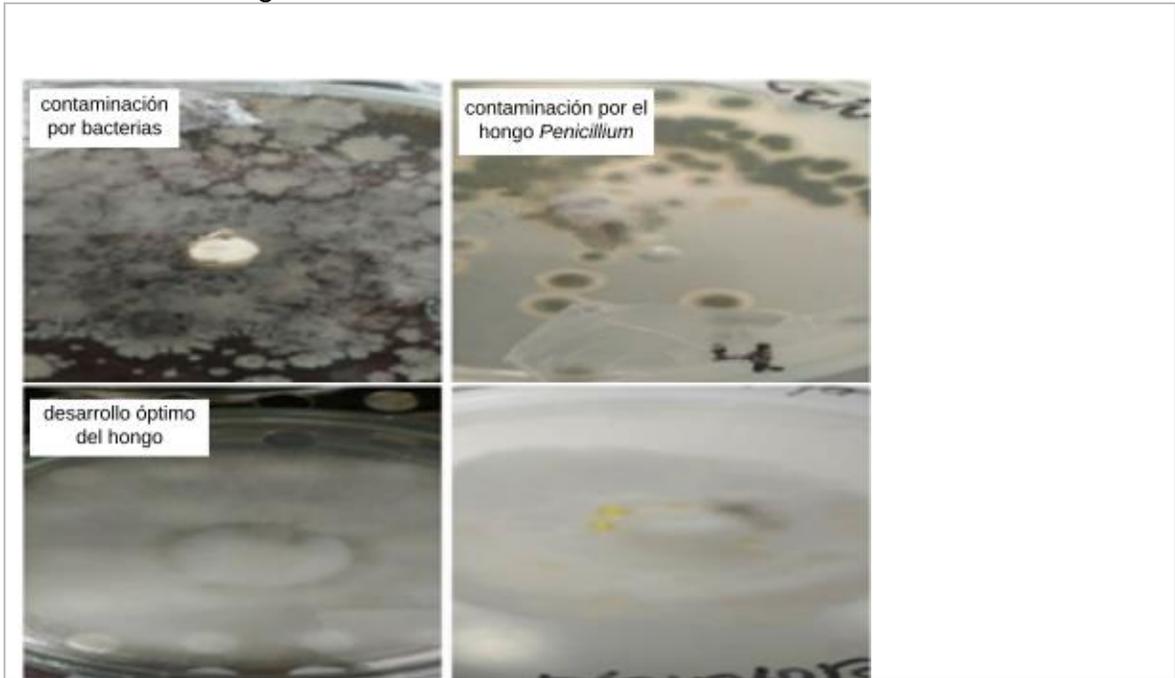
Durante el tiempo que los instrumentos se encuentran en la autoclave se debe limpiar con abundante alcohol la cabina de flujo laminar, posteriormente se introducen los elementos que se consideren necesarios para la siembra y que por las altas temperaturas del proceso de auto clavado no se hayan podido esterilizar, por ejemplo los guantes; esto implica que deben someterse a estar expuestos a rayos UV comprendido entre 200 y 300 nanómetros, con el fin de que esta luz se convierta en germicida logrando así inactivar microorganismos como hongos, bacterias entre otros, brindando un ambiente estéril libre de agentes contaminantes que influyan en la siembra del hongo. Finalmente se activa la aireación continua lo que permite generar un constante flujo de aire que crea una cortina evitando el ingreso de partículas y microorganismos dentro de la cabina, esto se deja actuar durante unos minutos. Ya dentro del espacio de asepsia se toma las cajas de Petri con el propósito de depositarles aproximadamente 20ml del medio de cultivo para posteriormente dejarlas reposar sobre la superficie interna de la cabina, buscando que la solución se solidifique.

Después se sujeta con el asa una semilla y se implanta en la parte central de cada caja, seguidamente con papel vinipel o Parafilm se sellan las cajas sin olvidar rotular cada una con el tipo de hongo y la fecha en la cual se hizo la siembra, con el fin de poder llevar el control de crecimiento del microorganismo a través del tiempo y así lograr establecer un tiempo aproximado de crecimiento de este sobre el medio de cultivo. Se hizo el control por medio de la observación de las cajas durante los días posteriores a la siembra para observar y verificar que no se hayan contaminado con la presencia de otro hongo en el ambiente en el momento de la siembra; este debe crecer de una manera esponjosa, blanca o amarilla teniendo en cuenta que cuando es amarilla como se observa en la figura No. 28 es debido a la producción de enzimas, las cajas que cumplan estas condiciones se seleccionan para poder realizar la réplica del hongo.

Finalmente, al tener las cajas cerradas y marcadas se llevan a la incubadora a unas condiciones de operación de temperatura y humedad de 23°C y 70% respectivamente, procurando que su desarrollo se dé con ausencia de luz.

Una vez se observa el 80% del desarrollo del hongo en las cajas de Petri, se deben retirar de la incubadora y llevarse a un refrigerador con el fin de inhibir su crecimiento.

Figura 29. Posibles problemas de contaminación en la siembra Vs crecimiento adecuado del hongo *Pleurotus Ostreatus*



Fuente: elaboración propia.

Replicación del hongo *Pleurotus Ostreatus*. Al igual que en el proceso de siembra es importante tener en cuenta la asepsia al momento de replicar el hongo, por lo cual se debe realizar el proceso de esterilización de cada uno de los elementos a utilizar como se especificó en los procedimientos de siembra. Realmente el proceso de replicación es muy similar a la siembra solo que en este proceso en vez de sembrar la semilla para producir la cepa del hongo *Pleurotus Ostreatus*, se toma una de las cepas obtenidas en el proceso de siembra observando que esta se encuentre en un crecimiento óptimo y libre de contaminación.

Asimismo se repite el protocolo de siembra usando la cepa seleccionada, esta se destapa en la cabina y con un asa circular previamente esterilizado se procede a hacer agujeros alrededor del borde de la caja de Petri con el objetivo de tomar trozos del micelio joven del hongo y con ayuda del asa o de unas pinzas estériles y frías, se hace esta aclaración dado que si los instrumentos están calientes el hongo al ser un microorganismo sensible a la temperatura se podría morir y al sembrarlos no se observe crecimiento de este; Tomando en cuenta la especificación dada después se deposita cada trozo en la parte central de cada una de las cajas donde contienen un medio de cultivo que les proporcionara los nutrientes necesarios para que este crezca y así se logre la replicación deseada, obteniendo una copia idéntica de la cepa del hongo *Pleurotus Ostreatus*.

Finalmente se introducen a la incubadora a las mismas condiciones del proceso de siembra, con el propósito de realizar una observación del crecimiento de este al transcurrir el tiempo.

Figura 30. Representación gráfica del proceso de replicación del hongo



Fuente: elaboración propia.

3.4.2.1 Desarrollo experimental preliminar para la determinación de parámetros en la adaptación del hongo *Pleurotus Ostreatus* en el Buchón de Agua. Conociendo por revisión bibliográfica las condiciones de operación del hongo *Pleurotus Ostreatus*, se procede a realizar la adaptación del mismo al buchón de agua por medio de los diferentes caldos nutritivos, donde según su morfología se conoce que es un microorganismo lignocelulósico que no puede degradar sustancias complejas como la lignina tan fácilmente como sustrato o metabolito primario en su etapa de crecimiento, debido a estas especificaciones se vio la necesidad de plantear y definir un medio en el cual se logre empalmar el hongo con el buchón de agua tratado, con el objetivo de que este se desarrolle y tenga un crecimiento adecuado.

Se debe promover la producción de enzimas como las peroxidasas, con el fin de poder degradar y metabolizar la lignina, para obtener y cuantificar la celulosa libre durante el proceso degradativo y de descomposición natural ejercida por el hongo. En este proceso de adaptación se realizaron 3 protocolos de siembra desde una de las cajas que evidencio el mejor crecimiento del hongo en las replications sobre PDA; para ello se realizaron tres tipos de caldo nutritivo.

El primer protocolo que se planteó para la adaptación del hongo *Pleurotus Ostreatus* consistió en preparar el medio de cultivo con el caldo nutritivo número 1 y en 4 Erlenmeyer de 250ml se depositaron 60 ml de caldo a cada uno, para poder hacer soluciones por triplicado del 1%,5%,10% y 20% en relación peso volumen(p/v) de

buchón seco, obteniendo un medio que se le proporciono el nombre de agar-buchón, posteriormente y de igual manera como se realizó los procedimientos de esterilización y asepsia en la siembra y en la replicación se introducen los medios y los instrumentos a utilizar en la autoclave a 121°C , 15lb de presión durante un periodo de tiempo de 2 horas.

Después de que se haya completado el ciclo del autoclave se llevan los implementos a la cabina de flujo laminar teniendo en cuenta que con antelación, se realizó la técnica de esterilización por UV y aireación de los demás implementos que no era posible realizarle el proceso de auto clavado y el protocolo del manejo adecuado de la cabina, seguidamente se toma de la cabina de incubación o del refrigerador una cepa que ya haya alcanzado el 80% del crecimiento dentro de la caja y se procede a realizar el inóculo de la misma forma que se realizó en el proceso de replicación; finalmente luego de que las cajas se encuentren selladas y rotuladas se llevan a la cabina de incubación.

El segundo y tercer protocolo se realizaron de la misma manera que el protocolo 1, adicionando el caldo 2 y 3 respectivamente. En el proceso se mantienen las mismas condiciones y proporciones expuestas en el protocolo 1, lo que significa que de igual forma se realiza la esterilización, siembra y replicación. Después de que las cajas estén selladas y rotuladas se procede a llevarlas a la cabina de incubación, con el fin de poder llevar el control de crecimiento del hongo sobre estos medios.

Se realizó un análisis de cada uno de los protocolos logrando observar principalmente el desarrollo del hongo sobre cada medio de cultivo.

En el primer protocolo se observó que de las 12 cajas el 80% se contaminaron, evidenciando crecimiento de bacterias como se observa en la figura No 31; por sus características, se determinó que existe la presencia de actinomicetos, los cuales producen diferentes toxinas por medio de la excreción inhibiendo el crecimiento del hongo.

Al analizar el crecimiento de las cajas restantes, se notó un crecimiento lento, superficial y carente del cuerpo esponjoso que es representativo del crecimiento normal del hongo como se observa en la figura No 28, de lo cual se puede inferir que el sustrato seleccionado en el caldo 1 no posee los nutrientes necesarios para el desarrollo adecuado del hongo.

En el segundo y tercer protocolo se pudo observar que el hongo tuvo un crecimiento rápido y de una manera abundante en las diferentes concentraciones de buchón; se puede suponer que la presencia del almidón en cada uno de los medios funciona como metabolito primario lo cual favorece su desarrollo de una manera exponencial y radial.

Este desarrollo experimental permite definir el sustrato y las condiciones nutricionales que debe tener el caldo para promover el crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus*; teniendo en cuenta que el caldo No. 1 promueve el crecimiento bacteriano, se deciden analizar los caldos 2 y 3 determinando la influencia de glucosa en el proceso de obtención de celulosa.

Figura 31. Contaminación por bacterias y crecimiento adecuado en el buchón de agua

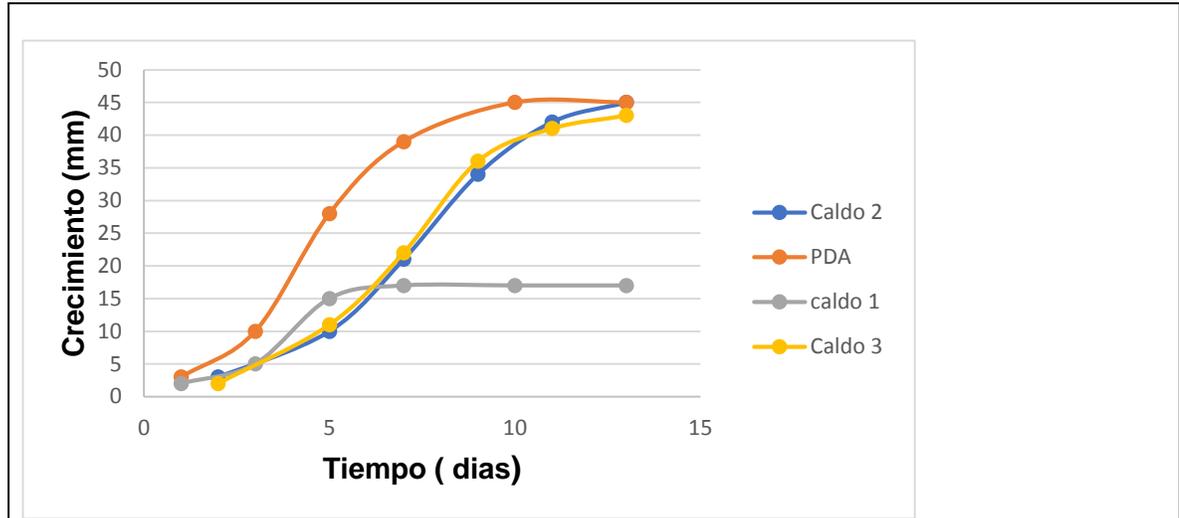


Fuente: elaboración propia.

Curva de crecimiento

Por medio de la observación, se analizó el crecimiento radial del hongo teniendo en cuenta las dimensiones de la caja de Petri que son 100 x 15 mm en los diferentes medios de cultivo, partiendo desde el segundo día después de la siembra; en la gráfica No 1 se pueden apreciar las fases de adaptación y crecimiento del hongo.

Gráfica 1. Crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus* en los diferentes medios de cultivo



Fuente: elaboración propia.

3.4.2.2 Proceso enzimático del hongo *Pleurotus Ostreatus*. Una vez se seleccionan los medios de cultivo a evaluar y se evidencia un crecimiento adecuado del hongo en las cajas de Petri se procede con el proceso de obtención de celulosa por medio del hongo *Pleurotus Ostreatus*; evaluando además el porcentaje de celulosa obtenido de acuerdo con la influencia de glucosa como metabolito primario.

Adición del inoculo al buchón. La inoculación se realiza desde las cajas de Petri con mayor concentración en peso de buchón, hacia dos recipientes más grandes, con el propósito de comenzar el proceso de obtención de celulosa.

Procedimiento. Se pesa la cantidad de buchón necesario para la evaluación, se realizan los respectivos caldos, y se procede a esterilizar como se mencionó en el proceso de siembra.

