



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**DISEÑO DE INVESTIGACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A
PARTIR DE PAPEL DE DESECHO UTILIZANDO *Aspergillus niger***

Edgar Damián Ochoa Hernández

Asesorado por el Dr. Romel Alaric García Prado

Guatemala, febrero de 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**DISEÑO DE INVESTIGACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A
PARTIR DE PAPEL DE DESECHO UTILIZANDO *Aspergillus Niger***

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

EDGAR DAMIÁN OCHOA HERNÁNDEZ
ASESORADO POR EL DR. ROMEL ALARIC GARCÍA PRADO

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

GUATEMALA, FEBRERO DE 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Murphy Olympto Paiz Recinos
VOCAL I	Ing. Angel Roberto Sic García
VOCAL II	Ing. Pablo Christian de León Rodríguez
VOCAL III	Inga. Elvia Miriam Ruballos Samayoa
VOCAL IV	Br. Narda Lucía Pacay Barrientos
VOCAL V	Br. Walter Rafael Véliz Muñoz
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Murphy Olympto Paiz Recinos
EXAMINADORA	Dra. Casta Petrona Zeceña Zeceña
EXAMINADOR	Ing. José Manuel Tay Oroxom
EXAMINADORA	Inga. Hilda Piedad Palma Ramos
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE PAPEL DE DESECHO UTILIZANDO *Aspergillus Niger*

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 10 de julio de 2014.

Edgar Damián Ochoa Hernández



USAC
TRICENTENARIA
Universidad de San Carlos de Guatemala



Escuela de Estudios de Postgrado
Facultad de Ingeniería
Teléfono 2418-9142 / Ext. 86226

MOD-MEAPP-0006-2014

000755

Guatemala, 15 de noviembre de 2014.

Director
Ing. Victor Manuel Monzón Valdéz
Escuela de Ingeniería Química
Presente.

Estimado Director:

Reciba un atento y cordial saludo de la Escuela de Estudios de Postgrado. El propósito de la presente es para informarle que se ha revisado los cursos aprobados del primer año y el Diseño de Investigación del estudiante **Edgar Damián Ochoa Hernández** con carné número **2009-15458**, quien opto la modalidad del "PROCESO DE GRADUACIÓN DE LOS ESTUDIANTES DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA OPCIÓN ESTUDIOS DE POSTGRADO". Previo a culminar sus estudios en la **Maestría en Energía y Ambiente**.

Y si habiendo cumplido y aprobado con los requisitos establecidos en el normativo de este Proceso de Graduación en el Punto 6.2, aprobado por la Junta Directiva de la Facultad de Ingeniería en el Punto Decimo, Inciso 10.2, del Acta 28-2011 de fecha 19 de septiembre de 2011, firmo y sello la presente para el trámite correspondiente de graduación de Pregrado.

Sin otro particular, atentamente,

"Id y enseñad a todos"

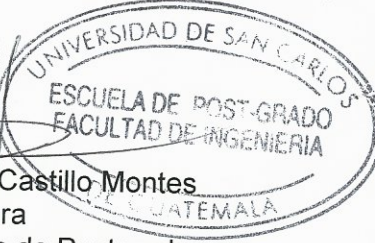
Msc. Ing. Romel Alaric García Prado
Asesor (a)

Dr. Romel Alaric García Prado
Colegiado Ingeniero Químico No. 211

Msc. Ing. Juan Carlos Fuentes Montepeque
Coordinador de Área
Desarrollo social y energético

Ing. Juan C. Fuentes M.
M.Sc. Hidrología
Colegiado No. 2,504

Dra. Mayra Virginia Castillo Montes
Directora
Escuela de Estudios de Postgrado



Cc: archivo
/db



Ref.EIQ.TG.012.2015

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el informe de la Dirección de Escuela de Estudios de Postgrado de la Facultad de Ingeniería del estudiante, **EDGAR DAMIÁN OCHOA HERNÁNDEZ**, ha optado por la modalidad de estudios de postgrado para el proceso de graduación de pregrado, que para ello el estudiante ha llenado los requisitos establecidos en el normativo respectivo y luego de conocer el dictamen de los miembros del tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el **Informe del Diseño de Investigación del Programa de Maestría en ENERGÍA Y AMBIENTE** titulado **"DISEÑO DE INVESTIGACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE PAPEL DE DESECHO UTILIZANDO ASPERGILLUS NIGER"**.
Procede a **VALIDAR** el referido informe, ya que reúne la coherencia metodológica requerida por la Escuela.

"Id y Enseñad a Todos"

Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, enero de 2015

Cc: Archivo
Copia: Colegio de Ingenieros Químicos de Guatemala
VMMV/ale



DTG. 040.2015

El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al Trabajo de Graduación titulado: **DISEÑO DE INVESTIGACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE PAPEL DE DESECHO UTILIZANDO *Aspergillus niger***, presentado por el estudiante universitario **Edgar Damián Ochoa Hernández**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, se autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:



Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
Decano

Guatemala, 5 de febrero de 2015

/gdech



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	V
LISTA DE SÍMBOLOS	VII
GLOSARIO	IX
RESUMEN.....	XI
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
3.1. Descripción del problema	5
3.2. Formulación del problema	6
3.3. Delimitación	7
4. JUSTIFICACIÓN	9
5. OBJETIVOS	11
6. ALCANCES	13
7. MARCO TEÓRICO.....	15
7.1. Biocombustibles	15
7.1.1. Bioetanol.....	16
7.1.2. Clasificación de los procesos de obtención de bioetanol	17

7.1.2.1.	Primera generación	17
7.1.2.2.	Segunda generación	18
7.1.2.3.	Tercera generación	19
7.2.	Materia lignocelulósica	19
7.2.1.	Celulosa	19
7.2.2.	Lignina.....	20
7.2.3.	Hemicelulosa	21
7.3.	Degradación microbiológica	21
7.3.1.	<i>Aspergillus niger</i>	21
7.4.	Desechos sólidos	22
7.5.	Proceso convencional de transformación de papel de desecho a bioetanol	24
8.	CONTENIDO DEL INFORME	27
9.	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	29
9.1.	Definición de variables	29
9.2.	Tipo de investigación.....	30
9.3.	Fases de la investigación	30
10.	TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE INFORMACIÓN.....	35
10.1.	Número de repeticiones necesarias	35
10.2.	Datos promedios	36
10.3.	Desviación estándar.....	36
11.	CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	39
12.	RECURSOS.....	41

13. BIBLIOGRAFÍA	43
------------------------	----

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Estructura bioquímica de una molécula de celulosa	20
2.	Composición de los desechos sólidos en Guatemala	23
3.	Diagrama de bloques del proceso.....	25

TABLAS

I.	Variables de investigación	29
II.	Variación de condiciones de proceso	32
III.	Recursos financieros	42

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
CO₂	Dióxido de carbono
Z_{α/2}	Distribución normal de probabilidad con confiabilidad
E	Error estimado
g	Gramos
ml	Mililitros
N	Número de corridas a realizar en la investigación
pH	Potencial de hidrógeno
P	Probabilidad de éxito
Q	Probabilidad de Fracaso
SSF	Sacarificación y fermentación simultánea.

GLOSARIO

Celulosa	Polisacárido que forma la pared de las células vegetales. Es el componente fundamental del papel.
Fermentación	Degradación por acción enzimática, dando lugar a productos sencillos, como el alcohol etílico.
Fructosa	Monosacárido que, unido a la glucosa, constituye la sacarosa.
Glucosa	Aldohexosa de seis átomos de carbono. Sólido blanco, muy soluble en agua, de sabor muy dulce, que se encuentra en muchos frutos maduros.
Hidrólisis	Desdoblamiento de la molécula de ciertos compuestos orgánicos por acción del agua.
Reciclar	Someter un material usado a un proceso para que se pueda volver a utilizar.
Sacarificación	Conversión por hidratación las sustancias sacarígenas en azúcar.

RESUMEN

En la sociedad actual cada vez son mayores las cantidades de productos desechados como el papel, debido al crecimiento económico y poblacional.

Teniendo una alta demanda de energía basada en la utilización de recursos no renovables como los combustibles fósiles, que además de estar en proceso de agotamiento, representan un gran impacto sobre el ambiente principalmente por sus altas emisiones de CO₂ favoreciendo al calentamiento global.

En la actualidad, incluso los países avanzados están analizando distintas estrategias para reducir su dependencia de los combustibles fósiles. Entre las alternativas consideradas para satisfacer una parte de sus necesidades energéticas se encuentra la explotación de la biomasa y biocombustibles.

Por ello es necesario investigar la aplicación del sistema de producción de bioetanol a partir de papel con métodos microbiológicos y se evalúa el potencial de utilización del hongo conocido como *Aspergillus niger*.

La investigación se realiza a escala laboratorio, considerando como variables independientes a la temperatura, pH, agitación, tiempo de residencia y se evalúan desechos de papel periódico.

Con el estudio se pretende contribuir a buscar fuentes de energías sustitutivas en la transición hacia una nueva tecnología garantizando el desarrollo sostenible.

1. INTRODUCCIÓN

La investigación se enfoca en el planeamiento de una solución al problema de la alta generación de residuos de papel en la sociedad actual y la dependencia de los combustibles fósiles, la cual tiene como propósito general analizar la producción de bioetanol a partir de papel de desecho utilizando una cepa de *Aspergillus niger* a escala laboratorio.

Para el logro del objetivo de la investigación, se procederá inicialmente a aplicar diversas técnicas como la observación, análisis y evaluación de los proyectos de biocombustibles de segunda generación; así como ensayos de laboratorio para evaluar la producción de etanol utilizando como materia prima papel de desecho por degradación microbológica con *Aspergillus niger*, así como obtener factores de rendimiento y condiciones óptimas que puedan servir para la implementación de futuros proyectos. El marco metodológico se desarrollará en fases, cada fase responde a un objetivo específico. Están ordenadas de tal forma que la fase siguiente se apoye en la anterior y por lo tanto, se tenga un orden lógico en la resolución del problema.

El informe final contendrá en su primer capítulo el panorama general del problema, el cambio climático y la crisis energética. Se presentará el tema de los biocombustibles, los procesos de producción de bioetanol, los biocombustibles de primera, segunda y tercera generación y específicamente los materiales lignocelulósicos. Asimismo, contendrá el marco conceptual de la degradación microbológica y lo referente a las transformaciones con el hongo *Aspergillus niger*, el tema de los desechos sólidos y un esquema general de conversión de papel de desecho en etanol por los métodos convencionales

involucrando procesos de sacarificación y fermentación simultánea con pretratamientos químicos o físicos.

En el capítulo 2 se hará una descripción detallada del proceso de producción de bioetanol a partir de desecho utilizando *Aspergillus niger*, estableciendo la forma de obtención y preparación de las muestras, descripción de las condiciones óptimas para llevar a cabo el proceso y el rendimiento medio del mismo.

En el capítulo 3 se presentarán los hallazgos de la investigación y finalmente en el capítulo 4 se analizarán los resultados obtenidos acordes a los objetivos propuestos para poder establecer las conclusiones y recomendaciones pertinentes.

2. ANTECEDENTES

En el 2013 se presentó un estudio titulado *Waste paper sludge as a potential biomass for ethanol production* en el que se hace énfasis del alto contenido de celulosa en el papel y bajo contenido de hemicelulosa y lignina, comparado con otros tipos de biomasa lignocelulósica y plantean que el uso de los residuos de papel como materia prima industrial en su conversión a bioetanol podría ofrecer una alternativa sostenible enfocada a disminuir la crisis energética. (Prasetyo & Park, 2013)

Para 1991, ya se había estudiado la bioconversión de papel de desecho en etanol, diseñando un fermentador para el procesamiento de los residuos de papel que sin tratamiento previo a la sacarificación permitía obtener celulosa y posteriormente etanol, mejorando sustancialmente los procesos conocidos para ese entonces. (Wayman, Chen, & Doan, 1991)

El potencial de la utilización de hongos para pretratamientos en procesos de producción de etanol de segunda generación ha sido estudiado para reemplazar los métodos físicos y químicos tradicionales, resultando que la mayoría de los hongos degradan la lignina en celulosa sin generar inhibidores que afecten su posterior fermentación. (Salvachúa, Prieto, López-Abelairas, Lu-Chau, Martínez, & Martínez, 2011)

En 1997 se presentó un estudio de producción de etanol utilizando papel reciclado y el hongo *Kluyveromyces marxianus*, en el cual por método de sacarificación y fermentación simultánea se logró evidenciar que al menos el