Inmediatamente termina el proceso de esterilización se procede a realizar una réplica teniendo en cuenta las condiciones de asepsia necesarias para evitar la contaminación de los recipientes; por último, se sellan los recipientes con su respectivas tapas y papel vinipel para introducirlos posteriormente a la incubadora por un tiempo de 21 días.

Condiciones de operación. Las condiciones de operación que se mantuvieron en las cajas de Petri y la incubadora que permitió el desarrollo del hongo fueron:

- ❖ **pH.** El pH del medio de cultivo fue de 6,1 debido a la presencia del buchón de agua y el almidón del papa como sustrato principal.
- ❖ **Temperatura.** La temperatura utilizada en el proceso de desarrollo fue de 23 °C

- ❖ **Humedad.** La humedad relativa que mantuvo la incubadora debido a la temperatura implementada fue del 70%.

Dichas condiciones se mantuvieron en una incubadora la cual proporcionaba un ambiente oscuro, fresco y cerrado.

3.4.3 Cuantificación. A continuación, se presentan las tablas que evidencian los resultados de celulosa obtenida y de lignina removida para cada uno de los métodos implementados.

3.4.3.1 Hidrólisis Básica. En la tabla 12 se evidencian los resultados en peso obtenidos en cada uno de los 9 experimentos y sus respectivas réplicas teniendo en cuenta la matriz experimental para la obtención de celulosa.

Tabla 12. Datos del peso en gramos de celulosa obtenida.

Concentración de NaOH	Celulosa								
	1HORA			1 HORA ½			2 HORAS		
	Peso (g)			Peso (g)			Peso (g)		
5%	3,105	3,120	3,113	2,517	2,499	2,508	2,233	2,256	2,2448
	7	2		1	5	3	5	2	5
10%	2,518	2,529	2,523	3,059	3,036	3,047	2,702	2,712	2,7072
			5	8	1	95		5	5
15%	2,418	2,429	2,423	3,155	3,147	3,151	3,095	3,123	3,1095
			5	5	1	3		21	8

Fuente: elaboración propia.

En la tabla 13 se pueden apreciar los pesos promedio correspondientes a la cantidad de lignina removida considerando los diferentes tiempos y concentraciones.

Tabla 13. Datos del peso de lignina removida.

Concentración de NaOH	Lignina		
	1HORA	1 HORA 1/2	2 HORAS
	Datos	Datos	Datos
5%	0,06	0,062	0,06
10%	0,062	0,065	0,07
15%	0,072	0,075	0,078

Fuente: elaboración propia.

3.4.3.2 Proceso enzimático del hongo *Pleurotus Ostreatus*. En las tablas 14 y 15 se muestran los porcentajes correspondientes a la caracterización realizada después de los 21 días de haber realizado la inoculación del hongo *Pleurotus Ostreatus* en el buchón de agua teniendo en cuenta la presencia y ausencia de glucosa respectivamente.

Tabla 14. Caracterización del buchón de agua después del hongo.

Presencia de glucosa	
Parámetros	Buchón de agua
%Extractivos	17,83475207
%Lignina	3,245
%Celulosa	24,94
% Agua	53,98

Fuente: elaboración propia.

Tabla 15. Caracterización del buchón de agua después del hongo.

Ausencia de glucosa	
Parámetros	Buchón de agua
%Extractivos	18,85935832
%Lignina	4,46
%Celulosa	19,60
% Agua	57,09

Fuente: elaboración propia.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Del desarrollo experimental presentado en el capítulo anterior se puede apreciar que fue posible obtener celulosa de cada uno de los métodos planteados en la investigación; por ello en este se pretende evidenciar y relacionar los resultados de cada uno de los procesos que se llevaron a cabo, para evaluar la obtención de celulosa por los procesos básico y enzimático partiendo del buchón de agua, con el fin de realizar las respectivas interpretaciones y comparativos que permitirán determinar la efectividad de los métodos para seleccionar una posible ruta de proceso en la obtención de celulosa relacionando las fuentes bibliográficas, los datos obtenidos, la disponibilidad de las materias primas y reactantes en el proceso y la evaluación medio ambiental que conlleva la obtención de celulosa en cada uno de ellos.

4.1 HIDRÓLISIS BÁSICA

El análisis de este proceso se lleva a cabo mediante el desarrollo experimental planteado en el numeral 2.5.2. y el análisis estadístico por medio del modelo de análisis de varianza ANOVA.

Con ayuda del programa “Design Expert”⁶⁸, se estiman las mejores concentraciones de hidróxido de sodio y tiempos entre 1 hora, 1 ½ horas y 2 horas para obtener la mayor cantidad de celulosa. Esta es una aplicación estadística que permite desarrollar diseños de experimentos permitiendo realizar análisis profundos de los factores del proceso, además de la visualización de gráficos 3D para el análisis de las superficies de respuesta y contornos 2D, los cuales contribuyen en la identificación de coordenadas y la respectiva predicción de la respuesta.

Este modelo por medio de los factores y niveles a analizar se combina aleatoriamente buscando un sentido de variabilidad entre los resultados partiendo de un modelo matemático. Las ventajas de los experimentos factoriales se desenvuelven en términos de la economía en el material experimental para la obtención de datos sobre los factores a evaluar sin aumentar el tamaño del experimento ampliando la relación del factor con las condiciones dadas por los niveles de otros factores, generando confianza en la validez del experimento y permitiendo un estudio iterativo. Por ello se puede decir que el manejo de este software facilita el análisis de este tipo de diseño.

⁶⁸ Design Expert. Programa estadístico para la solución de diseños de experimentos. Disponible en línea en <<http://allpcworld.com/stat-ease-design-expert-11-1-free-download/>>

A partir de la ecuación 5 Y los datos relacionados de la tabla No 12. Se desarrolló el diseño de experimentos; obteniendo la tabla de resultados ANOVA (Tabla 16).

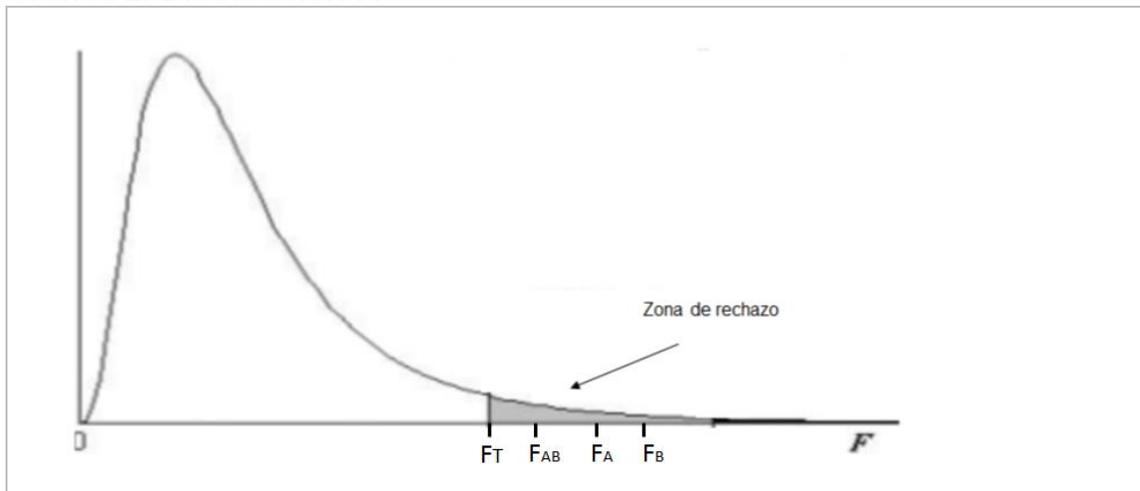
Tabla 16. ANOVA

Fuentes de variación	F-valor	p-valor	
Modelo corregido	6574,76	<0,0001	Significante
A-Concentración	14760,23	<0,0001	
B-Tiempo	10874,91	<0,0001	
Falta de ajuste A*B	331,96	<0,0001	
Total corregido.			

Fuente: elaboración propia. Con base en: Design Expert. Programa estadístico para la solución de diseños de experimentos. Disponible en línea en <<http://allpcworld.com/stat-ease-design-expert-11-1-free-download/>>

A continuación, en la gráfica 2 se presenta la tendencia de distribución F.

Gráfica 2. Distribución F.



Fuente: elaboración propia.

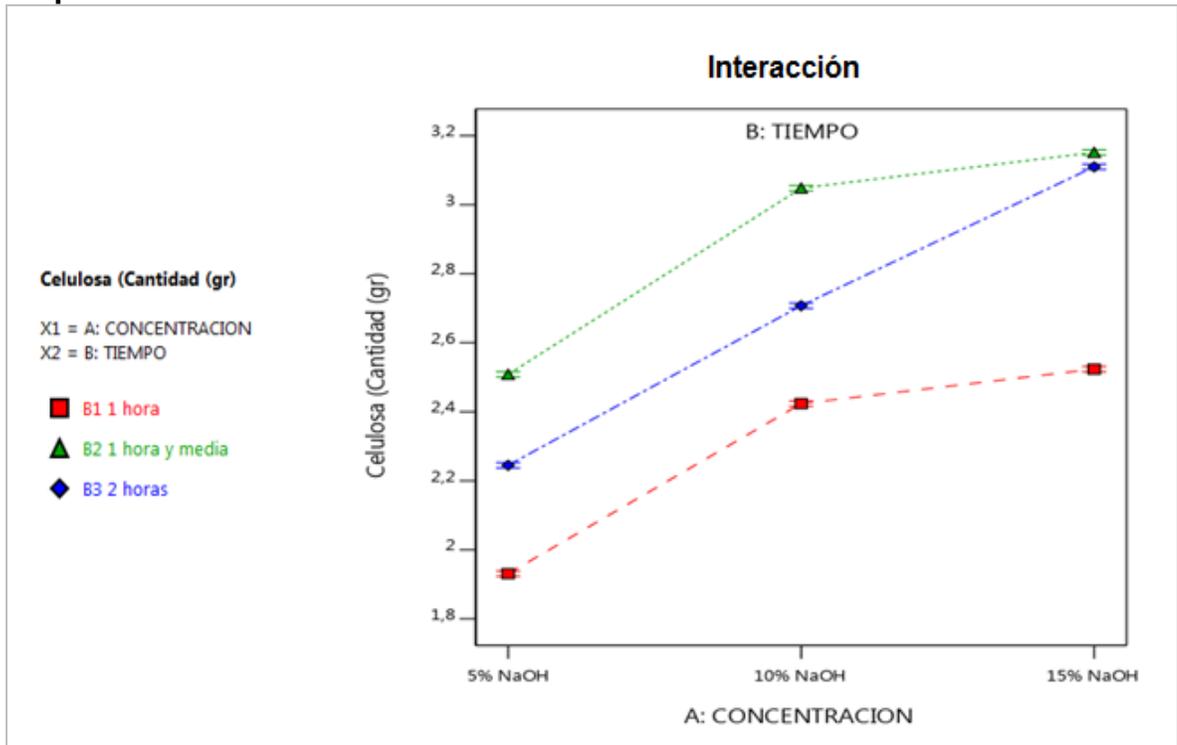
El valor F del modelo es de 6574,76 implica que el modelo es significativo. Solo hay un 0,01% de probabilidad de que un valor F tan grande pueda ocurrir debido al ruido.

Los valores de p inferiores a 0,0500 indican que los términos del modelo son significativos. En este caso, A, B, AB son términos significativos del modelo. Los valores superiores a 0.1 indican que los términos del modelo no son significativos. El ataque químico basado en una disolución alcalina de soda caustica o NaOH a las diferentes concentraciones y tiempos de reacciones arrojaron datos como en la tabla 12.

Los resultados obtenidos del análisis estadístico ANOVA del diseño de experimentos factorial planteado de 3^2 arrojaron que ambas variables tanto el tiempo de reacción como la concentración del reactivo son altamente significativas debido a que su estadístico de prueba o valor $P < 0,0001$.

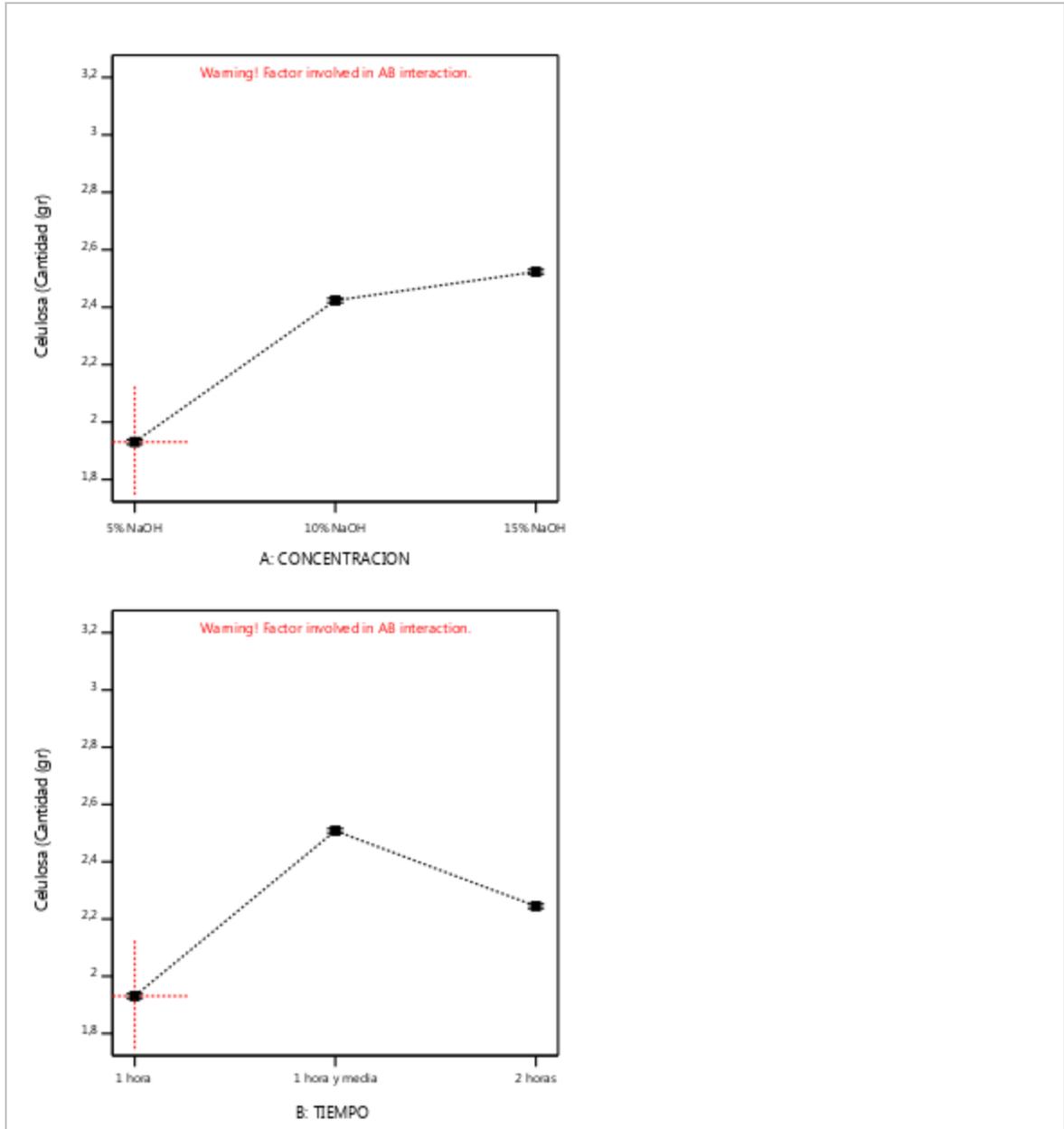
La interacción entre las variables y los efectos del sistema se determina en relación a la pendiente de la recta, a medida que la pendiente sea mayor significa que la diferencia entre el valor superior e inferior es más grande y significativa lo que infiere que el efecto sobre la variable respuesta es más incidente. Si se observa la relación de concentración y tiempo respecto a la producción de celulosa, se puede concluir que las condiciones del sistema reactivo convenientes se dan a concentraciones altas de NaOH y tiempos intermedios del rango evaluado en el desarrollo experimental, son estas condiciones las que se deben determinar considerando relevante la influencia y efectos de estas sobre la variable respuesta.

Gráfica 3. Interacción entre variables tiempo y concentración con la variable respuesta.



Fuente: elaboración propia. Con base en: Design Expert. Programa estadístico para la solución de diseños de experimentos. Disponible en línea en <<http://allpcworld.com/stat-ease-design-expert-11-1-free-download/>>

Gráfica 4. Consecuencia De las variables e interacciones en el diseño factorial.



Fuente: elaboración propia. Con base en: Design Expert. Programa estadístico para la solución de diseños de experimentos. Disponible en línea en <<http://allpcworld.com/stat-ease-design-expert-11-1-free-download/>>

El modelo de superficie de respuesta tuvo un ajuste correcto según la función cuadrática expuesta por el programa, obteniendo un valor del coeficiente de correlación R^2 de 0,9997 y el R^2 corregido fue de 0,9995. Otro parámetro a considerar es el análisis de varianza del modelo de regresión lineal, obteniendo un

valor bastante alto y significativo, en relación al test de Fisher con un rango experimental entre 300 y 15000 comparado con la probabilidad del modelo P ($P_{\text{modelo}} > F < 0,0001$) se determina que este valor es mucho mayor y significativo como se puede observar en la tabla 17 Y como los valores de probabilidad son pequeños requieren el rechazo de la hipótesis nula haciendo verdadera la hipótesis alternativa lo que implica que en ambos casos tanto la concentración como el tiempo de digestión básica del buchón de agua si afecta directamente a la producción de celulosa.

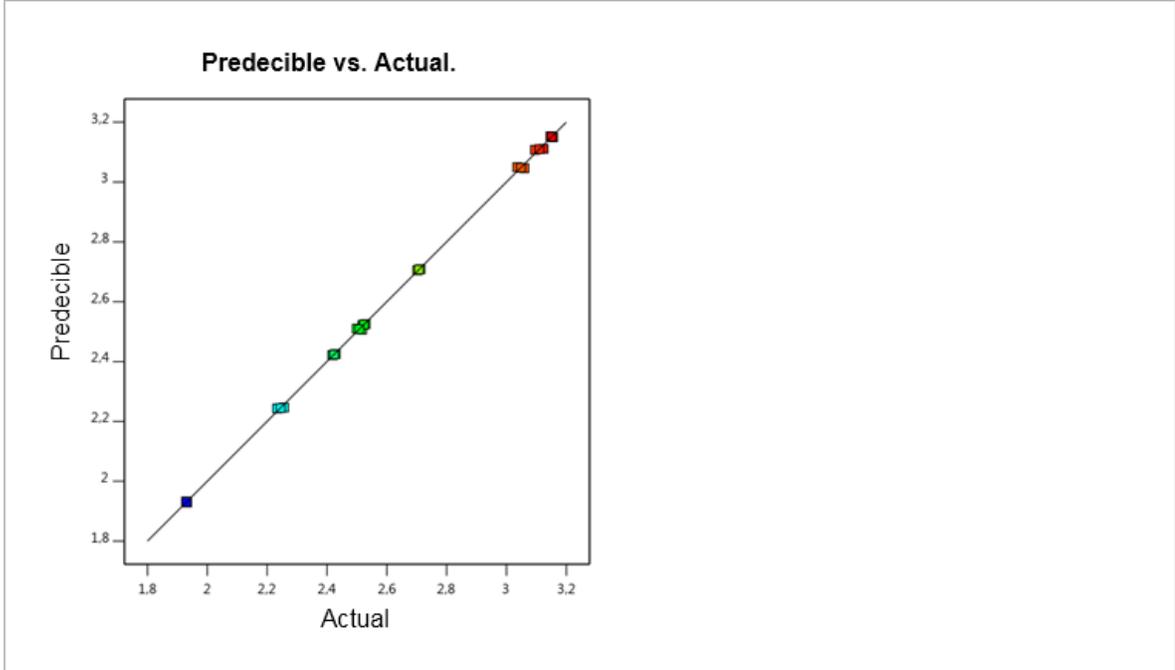
Tabla 17. Desviación estándar y media.

Desviación estándar	0,0089		R ²	0,9997
Media	2,63		Ajuste R ²	0,9995
C.V%	0,3387		Predicho R ²	0,9991

Fuente: elaboración propia. Con base en: Design Expert. Programa estadístico para la solución de diseños de experimentos. Disponible en línea en <<http://allpcworld.com/stat-ease-design-expert-11-1-free-download/>>

El valor R² es alto eso quiere decir que el modelo si es significativo y en relación al R² obtenido del modelo son muy similares, según documentación bibliográfica si estas relaciones dan aproximadamente similares como las expuestas anteriormente se esperaría que el modelo represente de un 95 a un 98% de variabilidad respecto a los datos obtenidos en el diseño, los datos presentes en la gráfica 5. (Predecible vs actual) están más cerca sobre la línea recta esto representa la afinidad del modelo con los datos o el tipo de problema a resolver, con estas especificaciones se valida el modelo empleado en el diseño experimental desarrollado en esta investigación. La interpretación del coeficiente de variación (CV) el cual tiene un valor de 0,3387 es bajo lo que representa una alta precisión y confiabilidad del desarrollo experimental realizado. La grafica 5, muestra una buena correlación entre los datos predichos y los experimentales de la obtención de celulosa, la linealidad confirma la efectividad del modelo y la desviación entre los valores es mínima.

Gráfica 5. Predecible vs Actual.



Fuente: elaboración propia. Con base en: Design Expert. Programa estadístico para la solución de diseños de experimentos. Disponible en línea en <<http://allpcworld.com/stat-ease-design-expert-11-1-free-download/>>

En un análisis estadístico de este tipo de problemas se tienen en cuenta tres parámetros de confiabilidad para poder otorgar veracidad en el resultado estadístico estos son:

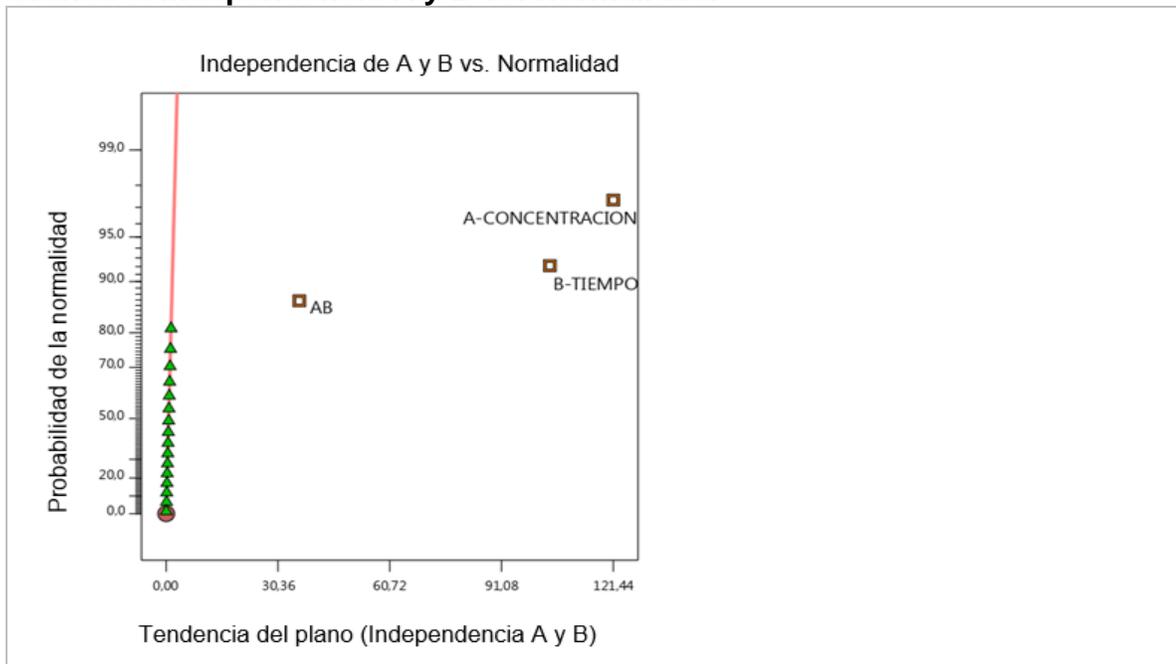
Normalidad: es considerado un parámetro de relación de errores experimentales entre los datos, por medio de una regresión lineal se obtiene el coeficiente de correlación de linealidad definido entre un valor muy cercano a 1, esto sirve para la verificación del modelo; en la gráfica 6 se observa que su distribución de los datos son muy cercanos e incluso sobre la recta dada por el modelo de regresión lineal también que posee un coeficiente de correlación de 0,9997 lo que permite inferir que su distribución es normal.

Independencia: se determina si los datos expuestos tienen o no dependencia entre ellos, se observa que no hay mucha dispersión entre los datos y no hay relación entre ellos generando dependencia y esta se observa que entre el factor A Y B según la gráfica 6 no tienen relación alguna entre las variables estadísticas a analizar.

Los supuestos del modelo se pueden verificar graficando los residuos contra los predichos observando como los puntos quedan en un rango de banda, la

independencia tiene que ver directamente con la tendencia de los datos y la formación de una forma funcional para formación de contrastes y así detectar la dependencia por medio de observaciones y coeficientes de autocorrelación.

Gráfica 6. Independencia A y B vs. Normalidad.

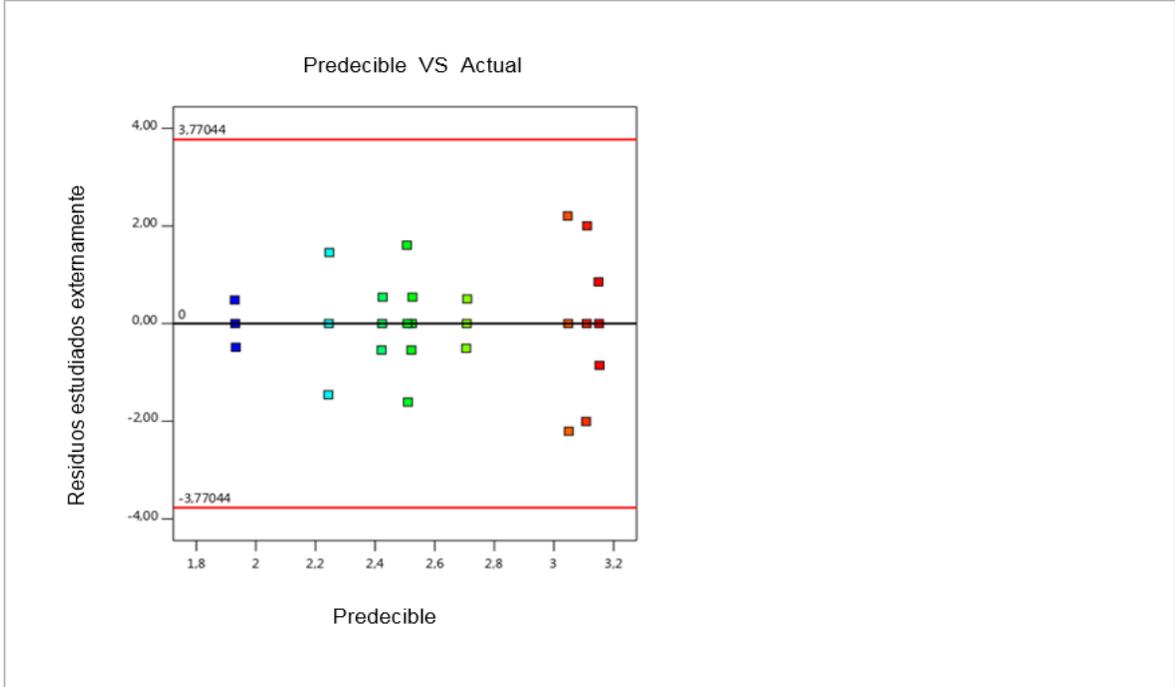


Fuente: elaboración propia. Con base en: Design Expert. Programa estadístico para la solución de diseños de experimentos. Disponible en línea en <<http://allpcworld.com/stat-ease-design-expert-11-1-free-download/>>

En la gráfica N 6 se observa claramente la independencia de cada una de las variables esto se puede interpretar debido a que se observa que la línea de tendencia del plano representada de color rojo no pasa o atraviesa ninguno de los puntos expuestos en la gráfica como AB, A y B lo que implica que son variables independientes con la variable respuesta; de lo contrario si la línea de tendencia pasara por cualquiera de los puntos se interpretaría que la variable a la cual toque la línea de tendencia genera dependencia con la variable respuesta.

Homogeneidad de varianza: la homogeneidad de los datos es con el fin de disminuir la varianza de las combinaciones homogéneas entre los datos relacionados con los factores. El principio de este diseño factorial empleado en el desarrollo de esta investigación considera todas las combinaciones posibles entre los niveles y factores. la dispersión de datos es directamente proporcional a la desviación estándar, y se establece la variación general del desarrollo experimental.