72 % de la celulosa presente en el papel se puede convertir en etanol. (Lark, Xia, Qin, Gong, & Tsao, 1997)

En Corea se presentó un estudio para evaluar la producción de celulosas y hemicelulosa utilizando *Aspergillus niger*, estableciendo alta actividad enzimática, por lo que los investigadores sugieren que las celulosas y hemicelulosas obtenidas por este método pueden ser aplicadas al papel y otros desechos, considerándolo como un proceso de sacarificación práctico y eficiente. (Kang, Park, Lee, Hong, & Kim, 2004)

En un estudio sobre la obtención de etanol a partir de residuos de papa utilizando *Aspergillus niger* y *Saccharomyces Cerevisiae* realizado en Venezuela, mediante un análisis de optimización se identificaron las condiciones favorables para llevar a cabo el proceso. En este proyecto se evaluó el volumen de microorganismos, el tiempo y la concentración del sustrato, encontrando que el hongo degradó el 96,2 % del almidón y siendo la concentración del sustrato el parámetro de mayor relevancia en el rendimiento teórico máximo. (Morocoima, Bertsch, Domínguez, Mazzani, & Díaz, 2013)

Asimismo, a finales de la década de los noventa, investigadores mexicanos (Vivianco & Aguilar, 1999), diseñaron una metodología de obtención de azúcares reductores a partir de papel de desecho mediante fermentación con *Aspergillus niger*. En dicho estudio lograron sustituir los métodos tradicionales de pretratamientos de los desechos lignocelulósicos por el tratamiento microbiológico y evaluaron cuatro tipos diferentes de papel (periódico, bond, craft y cartón) en los que se obtuvieron rendimientos de conversión de glucosa cercanos al 50 %.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

3.1. Descripción del problema

En la sociedad actual cada vez son mayores las cantidades de productos desechados debido al crecimiento económico y poblacional.

El aumento de los desechos sólidos está asociado con enfermedades provocadas principalmente por vectores sanitarios y contaminación de agua, por lo que existe preocupación a nivel mundial para disminuir la cantidad de estos residuos.

Uno de los desechos que tiene mayor potencial de reutilización es el papel, que aunque es biodegradable, en las condiciones de humedad y temperatura que se tienen en los vertederos o rellenos sanitarios puede pasar décadas sin descomponerse.

Asimismo, por el estilo de vida moderno, se tiene una alta demanda de energía basada en la utilización de recursos no renovables como los combustibles fósiles, los cuales además de estar en proceso de agotamiento, representan un gran impacto sobre el ambiente principalmente por sus altas emisiones de CO₂ favoreciendo a efectos negativos como el calentamiento global.

Es por eso que a nivel mundial se ha considerado la utilización de biocombustibles para reducir el uso de derivados de petróleo de una forma sostenible. Sin embargo, los biocombustibles tienen varias desventajas, entre

ellas su alto costo de producción y los problemas sociales debido a que terrenos destinados a siembra de cultivos alimenticios se han utilizado para estos fines energéticos.

Se están desarrollando estudios para el desarrollo de biocombustibles con desechos lignocelulósicos con tecnologías conocidas como de segunda generación y se ha encontrado que es posible utilizar desechos de papel para obtención de bioetanol, pero los costos de los pretratamientos suelen ser elevados.

3.2. Formulación del problema

En tal sentido, se hace necesario investigar la aplicación del sistema de producción de bioetanol a partir de papel con métodos microbiológicos y surge una pregunta de investigación:

¿Es factible técnicamente producir a escala laboratorio bioetanol a partir de papel de desecho utilizando el hongo *Aspergillus niger*?

Con la finalidad de ofrecer tentativamente una respuesta a la interrogante anteriormente expuesta, se elaboran tres preguntas auxiliares básicas:

- ¿Cuál es el estado situacional de la generación de etanol a partir de desechos de papel por medios microbiológicos?
- ¿En qué condiciones puede ser llevado a cabo el proceso utilizando *Aspergillus niger*?

- ¿Cuál es el rendimiento de la producción de bioetanol a partir de papel de desecho al utilizar *Aspergillus niger*?

3.3. Delimitación

La investigación se limitará en el análisis de la descomposición con el hongo *Aspergillus niger* y no se consideran otros microorganismos que puedan ejercer una función similar para obtención de azúcares reductores. El estudio se hará a escala laboratorio, considerando como variables independientes únicamente la temperatura, pH, agitación y tiempo de residencia y se evaluará únicamente desechos de papel periódico.

4. JUSTIFICACIÓN

El estudio combina las líneas de investigación prioritarias de la Maestría en Energía y Ambiente de tratamientos y estrategias en la gestión de residuos conjuntamente con el diseño y operación de proyectos de biomasa y biocombustibles.

Alrededor del mundo se tiene una preocupación por desarrollar nuevas fuentes de energía debido al agotamiento de los recursos fósiles, sus altos costos y el aumento del consumo producto del crecimiento de las economías de cada país.

Cada vez son más estudios que confirman el avance del cambio climático causado por las actividades humanas y que está ocasionando diversos problemas en el planeta. Es por eso que es necesario considerar tecnologías más respetuosas con el medio ambiente, que faciliten el crecimiento y desarrollo industrial a nivel nacional e internacional cubriendo las demandas de la sociedad.

Es evidente la urgencia de satisfacer las necesidades crecientes de la sociedad de energía que se ha visto afectada tanto por cuestiones económicas como socioambientales, siendo entonces esencial presentar alternativas que permitan contribuir positivamente al incremento de la disponibilidad energética, aprovechando adecuadamente los recursos disponibles, sin afectar el medio ambiente.

En la actualidad, incluso los países avanzados están analizando distintas estrategias para reducir su dependencia de los combustibles fósiles. Entre las alternativas consideradas para satisfacer una parte de sus necesidades energéticas se encuentra la explotación de la biomasa y biocombustibles.

La investigación se enfoca en la obtención de bioetanol por una fermentación del papel de desecho utilizando un microorganismo que degrade la celulosa produciendo glucosa, sustituyendo procesos convencionales que necesitan pretratamientos químicos y físicos de costo elevado.

Con el estudio se pretende contribuir a buscar fuentes de energías sustitutivas en la transición hacia una nueva tecnología garantizando el desarrollo sostenible.