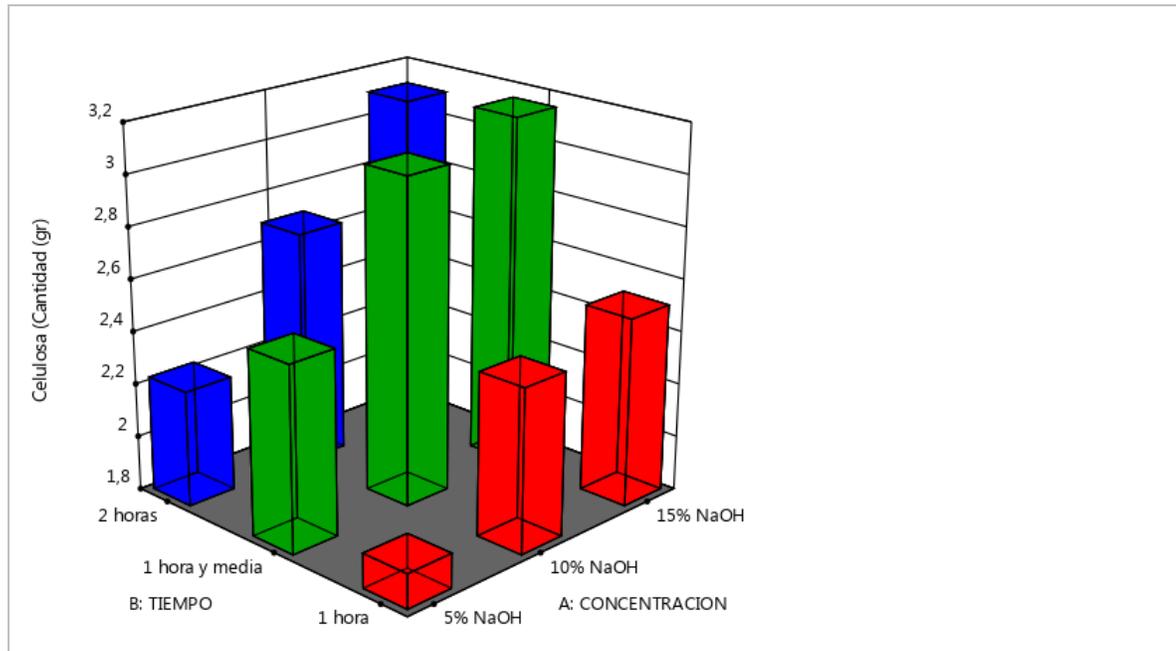
Gráfica 7. Residual Vs. Predicho



Fuente: elaboración propia. Con base en: Design Expert. Programa estadístico para la solución de diseños de experimentos. Disponible en línea en <<http://allpcworld.com/stat-ease-design-expert-11-1-free-download/>>

Si en un diseño experimental factorial no se tiene independencia puede que se generen conclusiones estadísticas erróneas e invalide el diseño. El grafico N 7 puede ayudar a detectar la existencia de tendencia, correlación, dependencia y dispersión entre los datos, se observa una franja roja que representa un rango por encima y por debajo de cero (0), mostrando los datos evaluados en el diseño. Se puede analizar que tienen una tendencia lineal y paralela por colores y que mantienen una distribución ordenada lo que implica una baja variabilidad entre los datos, no hay datos atípicos a la tendencia de la obtención de la variable respuesta.

Gráfica 8. Variable Respuesta Cantidad de Celulosa obtenida por Hidrólisis Básica.



Fuente: elaboración propia. Con base en: Design Expert. Programa estadístico para la solución de diseños de experimentos. Disponible en línea en <http://allpcworld.com/stat-ease-design-expert-11-1-free-download/>

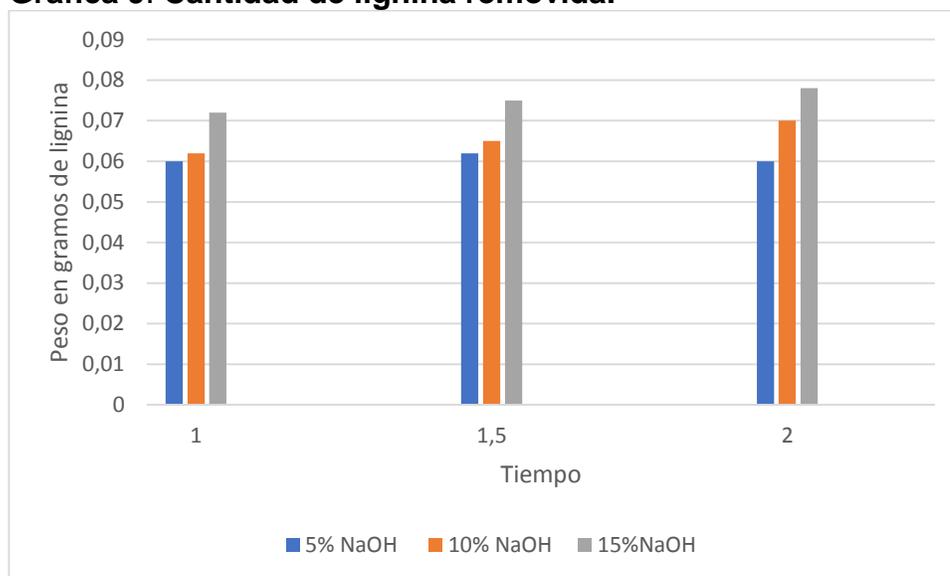
Gracias al diseño estadístico y la gráfica 8 es posible observar que a medida que aumenta la concentración de hidróxido de sodio aumenta de igual forma el porcentaje de celulosa obtenido, por otra parte, analizando el tiempo que transcurre durante el efecto del hidróxido de sodio es posible apreciar que efectuando el proceso durante 1 hora a cualquiera de las concentraciones se obtienen los porcentajes más bajos de celulosa comparado con los procedimientos en los que el hidróxido de sodio actúa 1 ½ horas y 2 horas, se puede apreciar además que a medida que transcurre el tiempo entre 1 ½ horas y 2 horas a cualquier concentración disminuye el porcentaje de celulosa obtenido de lo cual se puede deducir que después de la hora y media puede empezar a solubilizarse parte de la celulosa en el hidróxido de sodio siendo eliminada en el licor negro, por ello se puede concluir que los mejores porcentajes de celulosa se obtienen al 15% de hidróxido de sodio en un periodo de tiempo entre 1 ½ horas y 2 horas siendo el de 1 ½ el de mejor valor con un porcentaje de celulosa 31,5%.

Cantidad de lignina removida. Cuando se evalúa la cantidad de celulosa extraída de determinado proceso, es importante además tener en cuenta la cantidad de lignina removida apreciando así la separación de los componentes presentes en la materia prima tratada ya que industrialmente se dice que se tiene una mejor calidad de celulosa cuando el porcentaje de lignina removido es mayor; este puede ser

apreciado visualmente gracias al color de la pasta celulósica obtenida ya que mientras mayor sea la cantidad de lignina removida la pasta celulósica tendrá una tonalidad más clara.

De acuerdo con el desarrollo experimental en la gráfica 9 se puede observar que el tiempo de reacción no influye significativamente en el proceso de remoción de lignina, mientras que la concentración de NaOH si influye evidenciando que a mayor concentración existe mayor porcentaje de lignina removida lo cual permite considerar que hay una relación directamente proporcional entre la cantidad de lignina removida y la cantidad de celulosa obtenida.

Gráfica 9. Cantidad de lignina removida.



Fuente: elaboración propia.

Comparativo de celulosa obtenida respecto a la caracterización inicial.

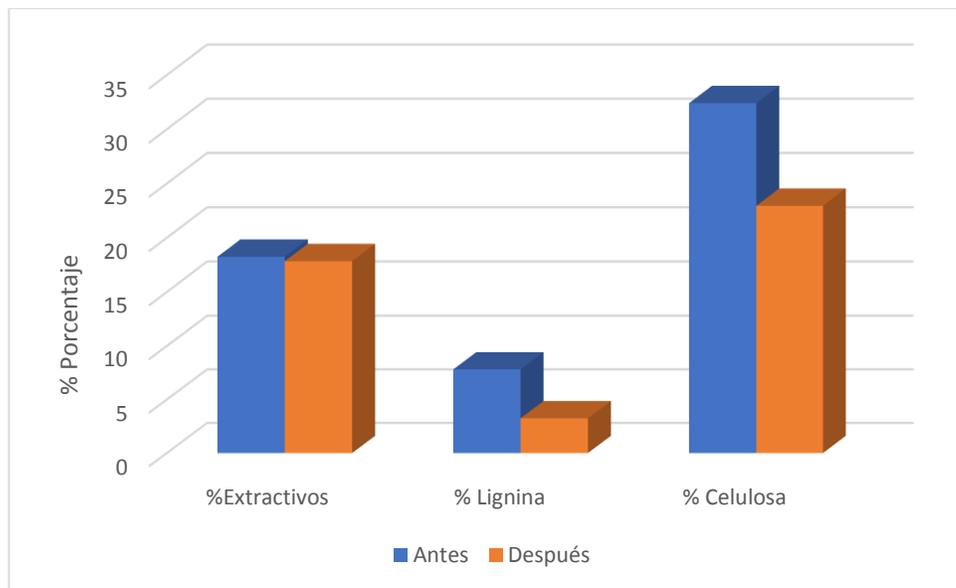
Del proceso de hidrolisis básica el mayor porcentaje de celulosa extraído fue del 31,5% según los datos obtenidos del diseño de experimentos efectuado en el programa Design expert, teniendo en cuenta una concentración de NaOH del 15% y un tiempo de digestión de 1 ½ horas; por ello se puede decir que este proceso es bastante efectivo ya que comparado con la caracterización inicial que se muestra en la tabla 11 se extrajo el 97,2 % de celulosa presente en el buchón de agua.

4.2 PROCESO ENZIMÁTICO DEL HONGO *PLEUROTUS OSTREATUS*

En el proceso de obtención de celulosa usando el hongo *Pleurotus Ostreatus* se realizó una segunda caracterización química respecto a la composición de celulosa, lignina y extraíbles que contenida el buchón de agua seco después del proceso enzimático del hongo, con la finalidad de realizar una comparación del porcentaje de estos componentes respecto a la caracterización inicial realizada expuesta en la tabla 11 y así determinar la cantidad de celulosa extraíble; conociendo la morfología de este hongo al ser un microorganismo lignocelulósico se estima que puede haber pérdidas significativas en el contenido de celulosa, por medio de relaciones matemáticas se puede establecer la cantidad de lignina y celulosa obtenida después de los 21 días del efecto degradante del hongo sobre la materia prima de interés.

A continuación, se pueden apreciar las gráficas que evidencian los resultados de caracterización química de los diferentes compuestos como lo son el porcentaje de extraíbles, lignina y celulosa.

Gráfica 10. Composición final del Buchón de Agua implementado en el caldo No 2 respecto al inicial.

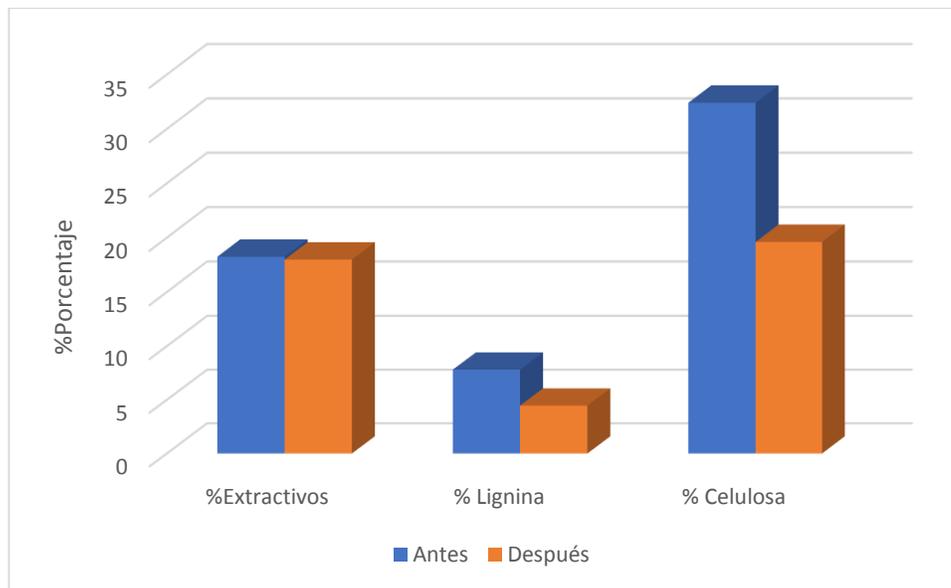


Fuente: elaboración propia.

Partiendo de la gráfica 10 se comparó la composición de extractivos, lignina y celulosa del buchón de agua después de la actividad degradativa del hongo *Pleurotus Ostreatus* en el caldo numero 2 obteniendo que el porcentaje de extractivos no tuvo un cambio significativo, esto va relacionado directamente con la selectividad enzimática del hongo sobre el sustrato. El porcentaje de lignina

removida como sustrato en el desarrollo del hongo fue del 58,39% logrando obtener una pasta de celulosa con una tonalidad de color mucho más clara, también se logra observar que el porcentaje de celulosa obtenido fue del 70,8% respecto a la cantidad obtenida en la caracterización inicial lo que quiere decir que el hongo degradó un 29,19% de celulosa.

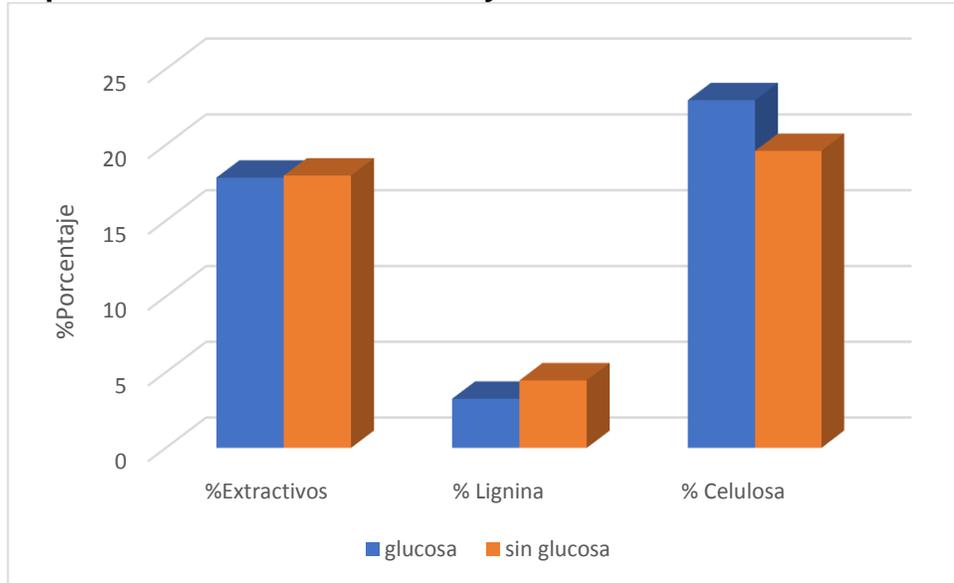
Gráfica 11. Composición final del Buchón de Agua implementado en el caldo No 3 respecto al inicial.