5. OBJETIVOS

General

Evaluar la producción de bioetanol a partir de papel de desecho utilizando una cepa de *Aspergillus niger* a escala laboratorio.

Específicos

1. Describir el estado situacional de la producción de bioetanol a partir de papel de desecho por tratamientos microbiológicos.
2. Establecer las condiciones óptimas de temperatura, tiempo de residencia y agitación para llevar a cabo el proceso fermentativo con *Aspergillus niger*.
3. Determinar el rendimiento medio del proceso e identificar por cromatografía de gases el etanol obtenido con las condiciones óptimas.

6. ALCANCES

La perspectiva de la investigación se basa en una metodología con un enfoque cuantitativo, exploratorio y de tipo aplicado, la cual permitirá de forma experimental determinar la factibilidad técnica de la producción a escala laboratorio de bioetanol por degradación con *Aspergillus niger* utilizando como materia prima un producto de desecho, el papel.

Al finalizar la investigación se tendrá información confiable sobre el estado situacional de la generación de etanol a partir de desechos de papel por métodos microbiológicos, las condiciones en las que es factible utilizar *Aspergillus niger* y el rendimiento medio de este tipo de procesos, para que cualquier persona individual y entidad u organización tenga la capacidad de analizarla de forma clara y objetiva.

Se espera que la investigación sea utilizada en posteriores estudios a escala planta piloto e industrial para que se pueda facilitar el uso de los biocombustibles y contribuir al desarrollo socioeconómico nacional y mundial de manera sostenible.

Los resultados obtenidos serán de interés investigativo para los profesionales y estudiantes de la Maestría en Energía y Ambiente, especialmente para ingenieros químicos, ambientales, mecánicos e industriales.

7. MARCO TEÓRICO

7.1. Biocombustibles

La biomasa es un almacén de energía en forma de materia orgánica y su principal fuente se encuentra en bosques y selvas. A medida que crecen, las plantas capturan energía solar por medio de fotosíntesis, para lo cual utilizan la clorofila que se encuentra en sus hojas. Al combinar dióxido de carbono, agua y la energía solar se forman los carbohidratos. Estos son transportados a toda la planta para ser usado en la fabricación de almidones y celulosa para el crecimiento de la planta.

La humanidad siempre ha usado como combustible la biomasa que provee la naturaleza, sin embargo, fue mermado su uso con el descubrimiento de combustibles provenientes del petróleo. Ahora, tras el descubrimiento de los efectos adversos sobre el medio ambiente y por lo tanto la vida en la tierra, la humanidad está redescubriendo las ventajas de los combustibles provenientes de la biomasa.

En determinados ámbitos se suele utilizar el término de biocarburante para designar a los biocombustibles en estado líquido que se utilizan en los automóviles.

Según (Fernández & Lucaz, 2010, p. 3.) "Estos productos se obtienen mediante la transformación de materias primas de origen vegetal y presentan determinadas características físico-químicas similares a las de los combustibles convencionales derivados del petróleo".

El costo de los biocombustibles comparados con los combustibles convencionales suele ser muy elevado y esto representa la principal limitación para su desarrollo a gran escala. Si se lograrán disminuir los costos de producción de los biocombustibles, podrían brindar mayores ganancias y contribuir al desarrollo rural de manera sostenible, con menores emisiones de carbono respecto a los combustibles fósiles.

Entre los biocombustibles se pueden distinguir tres tipos: biodiesel, bioetanol y el biogás.

7.1.1. Bioetanol

El etanol es un biocombustible que se puede obtener por procesos biológicos de fermentación o a través de derivados de petróleo. (Fernández & Lucaz, 2010)

Cuando el etanol se produce a partir de cualquier materia prima biológica que contenga cantidades apreciables de azúcar o materias primas que se puedan convertir en azúcar, como el almidón o la celulosa es llamado bioetanol. (Madigan, Martinko, & Parcker, 2004).

El bioetanol es visto como una buena alternativa de combustible debido a que los cultivos pueden ser renovables y producidos en la mayoría de los climas alrededor del mundo. Además el uso de bioetanol es generalmente neutral en emisiones de CO₂ debido a que en la fase de crecimiento de la cosecha de la planta, el CO₂ es absorbido y el oxígeno se libera en el mismo volumen, creando una ventaja evidente sobre los combustibles fósiles, que sólo emiten CO₂, así como otros las emisiones tóxicas.

Su producción se basa en la fermentación de azúcar por enzimas producida a partir de levadura. Los procesos de fermentación tradicionales consisten en convertir los azúcares, como la glucosa, a etanol.

A diferencia de muchos productos biocatalíticos como los antibióticos, el etanol es un producto químico que se vende en grandes cantidades a un precio relativamente bajo. Por tanto, el proceso microbiano debe ser tecnológicamente muy refinado y funcionar al máximo rendimiento a gran escala si se desea obtener un producto con la calidad necesaria para competir con éxito en el mercado.

En los procesos de producción de bioetanol a nivel industrial se obtienen un gran número de productos químicos secundarios con una amplia gama de usos en la industria de farmacéuticos, cosméticos, bebidas y sectores médicos, por lo que el potencial de mercado para el bioetanol no se limita al transporte

7.1.2. Clasificación de los procesos de obtención de bioetanol

La clasificación de los procesos de obtención de bioetanol son los siguientes.

7.1.2.1. Primera generación

Los métodos de producción a partir de procesos tradicionales constituyen los biocombustibles de primera generación los cuales se basan en la utilización de cultivos como el maíz, el trigo y de plantaciones con alto contenido de azúcar como la caña y la remolacha.

La tecnología para el tratamiento de estas plantas depende principalmente del tipo de materia prima que se utiliza. Se utilizan diferentes tecnologías para el tratamiento previo, a fin de preparar la materia prima para la fermentación. Tienen en común que proporcionan una solución de azúcar fermentable para la etapa de fermentación, mientras que el tratamiento previo de los jugos de azúcar que contienen las plantas se centra principalmente en la eliminación de impurezas y la desinfección. Esta preparación implica generalmente una combinación de tratamiento térmico y tratamiento enzimático.