Fuente: elaboración propia.

en esta grafica se comparó la composición de extractivos, lignina y celulosa del buchón de agua después de la actividad degradativa del hongo *Pleurotus Ostreatus* en el caldo número 3 se puede identificar que no hay variación del % de extractivos después de la acción enzimática del hongo, el porcentaje de lignina removida o degradada por el hongo fue del 42,89% respecto al obtenido de la caracterización inicial de la materia prima obteniendo una pasta clara, según los datos se puede ver que el porcentaje de celulosa obtenido fue del 60,49% lo que implica que el hongo por degradó el 39,5% de celulosa.

Gráfica 12. Comparativo de la Composición final del Buchón de Agua implementado en el caldo No 2 y 3



Fuente: elaboración propia.

La grafica 12 representa la comparación de la obtención de celulosa a partir del buchón de agua con la influencia del uso de glucosa como metabolito primario en el desarrollo óptimo del hongo *Pleurotus Ostreatus*, se puede observar que con la presencia de glucosa el porcentaje de lignina removida es mayor ya que en este retira el 58,39% mientras que en el proceso en el que no existe influencia de glucosa se retira un 42,89%.

En cuanto a la celulosa se puede apreciar que el medio de cultivo proporcionado influye directamente en la obtención de esta, ya que el medio que cuenta con glucosa como metabolito primario permitió una mejor degradación de la lignina y una mayor recuperación de la celulosa, mientras que el medio que no contaba con este metabolito se vio afectado evidenciando una mayor degradación de celulosa y una menor degradación de lignina respecto al anterior, siendo el medio de cultivo con glucosa un 15,5 % mejor en degradación de lignina y un 10,3 % mejor en obtención de celulosa.

4.3 BALANCE DE MATERIA

A continuación, se presentan los balances de materia correspondientes a los procesos básico y enzimático, los cuales fueron establecidos de acuerdo con los resultados obtenidos y la carga inicial de materia prima implementada en cada uno de ellos.

Preparación del buchón de agua.

- **SELECCIÓN**

$90 \text{ kg de buchón de agua} = 73 \text{ kg de buchón de agua} + 17 \text{ kg de desecho}$

- **SEPARACIÓN**

$73 \text{ kg de buchón de agua} = 41,7 \text{ kg de fibra vegetal} + 31,3 \text{ kg de desecho}$

- **TRITURACIÓN Y SECADO**

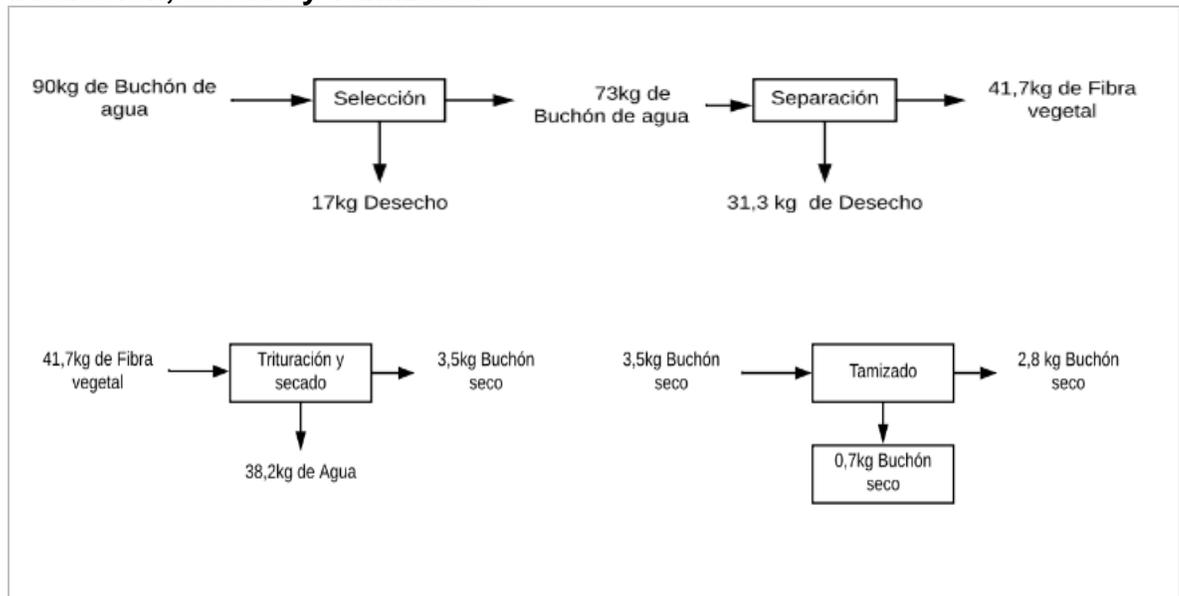
$41,7 \text{ kg de fibra vegetal} = 38,2 \text{ kg de agua} + 3,5 \text{ kg de buchón seco}$

- **TAMIZADO**

$3,5 \text{ kg de buchón seco}$

$= 2,8 \text{ kg de buchón seco} + 0,7 \text{ kg de buchón seco desecho}$

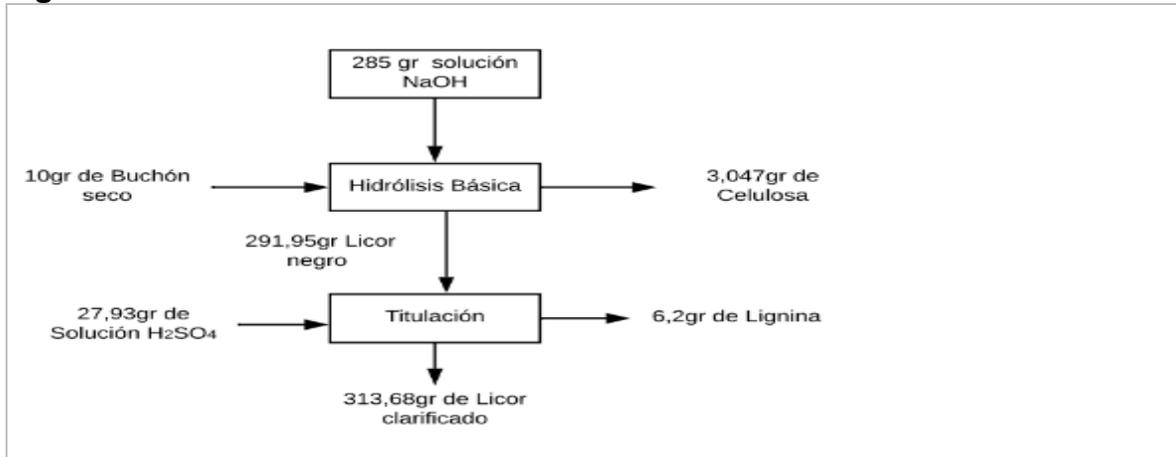
Figura 32. Balance de masa de los procesos de selección, separación, trituración, secado y Tamizado.



Fuente: elaboración propia.

Hidrolisis básica.

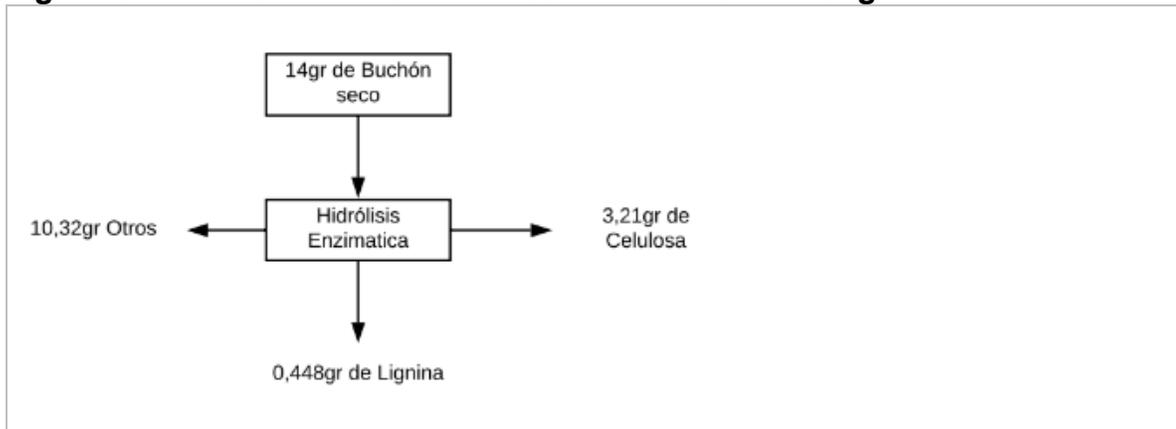
Figura 33. Balance de masa hidrólisis básica.



Fuente: elaboración propia.

Proceso enzimático del Hongo *Pleurotus Ostreatus*.

Figura 34. Balance de masa Proceso enzimático del Hongo



Fuente: elaboración propia.

4.4 SELECCIÓN DEL MÉTODO

Para seleccionar el mejor método es importante tener en cuenta varios aspectos, dentro de los cuales se encuentran:

- La obtención de materias primas y su facilidad de implementación
- Capacidad del método para obtener celulosa a partir del Buchón de agua
- Los recursos necesarios para la implementación del método
- El impacto ambiental que genera extraer celulosa por este método.

Para la implementación de cualquier tipo de metodología industrial se deben tener en cuenta como primera medida los elementos y reactivos necesarios como los son el hidróxido de sodio, ácido sulfúrico y el hongo *Pleurotus Ostreatus* respectivamente según el proceso a realizar.

El hidróxido de sodio conocido industrialmente como soda caustica es un componente altamente corrosivo, es capaz de absorber la humedad contenida en el aire por esta razón su almacenamiento debe ser en superficies herméticamente cerradas y comercialmente este reactivo se usa como base en diferentes preparaciones como la industria papelera, textil y en fabricación de detergentes, este sirve como controlador de pH o neutralizador de sustancias acidas residuales.

Este componente comercialmente puede venir en estado sólido en perlas o líquido en disolución, generalmente este es subproducto del proceso de la caustificación, es una sustancia apetecida industrialmente por su alto nivel de alcalinidad, fácil manejo y almacenamiento no riesgoso, tiene una gran capacidad de generar energía por medio de reacciones exotérmicas siendo útil en cuestión de ahorro de suministro de energía en algunos procesos y en su facilidad de obtención. “La producción mundial en el 2016 fue de aproximadamente de 70 millones de toneladas, mientras que la demanda fue de 65 millones de toneladas lo que representa su gran demanda industrial en el uso de fabricación de variedad de materias primas”.⁶⁹

⁷⁰En la industria textil se usa para la preparación de la materia prima como método en el blanqueamiento de esta y fijación de color, en la industria de alimentos es usado a muy bajas concentraciones en productos envasados o conservas. Este producto comercialmente no tiene ninguna restricción en bajas cantidades, debido a que también es de uso doméstico ya que sirve como limpiador o destapador de cañerías; respecto a la salud ingerir esta sustancia puede causar intoxicación por inhalación causando daños irreversibles, quemaduras y ocasionando hasta la muerte.

⁶⁹DURAPLAST. Tanques de Almacenamiento para Tanques de Hidróxido de Sodio [en línea]. Argentina. 16 de Marzo del 2018, párr. 1. [Consultado: 19 de Noviembre del 2018]. Disponible en Internet: < <http://www.duraplas-argentina.com/blog/tanques-para-almacenamiento-de-hidroxido-de-sodio-soda-caustica> >

⁷⁰ CLORURO DE SODIO. Hidróxido de Sodio Usos, Preparación Y Contraindicaciones. [en línea]. 15 de marzo del 2018, párr. 10. [Consultado: 19 de noviembre del 2018]. Disponible en Internet: < <https://www.clorurodesodio.org/hidroxido-de-sodio/> >

Actualmente la preparación y uso de esta sustancia se usa sin riesgo alguno en la industria y la producción de este es incalculable por la demanda que tiene como materia prima para la obtención de variedad de productos. Si hay algún derrame de esta sustancia debe contar con ácido clorhídrico y una amplia cantidad de agua disponible para atender y mitigar la emergencia respecto al tema de seguridad y salud en el trabajo.

Este compuesto su almacenamiento los tanques son específicamente diseñados teniendo en cuenta el control de la contaminación. Seleccionados para la protección integral de derramamientos y desbordes. Estos tanques plásticos son fabricados utilizando polietileno; el componente no deber ser transportado con alimentos ni con ácidos fuertes o metales y se debe disminuir la humedad en su entorno porque es altamente corrosivo; ambientalmente este compuesto tiene incidencia en el suelo, este reacciona con sustancias acidas presentes en este, esta sustancia no se acumula y no tiene influencia en suelos destinados a la fertilidad de alimentos de consumo humano; respecto al aire y el agua cuando este es liberado al ambiente y se forma lluvia regresa al suelo con una composición de sales que no generan efecto toxico al ambiente pero respecto a las fuentes hídricas esta ingresa a los vertimientos residuales volviéndose peligrosa para ecosistema acuático , pero generalmente es usado para la neutralización de vertimiento disminuyendo el pH y promoviendo la formación de sales no influyentes ni relevantes en la contaminación ambiental.

Figura 35. Tanque de almacenamiento de hidróxido de sodio.



Fuente. Químico global S.A. [en línea]. Abril 10 del 2012. [Citado el 26 de Julio del 2019]. Disponible en línea: <<https://spanish.alibaba.com/g/sodium-hydroxide-storage-tank.html>>

Tabla 18. Ventajas y desventajas del NaOH.

VENTAJAS DEL HIDRÓXIDO DE SODIO	DESVENTAJAS DEL HIDRÓXIDO DE SODIO
<ul style="list-style-type: none">* Es usado como base en diferentes preparaciones de la industrias como papel, textil, fabricación de detergentes, tratamiento de aguas entre otros.* Es una sustancia de fácil manejo y almacenamiento no riesgoso.*Tiene gran capacidad para generar energía por medio de reacciones exotérmicas.	<ul style="list-style-type: none">* Componente altamente corrosivo.*Comercialmente es un producto controlado en cantidades superiores a 5kg.* En su manipulacion es importante el uso de varios elementos de protección personal con el fin de prevenir intoxicaciones, quemaduras y hasta la muerte.*En casos de derrames se debe contar con acido clorhídrico y abundante agua para atender y mitigar la emergencia.

Fuente: elaboración propia.

⁷¹El ácido sulfúrico comercial se encuentra a una concentración del 97% se podría decir que casi puro, en su proceso de producción gasta mucha energía y lograr esa conversión es bastante costosa por su manejo de temperaturas altas y está considerado como un ácido inorgánico fuerte. A nivel industrial es uno de las sustancias más importantes a nivel del mundo, es un producto bastante peligroso y no es un producto domestico debido a su manipulación.

Es una sustancia altamente corrosiva y deshidratante al contacto con la piel puede causar quemaduras químicas severas y es una sustancia altamente reactiva convirtiéndose en un ente primordial de riesgo a explosiones como combustible, es higroscópico y absorbente de la humedad del aire siendo un poderoso agente oxidante capaz de reaccionar con variedad de metales a altas temperaturas. En 1997, se produjeron más de 130 millones de toneladas en todo el mundo. Las posibilidades de aplicación son muy variadas. Se utiliza ácido sulfúrico como catalizador, tenso activo, para producción de dióxido de titanio y materia prima para la formación de otros ácidos comerciales; ⁷²A nivel mundial más de 200 millones de toneladas de ácido sulfúrico se consume anualmente.

El uso de ácido sulfúrico a nivel industrial está enfocado primordialmente en la fabricación de fertilizantes para la producción de ácido fosfórico, el manejo de esta sustancia de acuerdo a todas sus características es bastante delicado este se debe almacenar en lugares ventilados, frescos y secos alejados de calor, herméticamente cerrado y de materiales que eviten la corrosión en recipientes irrompibles o de acero inoxidable. Respecto al medio ambiente esta sustancia en el ambiente se encuentra disociada y no se acumula en el ecosistema, pero cuando se encuentra en un proceso de combustión o hidrolisis de óxidos de azufre si genera afectaciones al aire, generalmente las empresas que manejan este reactivo realizan un tratamiento de neutralización para convertir estos residuos en sales o sulfatos y disminuir el impacto ambiental. En el suelo con la basicidad que contienen no influyen de forma directa debido a la alta concentración básica que posee el suelo, este componente en el aire llega a un equilibrio con el ambiente y la misma atmosfera lo limpia por medio de la lluvia acida haciendo que esta afecte a los materiales del entorno en términos de corrosión y preservación de equipos, pero influye directamente los gases azufrados al efecto invernadero.

⁷¹ INGENIERIA Química. Producción de Ácido Sulfúrico(II)[en línea].18 de Septiembre del 2018,párr.3.[Consultado: 19 de Noviembre del 2018].Disponible en Internet:<<http://www.ingenieriaquimica.net/articulos/399-produccion-de-acido-sulfurico-ii>>

⁷² SCRIBD. Demanda del Ácido Sulfúrico [en línea].14 de agosto del 2018. párr.2. .[Consultado: 19 de Noviembre del 2018].Disponible en Internet:<<https://www.scribd.com/document/321160137/Demanda-Del-Acido-Sulfurico>>

⁷³Los vertimientos de las soluciones acidas diluidas muchas veces se logra recuperar y reintegrar al proceso pero son procesos bastante costosos que no hace representativo en relación a la producción del mismo acido, estos residuos tienen una disposición de desecho que por medio de la adsorción sobre metales como la vermiculita ,arena o tierra los meten en recipientes herméticos y le dan disposición final o generan una neutralización acido base para así ser vertido en el alcantarillado según los reglamentos establecidos del medio ambiente.

En cuanto a la degradación de la materia prima a partir del hongo *Pleurotus Ostreatus* se debe tener en cuenta su morfología, teniendo en cuenta que este es catalogado un microorganismo lignocelulósico tal como se expuso en el desarrollo experimental mencionando que posee ciertas condiciones de incubación y desarrollo del mismo.

Este microorganismo es un hongo comestible lo que lo hace más asequible comparado con otros microorganismos; actualmente se han desarrollado tecnologías para la producción de alimentos de consumo manteniendo su característica nutricional, a través del tiempo se han buscado diferentes formas y fuentes de alimentación de este microorganismo para mirar la viabilidad de fomentar un cultivo de este microorganismo y que sea rentable, una de ella es usar los materiales lignocelulósicos con la finalidad de producir esta clase de hongos comestibles para darles un fin ya sea comestible o usarlo en las diferentes ramas de la investigación como desde hace unos años se ha hecho.

⁷⁴Según un estudio de mercado la producción de este hongo esta alrededor de las 128 toneladas por año este se comercializa en los estratos 4 y 6 el precio de la semilla del hongo varía entre los 10000 y 13000 COP por kg. El cuidado de este microorganismo según sus condiciones de temperatura y humedad de 23°C y 70% respectivamente son condiciones fáciles de mantener donde influye solo costos de inocuidad y esterilidad para la formación y desarrollo de la cepa. Este proceso a nivel ambiental no tiene impacto ambiental alguno ya que la cantidad de biomasa y el residuo biológico no es considerado peligroso ni de salud pública.

⁷³ GUIA 1. Ácido sulfúrico [en línea]. p. 91-94. .[Consultado: 19 de Noviembre del 2018].Disponible en Internet:<
<https://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/018903/Links/Guia4.pdf>>

⁷⁴ GUARIN BARRERO, Joel Andrés y RAMÍREZ ALVAREZ. Estudio de Factibilidad Técnico-Financiero de un cultivo del hongo *Pleurotus Ostreatus* [en línea]. Bogotá D.C.Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ingeniería Industrial.2004. p.15-18. .[Consultado: 19 de Noviembre del 2018].Disponible en Internet:<
<https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ingenieria/tesis79.pdf>>

Después de establecer los materiales empleados en los procesos, se evalúa el posible costo que tienen estas sustancias en función a los procesos, en el caso del proceso de hidrólisis básica en el cual se emplea el hidróxido de sodio y el ácido sulfúrico tienen un costo comercial de \$15000 COP por kg y \$54000 COP el litro respectivamente, para hidrolizar 1kg de buchón seco se necesitan aproximadamente 375g de NaOH y 2,9L de ácido sulfúrico para lograr separar la lignina del licor negro y darle un destino final a este material, mientras que para la misma cantidad de fibra tratada el proceso degradativo de lignina por el hongo solo requiere la compra de la semilla y de la glucosa que tiene un valor por kilo de \$12000COP el cual después de que el hongo se haya desarrollado se puede hacer la cantidad de réplicas necesarias para la producción del compuesto de interés esto quiere decir que el proceso enzimático es el 82,6% más económico respecto a materias primas del proceso químico.

Para elegir el método más conveniente se tuvieron en cuenta dos variables muy importantes respecto a la viabilidad de un proyecto las cuales fueron el impacto ambiental y el rendimiento del proceso en cuanto a la obtención de celulosa.

En el proceso de hidrólisis básica las concentraciones empleadas de hidróxido de sodio se consideran bajas y diluidas lo que infiere que al ser vertidos estos componentes según el comportamiento de esta sustancia con el medio ambiente se considera bajo, obteniendo resultados muy favorables arrojando datos de obtención de pasta celulósica del 95,98% respecto a la cantidad de celulosa que contiene el buchón de agua expuesto en la caracterización inicial, también se analiza que tiene una gran eficiencia respecto a la remoción de lignina logrando retirar un 99,87% de lignina respecto a la cantidad que posee el buchón de agua en la caracterización inicial y según las características del ácido sulfúrico el uso de esta sustancia a pesar de lo peligrosa que es se puede disminuir el impacto haciendo este efecto casi nulo por medio de neutralización básica esto influye directamente en los costos del proceso químico.

En la implementación de este método según las relaciones de proporción entre los reactivos se evidencia que son necesarias grandes cantidades de agua y ácido por lo que cabe resaltar que la cantidad de vertimientos ácidos van a ser grandes y que para mantener el equilibrio ecológico deben tener un tratamiento antes de desecharlos, adicionalmente el manejo y almacenamiento de estos reactivos, genera un gran impacto en el trascurso del proceso debido a que tuberías o reactores que se encuentren en contacto con estas sustancias presentarán desgastes en maquinaria por ser agentes corrosivos, que requerirán de un mantenimiento adecuado, lo que aumentara el costo del proceso global.

El proceso de degradación enzimática a partir del hongo *Pleurotus Ostreatus* se lleva a cabo a temperaturas bajas, presión atmosférica y un ambiente que le proporcione una gran cantidad de humedad en el aire; este proceso no requiere mucha inversión debido a que según la morfología del hongo se considera un microorganismo fácil de manejar donde solo se requiere un ambiente estéril.

El rendimiento en la obtención de este método respecto al químico fue más bajo obteniendo resultados del 76,97% y 58,51% en obtención de celulosa y degradación de lignina respectivamente; en este tipo de desarrollo se ve afectado por el tiempo de producción debido a que el tiempo de adaptación del hongo aunque no es muy prolongado, a nivel industrial respecto al proceso químico si es una variable en contra debido a que mientras que el primer proceso obtiene mayor cantidad de celulosa en unas horas este proceso obtiene menor cantidad de esta alrededor de 20 días haciendo que la producción pueda ser baja; pero por otro lado esta metodología biológica ahorraría mucho dinero debido a que el costo de los componentes o materiales respecto al proceso químico es mucho mayor y este no requiere un tratamiento de aguas o vertimientos industriales debido a que al ser un proceso degradativo el hongo que es retirado por un lavado es considerado un desecho de biomasa menor.

Tabla 19. Ventajas y desventajas del Hongo *Pleurotus Ostreatus*.

VENTAJAS DEL HONGO PLEUROTUS OSTREATUS	DESVENTAJAS DEL DEL HONGO PLEUROTUS OSTREATUS
<ul style="list-style-type: none"> * Es un hongo Comestible *Su producción es de 128 Toneladas por año. *Sus condiciones de desarrollo son faciles de mantener. 	<ul style="list-style-type: none"> * La Industrialización del proceso debe mantener condiciones de asepsia, que aseguren el crecimiento y desarrollo del hongo. *Genera un rendimiento inferior respecto al metodo Quimico

Fuente: elaboración propia.

Otro inconveniente del proceso es que al manejar microorganismos se corre el riesgo de que este por condiciones del proceso o medioambientales no se desarrolle e inhibe su crecimiento haciendo que la perdida en la producción en el tiempo sea

mayor , pero un punto a recalcar es que a comparación del proceso por hidrolisis básica requeriría de menos equipos pero esto no implica que disminuya en costos debido a que los equipos de almacenamiento y tratamiento de microorganismos son más costosos debido a las condiciones que se deben mantener en el proceso.

Como se mencionó anteriormente según la naturaleza de los componentes la hidrolisis básica genera mayor impacto ambiental por los enormes volúmenes que se generarían de estos vertimientos., según procesos de separación se puede pensar en la posibilidad de recuperar los reactivos tanto del ácido sulfúrico como el hidróxido de sodio durante el proceso. El manejo de ácido sulfúrico por sus características de peligrosidad tiene una norma legal respecto al manejo, compra, importación, consumo, almacenamiento y distribución de esta.

Fuera del proceso ambiental y de la influencia que tiene cada uno de ellos se analiza el rendimiento de cada proceso en relación a la obtención de celulosa obteniendo que en el proceso de hidrolisis básica usando el NaOH a altas concentraciones fue mayor que el proceso degradativo por el hongo logrando determinar que el proceso alcalino obtuvo un 19,01% más efectivo respecto al enzimático.

Tabla 20. Comparativo entre el Hongo *Pleurotus Ostreatus* y el Hidróxido de sodio.

HONGO PLEUROTUS OSTREATUS	HIDROXIDO DE SODIO
<p>No es corrosivo Necesita de la Humedad para su desarrollo Debe mantener condiciones de pH que no alteren su crecimiento. No es una materia prima controlada En su desarrollo optimo no genere efecto toxico. En el estudio realizado generó menor rendimiento. Permite obtener 1 gramo de celulosa en 21 dias.</p>	<p>Altamente corrosivo Capacidad de absorción de humedad del aire (almacenamiento hermético) Controlador de pH o neutralizador de sustancias residuales. Alto nivel de alcalinidad. Control a partir de 5kg o 5 litros mensuales. Reacciona con sustancias acidas presentes en el suelo A contacto con el aire o lluvia genera sales sin efecto tóxico. Permite obtener 1 gramo de celulosa en unas horas.</p>

Fuente: elaboración propia.

Según los criterios evaluados anteriormente se puede decir que ambos procesos industrialmente son viables pero teniendo en cuenta que el objetivo fundamental en el cual se desarrolló esta investigación era determinar qué proceso obtenía mayor cantidad de celulosa , y a pesar que como se expuso en el desarrollo del proyecto

la viabilidad en la actualidad no solo es la rentabilidad sino también la posibilidad de generar un proceso productivo que sea consecuente con la situación ambiental, si se buscara un procedimiento ecológico se seleccionaría el método enzimático sin embargo se decide seleccionar como mejor método la hidrólisis básica a partir de hidróxido de sodio por la cantidad de celulosa que se logró extraer, además de la facilidad que tiene su implementación industrial respecto al otro.

Al seleccionar uno de los métodos se realiza una proyección financiera de una planta operativa de producción de pasta de celulosa por el método químico, se tuvo en cuenta la adquisición de la materia prima, el uso de reactivos, el manejo de personal y de recursos necesarios para llevar a cabo el manejo de 21 toneladas de buchón de agua para la obtención de aproximadamente de 1 tonelada de pasta celulósica. En este estudio se asume que se tiene la disponibilidad de la planta de producción y de laboratorio para los estudios correspondientes.

Tabla 21. Recurso humano

RECURSO HUMANO					
FUNCIONARIO	CANTIDAD	AÑO	DÍAS	SALARIO BASE	SALARIO TOTAL
OPERARIO	1	junio-19	25	\$ 858.978	\$ 1.202.569
INGENIERO	1	junio-19	25	\$ 1.000.000	\$ 1.400.000
GESTOR COMERCIAL	1	junio-19	25	\$ 3.002.238	\$ 4.203.133
NÓMINA MENSUAL	2	junio-19	25	\$ 4.861.216	\$ 6.805.702

Fuente: elaboración propia.