7.1.2.2. Segunda generación

El desarrollo de la tecnología lignocelulósica ha hecho que no solo cultivos con alto contenido almidón y azúcar se pueden utilizar, sino también biomasa o residuos de la agricultura. Estas tecnologías constituyen la segunda generación. (Hackenberg, 2008)

La segunda generación requiere técnicas más complejas y mayores costos de inversión por lo que hace inviable su uso a corto plazo. Actualmente, no se ha desarrollado ninguna producción comercial de etanol a partir de biomasa lignocelulósica, pero se están desarrollando proyectos de investigación sustancial en este ámbito, especialmente en países como Estados Unidos y Canadá. (International Energy Agency, 2010)

El desarrollo de los biocombustibles de segunda generación presenta ventajas respecto de aquellos de primera generación (Hackenberg, 2008), entre ellos el bajo nivel de emisiones de carbono y mayor rendimiento por aprovechar a su totalidad la biomasa.

7.1.2.3. Tercera generación

Los biocombustibles de tercera generación son los que se producen a partir de la biomasa de algas y por lo general se basan en el contenido de lípidos de los microorganismos.

Hay muchos retos asociados con los biocombustibles de tercera generación, en general requieren grandes volúmenes de agua para la escala industrial y por el agotamiento de los recursos hídricos no es tan conveniente en la actualidad, además de sus altos costos.

7.2. Materia lignocelulósica

Existen diversos productos para la producción de etanol lignocelulósico. Entre estos se encuentran los residuos agrícolas, residuos forestales, residuos sólidos urbanos, residuos de papel, e incluso los que se desechan de la producción de primera generación, como el bagazo de caña. Los componentes celulósicos de materiales de síntesis pueden variar entre el 30 % al 70 %. (International Energy Agency, 2010)

La parte verde de una planta se compone casi en su totalidad de tres sustancias: celulosa, hemicelulosa y lignina.

7.2.1. Celulosa

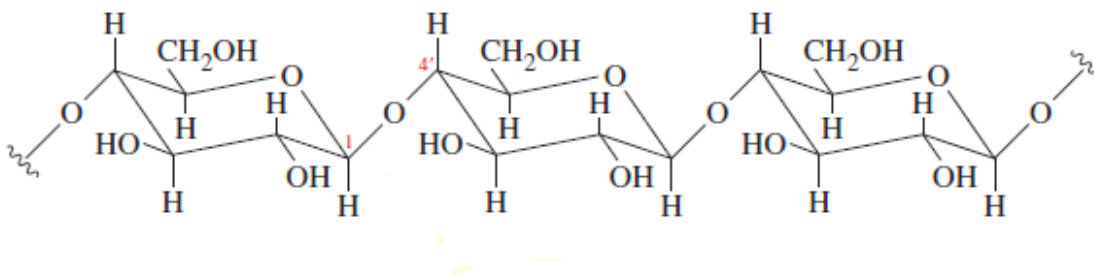
“La celulosa, un polímero de glucosa, es el material orgánico más abundante. La celulosa es sintetizada por las plantas como un material estructural para soportar el peso de la planta. Las moléculas de celulosa largas, llamadas microfibrillas, se mantienen en paquetes por medio de enlaces de

hidrógeno entre los muchos grupos OH de los anillos de glucosa. Alrededor del 50% de la madera seca y del 90 por ciento de la fibra de algodón es celulosa". (WADE, 2011, pág. 1134)

Las moléculas de celulosa varían mucho de tamaño, de alrededor de 300 a más de 15,000 submoléculas de glucosa.

Debido a la resistencia que tienen, se utiliza en una variedad de aplicaciones comerciales.

Figura 1. **Estructura bioquímica de una molécula de celulosa**



Fuente: WADE, 2011. p. 1134.

7.2.2. Lignina

La lignina es una sustancia química que confiere rigidez a las paredes de la célula en la madera.

La lignina representa el mayor problema en el desarrollo del bioetanol de segunda generación porque la celulosa y la hemicelulosa se pueden convertir en etanol primero convirtiéndolos en azúcar reductores, mientras que con la lignina no se puede.

7.2.3. Hemicelulosa

La hemicelulosa son moléculas con estructura de polímeros polisacáridos, similares a la celulosa y relacionados entre sí en una planta, son de bajo peso molecular y a diferencia de la celulosa, la hemicelulosa contiene más de un tipo de azúcar en la cadena celular.

7.3. Degradación microbiológica

Los almidones y la celulosa pueden transformarse en alcoholes, aunque mediante un proceso complejo. Estos hidratos de carbono complejos se rompen mediante hidrólisis de microorganismos o mediante reactivos químicos. (WADE, 2011)

Mediante el proceso de fermentación alcohólica se transforman los azúcares en alcohol hidratado, gracias a la intervención de determinados microorganismos como la *saccharomyces cerevisiae*. Finalmente, el alcohol es destilado con el objeto de liberarlo de agua.

7.3.1. *Aspergillus niger*

Los hongos son microorganismos eucarióticos, carecen de pigmentos fotosintéticos, son los principales agentes de biodegradación en la naturaleza y fundamentales para reciclar la materia orgánica en los suelos y en otros ecosistemas, poseen pared celular y esporas de diversos tipos.

Los hongos destruyen plantas complejas y restos de animales degradándolos a formas químicas simples.

Son importantes en las fermentaciones industriales de licorerías, pan y en producción de antibióticos.

En la clasificación general de los hongos, se tienen 5 grupos: ascomicetos, basidomicetos, zigomicetos, oomicetos y deuteromicetos.

Entre los deuteromicetos o comúnmente llamados hongos imperfectos, en la familia de los *Trichocomaceae* se encuentra el género de los *Aspergillus*, donde está clasificada la especie *Aspergillus niger*.

El hongo *Aspergillus niger*, por lo general no presenta esporas sexuales, su hábitat natural es el suelo, materia vegetal en descomposición y piel de animales.

7.4. Desechos sólidos

Los desechos sólidos son todos aquellos cuerpos en estado sólido no útiles después de una actividad o proceso humano.

El problema provocado por el mal manejo de desechos sólidos reside en las alteraciones al equilibrio ecológico de cuerpos o corrientes de agua, ecosistemas terrestres y en la atmósfera que estos contaminantes o desechos.