Se citan las variables iniciales para el inicio de la operación con una nómina de 3 personas (inicialmente) cuyo salario se describe en el cuadro inmediatamente anterior, destacando el gestor comercial, cuyo salario está compuesto por el salario mínimo legal vigente y una comisión del 3% sobre las ventas proyectadas.

Tabla 22. Datos iniciales.

DATOS INICIALES KILOGRAMO	
DÍAS LABORADOS * MES	25
HORAS * DÍA	8
KG BUCHON DE AGUA	21000
KG FIBRA VEGETAL	11970
RENDIMIENTO CELULOSA	5%
KG DE CELULOSA OBTENIDA	1020,6
PRECIO DE VENTA KG	\$ 2.800

Fuente: elaboración propia.

Se continúa con los días operativos del mes, las horas del día y los kilogramos de buchón de agua requerido para la producción proyectada diariamente, teniendo en cuenta que el buchón tiene un rendimiento global del 4-5 %y un 31% en peso seco de fibra cuyo resultado después del proceso de deshidratación corresponde a 12 toneladas este valor corresponde al material seco de fibra disponible.

Tabla 23. Materia prima.

MATERIA PRIMA EN KILOGRAMOS					
MATERIA PRIMA	DIA	MES	COSTO EN KG	CANTIDAD	DATOS
RECOLECCION MATERIA PRIMA	\$ 105.000	\$ 3.150.000	\$ 5	21000	
PRODUCTOS QUIMICOS(NaOH 15%)	\$ 26.925.000	\$ 673.125.000	\$ 15.000	1795	
PRODUCTOS QUIMICOS(Na2S 20%)	\$ 3.112.200	\$ 77.805.000	\$ 1.300	2394	
PRODUCTOS QUIMICOS(CaCO3)	\$ 3.591.000	\$ 107.730.000	\$ 1.500	2394	
BOLSAS POLIPROPILENO	\$ 200.000	\$ 6.000.000	\$ 200	1000	
EPP	\$ 2.000	\$ 50.000	\$ 2.000		
ELEMENTOS DE ASEO	\$ 2.500	\$ 62.500	\$ 2.500		
	\$ 33.937.700	\$ 867.922.500	\$ 22.505		
SERVICIOS	DIA	MES	C. FACTURA	CANTIDAD	DATOS
GAS	\$ 316.800	\$ 9.504.000	\$ 9.504.000	8000	M3= 88,12 KWH \$ 1188
AGUA Y ALCANTARILLADO	\$ 1.017.417	\$ 30.522.500	\$ 61.045.000	8000	M3
ELECTRICIDAD	\$ 843	\$ 25.300	\$ 25.300	50	KW/h \$506,34
	\$ 1.335.060				
TOTAL M.P/ SERVICIOS	\$ 34.561				

Fuente: elaboración propia.

Se cita la materia prima para revisar el costo aproximado comercial de la misma, junto con la proyección de servicios públicos requeridos en el proceso de digestión y obtención de la pasta, por día y por mes por kilogramo de buchón recolectado, basándose en los valores de recibos reales, por lo que el resultado arrojado es la suma de la materia prima con insumos y el valor de los servicios públicos, dividido en la cantidad de kilogramos procesados (producto final).

Así mismo, se tiene en cuenta los costos de Mano de Obra por mes, de la nómina citada en el primer cuadro, con el fin de determinar costo por kilogramo depasta celulósica, de igual forma, se realiza la sumatoria del costo de la M.O con el costo de la materia prima (\$ 112.340) arrojando como resultado un sobre costo en la producción de celulosa por kilogramo, teniendo en cuenta que el precio de venta por kilogramo está determinado en \$ 8000 , así mismo, se proyecta la caja disponible diaria, mensual y bimensual para la producción, como el rodamiento del gestor comercial.

Finalmente, se tienen los datos de la proyección realizada, determinante en la viabilidad del proyecto, donde se evidencia que, procesando buchón de agua en un turno de 8 horas, la producción es de 1 tonelada, por consiguiente, 25 toneladas de

pasta en los 25 días de labor mensual proyectados y con una venta de \$ 71.442.000 mensuales vendiendo por completo toda la producción, no es factible el caso de negocio puesto que se entra en pérdidas operacionales, como se presenta a continuación:

Tabla 24. Proyección de la producción.

PROYECCIÓN DE LA PRODUCCIÓN		
1020,6	KG DE PASTA CELULOSICA A PRODUCIR DIA	
1020,6	BOLSAS DIA DE 1 KG	
25515	BOLSAS DE 1KG EN 25 DIAS	
\$ 71.442.000	PROYECCIÓN PRODUCCIÓN MENSUAL EN PESOS	
-\$ 2.795.169.820	UTILIDAD PROYECTADA MENSUAL SIN IMPUESTOS	
-\$ 69.879.245	IMPUESTOS	35% EA
-\$ 2.725.290.574	UTILIDAD NETA	2,5% NMV

Fuente: elaboración propia.

Se puede apreciar en la tabla de utilidad que la pérdida económica es bastante grande esto se debe a diferentes factores debido a que tal como se ve observa en la proyección las cantidades de materia prima que requiere el proceso son bastante grandes si esta aumentara generaría una brecha positiva en la capacidad de producción de pasta lo que influye directamente proporcional con las utilidades de la comercialización de la celulosa; otro aspecto importante es que en los procesos convencionales como el proceso kraft para la obtención de pasta celulósica en la fabricación de papel lo que hace rentable el procesamiento de la pasta es que hay procesos y mecanismos para la recuperación total y parcial de los reactivos empleados tanto en la digestión de la pasta como en el blanqueamiento de la misma como lo son el hidróxido de sodio, carbonato de calcio y sulfuro de sodio. Si esto se realizara disminuiría notablemente los costos mensuales en el empleo de materias primas.

Otro factor es el precio de venta ya que este es afectado directamente según la calidad de celulosa extraída, dependiendo si está o no blanqueada; si la pasta se encuentra cristalizada el precio de venta puede aumentar desde los \$8000COP que se estipulo en este caso de negocio hasta alrededor de los \$146000 COP/KG debido a que esta es usada principalmente en alimentos lo que implicaría un aumento bastante considerable en las utilidades, logrando llegar a un equilibrio costo beneficio.

Finalmente se resalta que la materia prima considerada como buchón de agua tiene un 96% de agua y desechos orgánicos que al secarla se obtiene un 4% en material de fibra seca y de este por el método químico se obtiene un 31% de pasta celulósica, analizando estos porcentaje se observa que el rendimiento del proceso

es muy bajo y radica primordialmente en la disponibilidad de celulosa de la materia prima esto cambiaría si se trata cantidades exorbitantes de buchón de agua con la finalidad de asegurar una gran cantidad de pasta celulósica con el fin de aumentar la producción de la misma y generar mayores utilidades.

5. CONCLUSIONES

- De acuerdo con la caracterización del buchón de agua, se puede concluir que, respecto a la revisión bibliográfica mencionada en el proyecto, los valores obtenidos en el desarrollo experimental son acordes en relación con las características físicas y la composición del buchón de agua teniendo en cuenta componentes como celulosa (32,4%) y lignina (7.8%) los cuales fueron considerados como interés principal en la ejecución del proyecto. Teniendo en cuenta que el buchón de agua tiene un porcentaje de celulosa del 32,4 % y que esta se encuentra catalogada como alfa celulosa la cual es considerada la mejor en la fabricación de papel.
- A partir del proceso de hidrólisis básica implementada en el buchón de agua, fue posible obtener diferentes cantidades de celulosa de acuerdo con el diseño de experimentos realizado, consiguiendo un máximo valor de 31,5% de celulosa en un tiempo de 1 ½ horas y a una concentración de 15 % en hidróxido de sodio. Además, cabe señalar que la extracción de celulosa va directamente ligada a la separación de la lignina de la cual fue posible evidenciar que a concentraciones del 15% en hidróxido de sodio entre más transcurre el tiempo entre 1 hora y 2 horas, es posible remover mayor cantidad de lignina.
- A partir del proceso enzimático del hongo *Pleurotus Ostreatus* en el buchón de agua por medio de la degradación de lignina se pudo evidenciar que por esta ruta metodológica se obtiene gran cantidad de celulosa representando el 22,94% extraído de celulosa; usando metabolitos primarios como la glucosa con el fin de que este degrade una sustancia metabólicamente más simple y le sirva para el desarrollo de su crecimiento asegurando que la degradación de la celulosa sea mucho menor y haciendo que este método de obtención se considere ecológicamente viable por la reducción de impacto ambiental.
- Al comparar los métodos fue posible evidenciar que existen diferentes factores que influyen en la selección del método, como lo son la obtención de materias primas y reactivos junto con su facilidad de implementación en los procesos, los recursos necesarios para la implementación del método, el rendimiento del proceso enfocado en la obtención de celulosa y finalmente el impacto ambiental que genera cada uno de estos procesos; los cuales permitieron establecer y evaluar cada método subjetivamente según esos parámetros dando como resultado que en búsqueda del cumplimiento del objetivo del proyecto el método más conveniente en la producción de celulosa es por hidrólisis básica debido a que en cuestión de rendimiento del componente de interés arroja una mayor producción de este, los reactivos utilizados son de amplia adquisición comercial

y ambientalmente los desechos industriales posibles que se puedan generar son asquiblemente tratados sin que haya una afectación ambiental considerable.

- Fue posible Evaluar la Obtención de Celulosa partiendo del buchón de agua por cada uno de los métodos, básico y enzimático

6. RECOMENDACIONES

- Evaluar el desarrollo del hongo en el caldo 2 por un tiempo más prolongado con el fin de profundizar en el crecimiento de este, debido a que se piensa que podría continuar su fase exponencial.
- Analizar el consumo energético de cada uno de los procesos y las condiciones técnicas de los posibles equipos a utilizar en cada unidad de proceso
- La pulpa de celulosa obtenida está definida como pulpa cruda de celulosa por lo cual se recomienda evaluar la posibilidad de blanquearla o hidratarla para mejorar sus características según las necesidades del mercado.
- Evaluar el proceso a partir del buchón de agua proveniente de otra fuente hídrica debido a que la carga de contaminantes e la fuente puede afectar la composición química del mismo.
- Evaluar la actividad enzimática de la peroxidasa proveniente del hongo para identificar la velocidad con la cual la enzima degrada los componentes del buchón de agua seco.

BIBLIOGRAFÍA

ALBARRACION CALDERON, Luis Carlos. MARTINEZ NIETO, Patricia. RODRÍGUEZ BORRAY, Gonzalo. Suplementación para bovinos de carne a partir del enriquecimiento proteico del bagazo de caña por acción del hongo Pleurotus Ostreatus. 2011, p 13. Disponible en: <http://corpomail.corpoica.org.co/BACFILES/BACDIGITAL/56688/56688.pdf>

ARGENBIO; La biotecnología en la fabricación de papel. En: Cuaderno N 97. 207. Disponible en Internet:< <http://www.porquebiotecnologia.com.ar/index.php?action=cuaderno&opt=5&tipo=4¬e=97>>

AUSTIN, GEORGE. Manual de Procesos Químicos en la Industria. Mc Graw Hill. 1990

LIBBY, EARL. Ciencia y tecnología sobre pulpa y papel. Editorial Continental. 1982. ENCURED. Extractor de Soxhlet. [en línea]. Consultado el 30 de octubre de 2018. Disponible en internet en < https://www.ecured.cu/Extractor_de_soxhlet>

AUSTIN, GEORGE. Manual de Procesos Químicos en la Industria. Mc Graw Hill. 1990.

Asociación microbiológica fungipedia. Catálogo de setas y hongos (pleurotus ostreatus. [en línea]. Disponible en internet:< <https://www.fungipedia.org/hongos/pleurotus-ostreatus.html>>

AVENDAÑO, Mary Luz. Cuadernos que salen del agua.[en línea].En: EL ESPECTADOR.13 de julio del 2009.parr 5-7.[Consultado: 28 de octubre del 2018].Disponible en Internet:< <https://www.elespectador.com/impreso/vivir/articuloimpreso150561-cuadernos-salen-del-agua>>

CARACTERIZACIÓN AGUA RESIDUAL. Caracterización física. Sección 4. Disponible en internet:< http://aulavirtual.usal.es/aulavirtual/demos/simulacion/modulos/curso/uni_03/u3c3s4.htm>

Biología. [en línea]. [Citado el 30 de Agosto del 2018]. Disponible en Internet: CARREÑO PINEDA, Luz; CAICEDO MESA, Luis y MARTINEZ, Carlos. Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión. En: Ingeniería y ciencia. Vol8, n 16, pp. 307-335, julio-diciembre 2012.Disponible en Internet:< <http://www.scielo.org.co/pdf/ince/v8n16/v8n16a12.pdf>>

CASTIBLANCO Amaya, Lorena; OSPINA Santos, Claudia. Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs) en la empresa MAAT SOLUCIONES AMBIENTALES SAS. Bogotá. universidad: universidad de america,2015. p.38

CASTIBLANCO Amaya, Lorena; OSPINA Santos, Claudia. Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs) en la empresa MAAT SOLUCIONES AMBIENTALES SAS. Bogotá. Universidad: universidad de america,2015. p.37

CASTIBLANCO, Lorena y OSPINA, Claudia; Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs). Bogotá. Universidad: Universidad de America,2015. p.39-40.

CASTIBLANCO, Lorena y OSPINA, Claudia; Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs). Bogotá. Universidad: Universidad de America,2015. p.35-37.

CASTIBLANCO, Lorena y OSPINA, Claudia; Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs). Bogotá. Universidad: Universidad de America,2015. p.36.

CASTIBLANCO, Lorena y OSPINA, Claudia; Evaluación de la obtención de celulosa como alternativa para el aprovechamiento de los residuos de madera (RCDs). Bogotá. Universidad: Universidad de America,2015. p.37.

Celulosa. EcuRed. [En línea]. [Citado el 30 de Julio del 2018]. Disponible en Internet:< <https://www.ecured.cu/Celulosa>>

CONCEPTODEFINICION.DE.definicion de hongos. Publicado abril 3 2014.Disponible en Internet:< <https://conceptodefinicion.de/hongos/>>

CORREDOR Hernández, Ricardo; LOPEZ Rodríguez, Claudia. Evaluación del crecimiento y producción del pleurotus ostreatus sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. Bogotá. Universidad: Pontificia Universidad Javeriana. p.27.Disponible en internet:< <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis257.pdf>>

COULTATE, 1984.Citado por LAVERDE ACURIO, Jorge Luis. Estudio de las condiciones óptimas para la obtención de jugo clarificado de arazá, mediante procesos enzimático y membranario. Trabajo de grado profesional en Ingeniería Agroindustrial. Ecuador, Quito.: Escuela politécnica nacional facultad de Ingenieria.2010.20p. [Citado el 31 de Julio 2018]. Disponible en Internet:< <https://books.google.com.co/books?id=uYAZAQAAMAAJ>>

Disponible en Internet: < <http://www.eis.uva.es/~macromol/curso08-09/pls/celulosa.htm>>

CLORURO DE SODIO. Hidróxido de Sodio Usos, Preparación Y Contraindicaciones. [en línea].15 de marzo del 2018, párr.10. [Consultado: 19 de noviembre del 2018]. Disponible en Internet:<
<https://www.clorurodesodio.org/hidroxido-de-sodio/>>

En plantas, funciones, en donde se encuentra y su obtención [en línea]. Abril 5 del 2011.[Citado el 31 de Julio del 2018]. Disponible en Internet:
<http://carbohidratosytemasrelacionados.blogspot.com/2011/04/carbohidratos-en-plantas-funciones.html>

GIMENO, Alberto. Principales factores condicionantes para el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas (2-5). MICOTOXINAS. Publicado el 04 de mayo de 2002. Párr.2-3. [Consultado el 24 de octubre de 2018]. Disponible en internet:<
<https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/principales-factores-condicionantes-desarrollo-t26065.htm>>

GUIA 1. Ácido sulfúrico [en línea]. p. 91-94. .[Consultado: 19 de Noviembre del 2018].Disponible en Internet:<
<http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/018903/Links/Guia4.pdf>>

GUARIN BARRERO, Joel Andrés y RAMÍREZ ALVAREZ. Estudio de Factibilidad Técnico-Financiero de un cultivo del hongo Pleurotus Ostreatus [en línea]. Bogotá D.C.Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ingeniería Industrial.2004. p.15-18. .[Consultado: 19 de Noviembre del 2018].Disponible en Internet:<
<https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ingenieria/tesis79.pdf>>

GUTIÉRREZ MARTÍNEZ, A. Mecanismos de biodegradación de la lignina. En: Revista IBEROAMERICANA DE MICROBIOLOGIA.vol.13. 1996.p.18-23. [en línea]. Disponible en Internet:<
<http://digital.csic.es/bitstream/10261/71580/1/Mecanismo%20de%20biodegradaci%C3%B3n%20de%20la%20lignina.pdf>>

Hemicelulosa. [En línea]. [Citado el 31 de Julio del 2018]. Disponible en Internet:<
<https://es.wikipedia.org/wiki/Hemicelulosa>>

HERNÁNDEZ CORREDOR, Ricardo Alfredo y LÓPEZ RODRÍGUEZ, Claudia Liliana. Evaluación del crecimiento y producción de Pleurotus Ostreatus sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Microbiología Industrial. P.32.

INGENIERÍA Química. Producción de Ácido Sulfúrico(II)[en línea].18 de Septiembre del 2018,párr.3.[Consultado: 19 de Noviembre del 2018].Disponible en Internet:<
<http://www.ingenieriaquimica.net/articulos/399-produccion-de-acido-sulfurico-ii>>

ISA Hispana. Identificación del tipo de pudrición de la madera y hongos xilófagos en arboles urbanos. Disponible en Internet:<
<https://www.isahispana.com/treecare/articles/decay-fungi>>

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Comprendido de normas para trabajos escritos.NTC-1486-6166.Bogota D.C: El instituto, 2018.ISBN 9789588585673 153 p.

Jacinto de agua, Camalote, Camalotes, Lampazo, Violeta de agua, Buchón, Taruya [en línea]. [Citado el 30 de Julio del 2018]. Disponible en Internet:<
<http://fichas.infojardin.com/acuaticas/eichhornia-crassipes-jacinto-de-agua-camalote-camalotes.htm>>

JUÁREZ LUNA, Gregorio Nicolás. Cambios en la composición del lirio acuático (Eichhornia crassipes) debidos a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica. Trabajo de grado profesional en Ingeniería Bioquímica. México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Departamento de Ingeniería. 2011.2p. [Citado el 30 de Julio 2018]. Disponible en Internet: <[http:// tesis_juarez_luna_gregorio.pdf](http://tesis_juarez_luna_gregorio.pdf)>

JUÁREZ LUNA, Gregorio Nicolás. Cambios en la composición del lirio acuático (Eichhornia crassipes) debidos a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica. Trabajo de grado profesional en Ingeniería Bioquímica. México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Departamento de Ingeniería. 2011.2p. [Citado el 30 de Julio 2018]. Disponible en Internet: <[http:// tesis_juarez_luna_gregorio.pdf](http://tesis_juarez_luna_gregorio.pdf)>

JUAREZ LUNA, Gregorio; Cambios en la composición del lirio acuático (Eichhornia crassipes) debidos a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica.Mexico.Universidad: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, 2011.p.30.

JUAREZ LUNA, Gregorio; Cambios en la composición del lirio acuático(Eichhornia crassipes) debidos a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica.Mexico.Universidad: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biologicas,2011.p.37-38.

MARTINEZ BENCARDINO, CIRO. Estadística y Muestreo. ECOE Ediciones. 2000.
LIBBY, EARL. Ciencia y tecnología sobre pulpa y papel. Editorial Continental. 1982.
AUSTIN, GEORGE. Manual de Procesos Químicos en la Industria. Mc Graw Hill. 1990

MEDINA, Raúl y ROSAS, Ernesto; Factibilidad de la obtención de celulosa a partir de los residuos provenientes del despulpado de la mora como materia prima en la industria del papel. Bogotá Universidad: Universidad de America,2004. p.61

MEDINA, Raúl y ROSAS, Ernesto; Factibilidad de la obtención de celulosa a partir de los residuos provenientes del despulpado de la mora como materia prima en la industria del papel. Bogotá Universidad: Universidad de America,2004. p.58-61

MUÑOZ, Laura. E valuación de enzimas degradadoras de lignina producidas por aislamientos fúngicos de cultivos de arroz. Bogotá Universidad: Pontificia Universidad Javeriana,2012. p.20.

MUY FITNESS.” ¿son las papas acidas o alcalinas?”. Disponible en Internet:<
https://muyfitness.com/son-las-papas-acidas-o-alcalinas_13171399/>

CULTIVO DE SETAS.” Setas comestibles. Disponible en internet:<
<http://www.cultivodesetas.es/setas-comestibles/como-cultivar-setas-pleurotus-ostreatus>>

OLLE, 1997. Citado por LAVERDE ACURIO, Jorge Luis. Estudio de las condiciones óptimas para la obtención de jugo clarificado de arazá, mediante procesos enzimático y membranario. Trabajo de grado profesional en Ingeniería Agroindustrial. Ecuador, Quito.: Escuela politécnica nacional facultad de Ingenieria.2010.20p. [Citado el 31 de Julio 2018]. Disponible en Internet:<
<https://books.google.com.co/books?id=uYAzAQAAMAAJ>>

OSPINO VILLABA, Karen; RIOS, Luis Alberto. Producción de Bioetanol a partir de Jacinto de agua (Eichhornia Crassipes) respecto a otros materiales lignocelulósicos. En: Revista AGUNKUYA.vol.2. N1(jun.,2012); p.50. [en línea]. [Citado el 31 de Julio del 2018]. Disponible en Internet:<
<http://revia.areandina.edu.co/ojs/index.php/Cc/article/view/302/331>>

OSPINO VILLALBA, Karen y RIOS, Luis Alberto. Producción de bioetanol a partir de Jacinto de agua(Eichhornia crassipes) respecto a otros materiales lignocelulósicos[en línea].1 ed., enero-julio del 2012.Revision.p 42-53.[Consultado: 28 de octubre del 2018].Disponible en Internet:<
<file:///C:/Users/Diego/Downloads/302-316-1-PB.pdf>>

PAULOWNIA; Proceso para la obtención de celulosa. Disponible en Internet:<
<https://sites.google.com/site/paulowniatormentosa/proceso-para-la-obtencion-de-celulosa>>

Química y Tecnología de Macromoléculas [en línea]. Abril 10 del 2012. [Citado el 31 de Julio del 2018].

SANZ TEJEDOR, Ascensión. Tecnología de la celulosa. La industria papelera. [en línea]. Química Orgánica Industrial.parr33. [Citado el 30 de agosto del 2018]. Disponible en Internet: <<https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-03.php>>

SANZ TEJEDOR, Ascensión. Tecnología de la celulosa. La industria papelera. [en línea]. Química Orgánica Industrial.parr33. [Citado el 30 de agosto del 2018]. Disponible en Internet: <https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-03.php>

SANZ TEJEDOR, Ascensión. Tecnología de la celulosa. La industria papelera. [en línea]. Química Orgánica Industrial.parr39. [Citado el 30 de agosto del 2018]. Disponible en Internet: <https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-03.php>

SANZ TEJEDOR, Ascensión; Tecnología de la celulosa. La industria papelera. Disponible en Internet:< <https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-03.php>>
SETAS DE SIECHA. Propiedades y beneficios de la Orellana. Disponible en Internet:< <https://www.setasdesiecha.com/orellana-propiedades-beneficios.html>>

SCRIBD. Demanda del Ácido Sulfúrico [en línea].14 de agosto del 2018. párr.2. [Consultado: 19 de Noviembre del 2018].Disponible en Internet:< <https://www.scribd.com/document/321160137/Demanda-Del-Acido-Sulfurico>>

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MEXICO. Facultad de química [en línea]. [Citado el 31 de Julio del 2018]. Disponible en Internet:< http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Seminario-Celulosa_27101.pdf>

VALDERRAMA 2008, OPANDE et al. 2004. Citado por YUSTI MUÑOZ, Ana Paola. Uso del Buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) por la comunidad aviar de dos humedales del valle geográfico del río cauca, Colombia. Trabajo de grado profesional en Biología. Colombia, Cali.: Universidad del Valle facultad de ciencias naturales y exactas.2012.3p. [Citado el 30 de Julio 2018]. Disponible en Internet: <http://bibliotecadigital.univalle.edu.co/bitstream/10893/8442/1/CB-0461355.pdf>

VASCO ZAMUDIO Y SANCHEZ. " análisis de la gestión ambiental del humedal Gualí tres esquinas, vereda el ható(Funza-Cundinamarca).Bogotá Universidad Distrital Francisco José de caldas,2017.p.42-43.Disponible en Internet:<http://repository.udistrital.edu.co/bitstream/11349/5920/1/VASCO%20ZAMUDIO%20SORANLLY%20PAOLA%202017.pdf>

VIVIENDO LA SALUD. ¿Qué son los hongos? Los 9 tipos principales y sus características. Disponible en internet: :< <https://viviendolasalud.com/salud-y-remedios/hongos-tipos-caracteristicas>>

ANEXOS

ANEXO A.
ANALISIS BROMATOLOGICO DEL BUCHON DE AGUA PROPORCIONADO
POR EL LABORATORIO AGRILAB

CERTIFICADO DE ANALISIS
BROMATOLOGICO

KANANCE INGENIERIA S.A.S

Remitente: KANANCE INGENIERIA S.A.S	Dirección de Contacto: gerencia@kanaceingenieria.com
--	---

Número de Certificado:	ABR 5534	Fecha Ingreso
Cultivo / Variedad	No_Especificado - No Especificado	14/09/2018
Departamento / Municipio / Finca	Cundinamarca - Mosquera - Guali	Fecha Emisión
Identificación	No Especificado - Humedal	05/10/2018

Parámetro	Expresión	Resultados	Unidades	Extracción / Método analítico / Referencia
Humedad	-	90,4	%	70 °C / Gravimétrico / Bernal 1994
Materia Seca	-	9,60	%	70 °C / Gravimétrico / Bernal 1994
Cenizas	Fracción mineral	15,4	%	700 °C / Gravimétrico / Bernal 1994
Pérdidas por volatilización	-	84,6	%	700 °C / Gravimétrico / Bernal 1994

Fracción Orgánica				
Parámetro	Expresión	Resultados	Unidades	Extracción / Método analítico / Referencia
Extracto Etéreo	Grasa	N.S	%	Eter / Gravimétrico / Bernal 1994
Fibra Cruda	FC	15,1	%	Muestra ácida / Gravimétrico / Bernal 1994
Fibra detergente ácida	FDA	24,8	%	Método Interno
Fibra detergente neutra	FDN	50,3	%	Método Interno
Celulosa	-	4,83	%	Gravimétrico / Método Interno
Hemicelulosa	-	25,5	%	Gravimétrico / Método Interno
Lignina	-	4,57	%	Gravimétrico / Método Interno

Claves	Referente al servicio solicitado:	Referente al informe:
	N.S: No solicitado M.I: Muestra Insuficiente N.A.: No Aplica	-Resultados expresados en base seca -M.M: Mineralización Vía Húmeda. -Valor resultado: Valor verificado

Este documento registra fielmente el resultado de las mediciones realizadas. Los resultados contenidos en el presente, hacen referencia a la(s) muestra(s) analizadas en las fechas indicadas. El laboratorio no presta el servicio de muestreo en campo, en consecuencia no se responsabiliza de los perjuicios derivados de dicho proceso, así como de errores en la interpretación de los resultados. La fecha de ejecución de los ensayos, corresponde al periodo comprendido entre la fecha de ingreso y la fecha de emisión.

El presente certificado no puede ser reproducido parcial o total, excepto si se otorga permiso escrito por parte del laboratorio AGRILAB S.A.S.

MYRIAM BENDECK LUGO
 Química Directora Técnica PQ-1168

Página 1 de 1 - Fin del informe

Andrés Moreno O.
ALVARO ANDRÉS MORENO O.
 Químico Coordinador de Área PQ-5067

ANEXO B

MODELO ESTADISTICO DEL DISEÑO DE EXPERIMENTOS PROPORCIONADO POR EL PROGRAMA DESIGN EXPERT.

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F-valor	p-valor	
Modelo corregido	4,16	8	0,5206	6574,76	<0,0001	Significante
A- Concentración	2,34	2	1,17	14760,23	<0,0001	
B-Tiempo	1,72	2	0,8611	10874,91	<0,0001	
Falta de ajuste A*B	0,1051	4	0,0263	331,96	<0,0001	
Total corregido.	4,17					