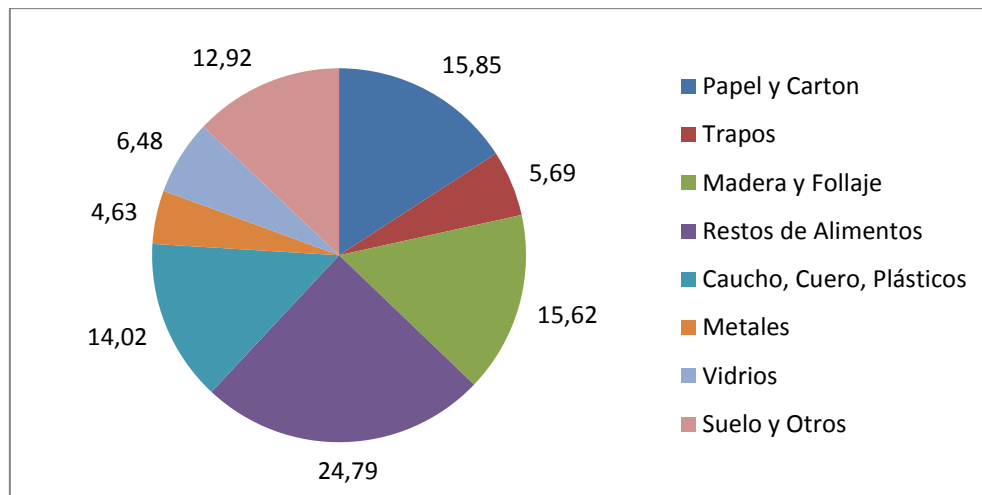
La composición física de los residuos sólidos es muy variada y depende de muchos factores.

En los sólidos comunes típicamente se encuentra 50 % de materia orgánica, 35 % de material con la propiedad de ser combustible como papel,

maderas y plásticos, y el porcentaje restante lo representan otros tipos de materiales como vidrios, metales, etc. (Instituto Nacional de Estadística, 2008)

Los residuos de papel se originan, como resultado de la actividad humana en su domicilio o lugar laboral, básicamente producto de actividades académicas y de oficina.

Figura 2. **Composición de los Desechos Sólidos en Guatemala**



Fuente: Instituto Nacional de Estadística. p. 208.

En la figura 2 se muestra la composición de los residuos y desechos orgánicos en Guatemala, donde se puede apreciar que el papel y cartón constituyen un porcentaje representativo de 15.85 %.

El incremento del consumo en el mundo desarrollado ha llevado como efecto adverso el incremento en la generación de residuos de papel, que amenaza al medio ambiente.

Por la fuerte demanda que existe de papel, el reciclaje de este crece más cada día, siendo una fuente de fibras que mediante un proceso industrial produce nuevamente papel, y es más rentable que la pulpa virgen, además de tener importancia para el medio ambiente.

7.5. Proceso convencional de transformación de papel de desecho a bioetanol

EL proceso tradicional se basa en las siguientes etapas

Alimentación y preparación:

El papel de desecho se mezcla con agua en una batidora para separar las fibras a través de la acción mecánica y formar una suspensión de fibra y agua. La suspensión se pasa a través de pantallas y limpiadores centrífugos para eliminar los contaminantes no fibrosos.

Producción de celulosa:

Una porción de la suspensión preparada se envía a un fermentador aeróbico, donde la celulosa y xilosa en la alimentación son consumidas por un microorganismo fúngico, que produce enzimas de celulosa.

Sacarificación y fermentación simultánea

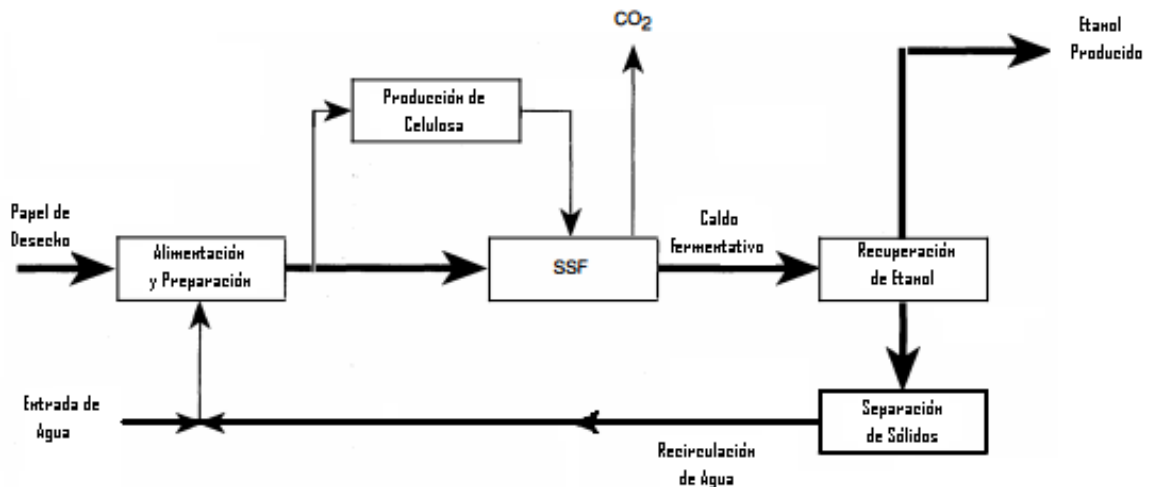
La sacarificación y fermentación simultánea (SSF) es una operación del proceso clásico de producción de etanol a partir de lignocelulosa. Los principales beneficios de realizar la hidrólisis enzimática junto con la fermentación, en lugar de en una etapa separada después de la hidrólisis son la

inhibición del producto final y los costos de inversión. Por otro lado, los principales inconvenientes se basan en la dificultad de encontrar condiciones favorables.

El proceso SSF emplea un microorganismo fermentativo en combinación con la enzima de celulosa para minimizar la acumulación de azúcares en el fermentador.

El caldo de la producción de celulosa se combina con la suspensión restante de preparación de la alimentación y se envía a un área de sacarificación y fermentación simultánea. Como se puede observar en la figura 3, en la fermentación con levadura, la glucosa producida por la hidrólisis enzimática se convierte en etanol y CO_2 .

Figura 3. Diagrama de bloques del proceso



Fuente: Bergeron & Riley, 1991. p. 15.

8. CONTENIDO DEL INFORME

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

LISTA DE SÍMBOLOS

GLOSARIO

RESUMEN

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y FORMULACIÓN DE PREGUNTAS

ORIENTADORES

OBJETIVOS

RESUMEN DE MARCO METODOLÓGICO

INTRODUCCIÓN

1. MARCO CONCEPTUAL

1.2. Antecedentes

1.2.1. Cambio climático y crisis energética

1.3. Biocombustibles

1.3.1. Bioetanol

1.3.2. Clasificación de procesos de obtención de bioetanol

1.4. Materia lignocelulósica

1.4.1. Celulosa

1.4.2. Lignina

1.4.3. Hemicelulosa

1.5. Degradación microbológica

1.5.1. *Aspergillus niger*

1.6. Desechos sólidos

1.6.1. Residuos de papel

1.7. Proceso convencional de transformación de papel de desecho a bioetanol

2. PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE PAPEL DE DESECHO UTILIZANDO *ASPERGILLUS NIGER*

2.1. Obtención y preparación de la muestra

2.2. Evaluación de condiciones óptimas

2.2.1. Propagación de la cepa

2.2.2. Inoculación de la cepa

2.2.3. Incubación de la muestra

2.2.4. Muestreo de caldo fermentativo

2.3. Identificación del etanol obtenido

2.4. Rendimiento medio

3. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

CONCLUSIONES

RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

9. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

9.1. Definición de variables

En la siguiente tabla se describen todas las variables según la metodología que se utilizará para esta investigación.

Tabla I. Variables de investigación

No.	Variable	Dimensional	Dependiente	Independiente	Cualitativa	Cuantitativa
1	pH	Unidad de pH	X			X
2	Temperatura	°C	X			X
3	Humedad	%	X			X
4	Tiempo de Residencia	Horas	X			X
5	Agitación	Revoluciones por Minuto	X			X
6	Azúcares Totales	Gramos		X		X
7	Bioetanol Producido	Gramos		X		X
8	Rendimiento del Proceso	%		X		X

Fuente: elaboración propia.

9.2. Tipo de investigación

El estudio está categorizado como una investigación exploratoria con enfoque cuantitativo debido a la naturaleza del estudio. Es de tipo aplicado ya que se pretende dar una solución a un problema y debido a que esta investigación se utilizará para poder motivar a investigaciones futuras sobre la temática y para poder implementar esta tecnología.

La investigación tendrá un alcance de tipo descriptivo-correlacional, debido a que se pretenden realizar observaciones de las variables involucradas en el proceso de producción, para proceder a determinar el rendimiento medio, también se indica que es correlacional debido a que se pretende establecer una relación de variables al evaluar.

9.3. Fases de la investigación

En consecuencia a los objetivos propuestos y tomando como base la metodología propuesta por (Vivianco & Aguilar, 1999), las fases para realizar el estudio serán las siguientes:

- Fase 1: revisión documental

Se efectuará una revisión documental descriptiva, para realizar el estado del arte con relación al tema de estudio y el marco teórico.

- Fase 2: evaluación de condiciones óptimas

La fase 2 conllevará las siguientes subfases:

- Propagación de la cepa

Se sembrará en tubos de ensayo con caldo lactosado y en placas con caldo Saboraud.

- Inoculación de la cepa

Se tomarán muestras del caldo con la cepa y se inoculará a cada una de las muestras de papel.

- Incubación de las muestras

Con un incubador-agitador a 25 °C y a 150 rpm por 12 horas.

- Muestreo del caldo fermentado

A cada muestra se medirá los azúcares reductores totales a través de una prueba de Fehling para evaluar la eficiencia de la descomposición de la celulosa.

- Evaluación de las condiciones óptimas

Se repetirá el procedimiento anterior según las combinaciones de la siguiente tabla:

Tabla II. **Variación de condiciones de proceso**

Temperatura (°C)	Agitación (rpm)	Tiempo de Incubación (horas)
30	175	24
35	200	36
40	225	48
45	250	60
50	275	72

Fuente: elaboración propia.

- Fase 3: identificación del etanol obtenido y cálculo del rendimiento medio

Se realizará la fermentación el proceso tradicional con levadura, utilizando *Saccharomyces cerevisiaa* una temperatura de 30 °C.

Una vez detenida la fermentación del mosto se llevará a cabo la filtración del mismo.

Las muestras serán enviadas a un laboratorio de cromatografía para poder separar e identificar el etanol producido y su concentración. A partir de los resultados, se realizará una inferencia de la cantidad de etanol producido y en base a una proporción de materia prima inicial se podrá establecer el rendimiento.

- Fase 4: análisis e interpretación de resultados

Para los datos recolectados se utilizará estadística descriptiva, es decir, que se utilizarán promedios y desviaciones estándar para presentar las tablas de resultados.

Se presentarán las gráficas obtenidas en el análisis de cromatografía de gases a partir de las cuales se obtendrá el rendimiento del proceso y se podrá concluir su factibilidad técnica a escala laboratorio.

10. TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE INFORMACIÓN

La metodología a utilizar requiere de análisis estadísticos, al proceso de recolección de la información a realizar se le aplicarán las siguientes técnicas:

10.1. Número de repeticiones necesarias

Para estimar la cantidad de corridas a realizar en el laboratorio se utilizará la siguiente ecuación (Walpole, 1999):

$$N = \frac{Z_{\alpha/2}^2 PQ}{E^2}$$

Donde:

N = número de corridas a realizar en la práctica.

$Z_{\alpha/2}$ = nivel de confiabilidad

P = probabilidad de éxito (coeficiente positivo)

Q = probabilidad de fracaso (coeficiente negativo)

E = error estimado

Tomando una probabilidad de éxito del 95 %, entonces se tiene

$$N = \frac{(1.96)^2 * (0.95) * (0.05)}{(0.15)^2}$$

$$N = 2.976\% \approx 3$$

Por lo que se tomarán 3 muestras de en cada corrida de las fases experimentales.

10.2. Datos promedios

Se obtendrá la media de la cantidad de azúcares reductores totales presentes en las muestras, la cantidad de bioetanol producido y los rendimientos establecidos.

Se utilizará la siguiente fórmula (Walpole, 1999):

$$\bar{x} = \frac{\sum_i^n x_i}{n}$$

Donde:

x_i	Valor i-ésimo.
N	Número total de datos.
\bar{x}	Valor promedio.

10.3. Desviación estándar

Para validar las medias de las variables dependientes se utilizará la función conocida como desviación estándar, la cual permitirá cuantificar la dispersión de los valores para una misma medición respecto al valor promedio. Se utilizará la siguiente fórmula (Walpole, 1999):

$$S = \sqrt{\frac{\sum_i^n |\bar{x} - x_i|}{n - 1}}$$

Donde:

x_i	Valor i-ésimo
N	Número total de datos
S	Desviación estándar
\bar{x}	Valor promedio

11. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

	Noviembre 2014					Diciembre 2014					Enero 2015					Febrero 2015					Marzo 2015			
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4
Actividad	Semana																							
Presentación de Protocolo	■	■																						
FASE 1						■	■	■	■	■														
FASE 2											■	■	■	■	■									
FASE 3																■	■	■	■	■				
FASE 5																					■	■	■	■
Elaboración de Informe Final																								
Presentación de Informe Final																								

12. RECURSOS

Para realizar el estudio se necesitan de recursos humanos, físicos, materiales y financieros, lo cuales se mencionan a continuación.

Recursos humanos

Los recursos humanos que se necesitan para llevar a cabo la investigación son:

- 1 investigador
- 1 asesor de la investigación

Recursos físicos y materiales

Los recursos físicos y materiales que se requerirán son:

- Computadora para la redacción del diseño de investigación, el análisis de datos y la redacción del informe final.
- Útiles de oficina.
- Reactivos y equipo de laboratorio.

Recursos financieros

La necesidad del recursos financiero se explica a continuación :

Tabla III. Recursos financieros

Descripción	Unidad de medida	Cantidad necesaria	Precio unitario	Total
Hojas	Resmas	5,00	Q. 39,50	Q. 197,50
Impresiones	Hoja	2 500,00	Q. 0,50	Q. 1 250,00
Folders	Unidad	10,00	Q. 2,50	Q. 25,00
Asesoría de tesis	Cesiones	10,00	Q. 250,00	Q. 2 500,00
Tesista	Hora	100	Q. 100,00	Q. 10000,00
Análisis de Cromatografía de Gases	Unidad	3	Q 450.00	Q 1 350.00
Reactivos y Equipo de laboratorio				Q 3 000.00
Gastos varios				Q. 1 000,00
Imprevistos				Q. 1 000.00
Total				Q. 20 322.50

Fuente: elaboración propia.

13. BIBLIOGRAFÍA

1. Bergeron, P., & Riley, C. (1991). Wastepaper as a feedstock for Ethanol Production. Golden, Colorado: National Renewable Energy Laboratory.
2. Dufey, A. (2006). Producción y comercio de biocombustibles y desarrollo sustentable: los grandes temas. España.
3. Fernández, J., & Lucaz, H. (2010). Energía Renovable para Todos: Biocarburantes. Madrid, España.
4. García Fernández, L. E. (2011). Obtención de gas de combustible a partir de la gasificación de biomasa en un reactor de lecho fijo. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
5. Gonzales, J. A. (2009). Centrales de Energía Renovables. España: PEARSON, Prentice Hall.
6. Hackenberg, N. (2008). Biocombustibles de Segunda Generación. Revista Virtual .
7. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura . (2007). Preguntas y respuestas más frecuentes sobre biocombustibles. San José, Costa Rica.

8. Instituto Nacional de Estadística. (2008). Anuario Estadístico Ambiental 2008. Guatemala.
9. International Energy Agency. (2010). Biofuels for Transport, An international Perspective. Paris, Francia: Chirat.
10. Kang, S., Park, Y., Lee, J., Hong, S., & Kim, S. (2004). Production of cellulases and hemicellulases by *Aspergillus niger* KK2 from lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* , 153-156.
11. Krasovskaia, I. (2010). Curso de Climatología . San José, Costa Rica.
12. Lark, N., Xia, Y., Qin, C.-G., Gong, C., & Tsao, G. (1997). Production of ethanol from recycled paper sludge using cellulase and yeast, *Kluyveromyces marxianus*. *Biomass and Bioenergy*, Volume 12 , 135–143.
13. Little, H. (1972). Design Criteria for Solid Waste Management in Recreational Areas. Washington, D.C: Environmental Protection Agency.
14. López, V. M. (2009). Cambio Climático y Calentamiento Global, Ciencia, evidencias, consecuencias y propuestas para enfrentarlos. México: Editorial Trillas.
15. Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parcker, J. (2004). Biología de los Microorganismos. Madrid, España: Pearson Prentice Hall.

16. Merino, C. (2007). Progress and Challenges in Enzyme Development for Biomass Utilization. *Advances in Biochemical Engineering* , 95-120.
17. Morocoima, J. A., Bertsch, A., Domínguez, G., Mazzani, C., & Díaz, I. (2013). Optimización y Cocultivo de *Aspergillus niger* Y *Saccharomyces cerevisiae* para la Obtención de Etanol de la Papa (*Solanum tuberosum*). *Interciencia* , 305-309.
18. Porter, M. (1981). *Ser competitivo* (Primera ed.). Estados Unidos.
19. Prasetyo, J., & Park, E. Y. (2013). Waste paper sludge as a potential biomass for bio-ethanol production. *Korean Journal of Chemical Engineering* , 253-261.
20. Ross, F. C. (1983). *Introductory Microbiology*. Chicago: Editorial Merrill Publishing Co.
21. Salvachúa, D., Prieto, A., López-Abelairas, M., Lu-Chau, T., Martínez, Á. T., & Martínez, M. J. (2011). Fungal pretreatment: An alternative in second-generation ethanol from wheat straw. Madrid, España: Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC.
22. Sánchez, O., & Cardona, C. (2008). Trends in Biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresource Technology* 99 , 5270-5295.
23. Tchobanoglous, G., Thiesen, H., & Vigil, S. (1994). *Gestión Integral de Residuos Sólidos*. . España: Interamericana de España, S.A.

24. Vivianco, V., & Aguilar, P. (1999). Obtención de Azúcares reductores a partir de papel de Desecho mediante un proceso de fermentación con *Aspergillus Niger*. Puebla, México: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
25. Wade, L. (2011). Química Orgánica Volumen 2. México: Pearson Educación.
26. Walpole, R. (1999). Probabilidad y Estadística para Ingenieros. México D.F.: Mc Graw Hill Interamericana.
27. Wayman, M., Chen, S., & Doan, K. (1991). Bioconversion of waste paper to ethanol. Toronto, Canadá: Department of Chemical Engineering and Applied Chemistry, University of Toronto.