

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**Escuela Académico Profesional de Ingeniería Forestal**

**Sede Jaén**



**OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE RESIDUOS DE  
PODA DE PARQUES Y JARDINES DE LA CIUDAD DE  
JAÉN - PERÚ**

**TESIS**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**INGENIERO FORESTAL**

PRESENTADO POR EL BACHILLER:

**ELVER JOEL BUSTAMANTE TARRILLO**

**JAÉN - PERÚ**

**2017**



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

Fundada por Ley N° 14015 del 13 de Febrero de 1,962

"Norte de la Universidad Peruana"

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA FORESTAL

SECCIÓN JAÉN

Bolívar N° 1342 – Plaza de Armas – Telfs. 431907 - 431080

JAÉN – PERÚ



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

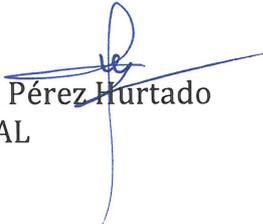
En la ciudad de Jaén, a los veintisiete días del mes de Enero del año dos mil diecisiete, se reunieron en el Ambiente del Auditorio Auxiliar de la Universidad Nacional de Cajamarca - Sede Jaén, los miembros del Jurado designados por el Consejo de Facultad de Ciencias Agrarias, según Resolución de Consejo de Facultad N° 79- 2016-FCA-UNC, de fecha 18 de Julio de 2016, con el objeto de evaluar la sustentación del trabajo de Tesis titulado: **“Obtención de Etanol a partir de Residuos de Poda de Parques y Jardines de la ciudad de Jaén- Perú”** . Ejecutado por el Bachiller en Ciencias Forestales don **ELVER JOEL BUSTAMANTE TARRILLO**, para optar el Título Profesional de **INGENIERO FORESTAL**.

A las ocho horas y siete minutos, de acuerdo a lo estipulado en el Reglamento respectivo, el Presidente del Jurado dio por iniciado el evento, invitando al sustentante a exponer su trabajo de Tesis y luego de concluida la exposición, el jurado procedió a la formulación de preguntas. Concluido el acto de sustentación el Jurado procedió a deliberar, para asignarle la calificación. Acto seguido, el Presidente del Jurado anunció la **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD** con el calificativo de **catorce (14)**; por tanto, el Bachiller queda expedito para que inicie los trámites, para que se le otorgue el Título Profesional de Ingeniero Forestal.

A las nueve horas y treinta minutos del mismo día, el Presidente del Jurado dio por concluido el acto.

  
Ing. M. Sc. Segundo M. Tafur Santillán  
PRESIDENTE

  
Ing. Leiver Flores Flores  
SECRETARIO

  
Ing. M.Sc. Germán Pérez Hurtado  
VOCAL

  
Mtblga. M.C. Marcela Arteaga Cuba  
ASESOR

## **DEDICATORIA**

A mi señor padre Jesucristo que desde el cielo guio mis pasos y desde allí me cuida y me protege, a mi padre Santiago por su apoyo y ser mi mejor amigo, a mi madre Bisalida por ser el motivo de mi vida y la inspiración para salir adelante, a mis Hermanos, Rafaela y Frank, por el gran amor que nos tenemos y por confiar siempre en su hermano mayor que nunca les defraudara.

A Eloiza Díaz Ruiz que desde el cielo derrama siempre sus bendiciones.

A mi amor de mi vida Olivia, por los momentos vividos y compartidos durante nuestra vida universitaria.

A mis amigos durante mi vida universitaria en especial consideración: Ing. Carlos Steelman Villón Pérez, Ing. Adnner Gonzales Altamirano, Ing. Deney Tinoco Lozada, Ing. Marvin Lorenzo Vargas Pesantez.

A mis primos Marco, Jenner, Nancy, por el aprecio y consideración que nos tenemos.

## **AGRADECIMIENTO**

A la BMcblga. M.C. Marcela Arteaga Cuba, por su asesoramiento y continuo apoyo para la realización de esta investigación.

Al Mg. Ing. Qmc. Jorge Antonio Delgado Soto, por su continuo apoyo durante la ejecución del proyecto de investigación.

Al Msc. Ing. German Pérez Hurtado, por su apoyo durante la ejecución de investigación.

Al Msc. Ing. Vitoly Becerra Montalvo, por su asesoramiento y sugerencias durante la ejecución del proyecto de investigación.

## ÍNDICE

	Pág.
AGRADECIMIENTO	
DEDICATORIA	
ÍNDICE	
RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN	
II. REVISIÓN DE LITERATURA	12
2.1. Antecedentes	12
2.2. Conceptos básicos	14
2.2.1. El uso de residuos	14
2.2.2. Bioetanol	15
a. Ventajas	15
b. Desventajas	15
2.2.3. Biomasa lignocelulósica	16
a. Composición de materiales lignocelulósicos	16
b. Celulosa	16
c. Hemicelulosa	16
d. Lignina	17
2.2.4. Uso de enzimas obtenidas a partir de cultivos fúngicos y bacterianos aisladas en el laboratorio	17
2.2.5. Obtención de etanol a partir de residuos de poda, mediante hidrólisis ácida e hidrólisis enzimática	18
2.2.6. Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos	18
2.2.7. Producción mundial de etanol en México	19
2.2.8. Producción de Etanol en el Perú	20
2.2.9. Producción de etanol a partir de otros cultivos bioenergéticos	21
a. Producción de etanol a partir de la caña de azúcar	21

III. MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1. Ubicación geográfica	22
3.2. Materiales	22
a. Material biológico	22
b. Material de campo	22
c. Material y equipo de laboratorio	23
d. Material de gabinete	23
3.3. Metodología	23
3.4. Trabajo en campo	23
3.3.1. Trabajo de laboratorio	24
a. Pretratamiento	24
b. Preparación de inóculo microbiano e inoculación	24
c. Determinación de glucosa	25
d. Fermentación de glucosa	25
3.3.2. Trabajo en gabinete	26
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
4.1. Trabajo de campo	27
4.2. Trabajo de laboratorio	30
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	39
5.1. Conclusiones	39
5.2. Recomendaciones	39
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
ANEXO	

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Proyección de la producción mundial de etanol 2001-2005	19
Tabla 2.	Parques seleccionados	23
Tabla 3.	Tratamientos inoculados con las bacterias	25
Tabla 4.	Tratamientos inoculados con los hongos	25
Tabla 5.	Dimensión de los parques utilizados	27
Tabla 6.	Caracterización de las especies más representativas de los parques donde se realizó la toma de muestra	27
Tabla 7.	Caracterización de residuos de las podas de cada uno de los parques	29
Tabla 8.	Promedio de la cantidad de glucosa formada en los diferentes tratamientos inoculados con bacterias celulolíticas	32
Tabla 9.	ANAVA de inóculo de bacterias después de 06 días, según lectura de espectrofotómetro	33
Tabla 10.	Promedio de la cantidad de glucosa formada en los diferentes tratamientos inoculados con hongos celulolíticas	34
Tabla 11.	ANAVA de Inóculo de hongos después de 12 días, según lectura de espectrofotómetro	35
Tabla 12.	Porcentaje de etanol obtenido como producto de la destilación por muestra	37

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Promedio de glucosa formada con participación bacteriana (ml/dl)	32
Figura 2.	Promedio de la producción de glucosa por el consorcio de hongos	35
Figura 3.	Glucosa ml/dl obtenido a los 26 días de la inoculación por el consorcio microbiano celulolítico	36
Figura 4.	Cantidad de etanol obtenido como producto de la destilación por muestra	38

## ANEXO

Anexo 1.	Áreas verdes de la zona urbana del distrito de Jaén	
Anexo 2.	Lectura en el espectrofotómetro después de los 06 días de inoculación bacteriana	
Anexo 3.	Lectura en el espectrofotómetro después de los 12 días de inoculación por hongos	
Anexo 4.	Resultados del proceso de destilación en los diferentes tratamientos en cada muestra para la obtención del alcohol etílico	
Anexo 5.	Panel Fotográfico	

## RESUMEN

El uso de nuevas alternativas trae consigo el estudio y la investigación de combustibles menos dañino para nuestro medio ambiente, es por ello que el etanol es un combustible con mejor combustión y sirve para contribuir sustancialmente a la reducción de la emisión de CO<sub>2</sub> y otras emisiones. La energía es una de las fuentes indispensables para la vida cotidiana, es por eso que hoy en día el uso de combustibles industriales es uno de los más convencionales y también uno de los más contaminantes; es por ello que en este trabajo de investigación se propone una alternativa naturalmente agradable en cuanto a la producción de bioetanol a partir de residuos (podas) de parques y jardines de la zona de Jaén – Cajamarca. El presente trabajo de investigación se realizó bajo una metodología que consiste en identificar las áreas verdes de Jaén para luego seleccionar de acuerdo a un estudio de caracterización de especies, determinar la cantidad de podas de los principales parques de la Provincia de Jaén que son héroes del cenepa y la plaza de armas y a nivel de laboratorio en donde se empleó 2 tratamientos (Bacteriano y por Hongos) expuestos a un inóculo de *Saccharomyces cerevisea* en 16 muestras con repeticiones de 4 muestras de 100, 200, 250 y 500 g, luego de 6 y 12 días respectivamente se hizo una medición a través de espectrofotómetro de cada muestra procesada, para así poder obtener la cantidad de glucosa en ml/dl obtenida en cada muestra. Finalmente se realizó el proceso de destilación realizado en los tratamientos para así obtener un promedio de 4.200 ml de alcohol etílico.

**Palabras clave:** bioetanol, residuos lignocelulósicos.

## ABSTRACT

The use of new alternatives brings the study and research of fuels less harmful to our environment, which is why ethanol is a fuel with better combustion and serves to contribute substantially to the reduction of CO<sub>2</sub> emissions and other emissions. Energy is one of the indispensable sources for daily life, that is why today the use of industrial fuels is one of the most conventional and also one of the most polluting; It is for this reason that this research proposes a naturally pleasant alternative in the production of bioethanol from waste (pruning) of parks and gardens in the area of Jaén - Cajamarca. The present research work was carried out under a methodology that consists of identifying the green areas of Jaén and then selecting according to a study of species characterization, determine the amount of pruning of the main parks of the Jaén Province that are heroes of the Cenepa and the square of arms and laboratory level where 2 treatments (Bacterial and by Mushrooms) exposed to an inoculum of *Saccharomyces cerevisea* were used in 16 samples with replicates of 4 samples of 100, 200, 250 and 500 g, after 6 And 12 days respectively, a spectrophotometer of each sample was made in order to obtain the amount of glucose in ml / dl obtained in each sample. Finally, the distillation process was carried out in the treatments to obtain an average of 4200 ml of ethyl alcohol.

**Key words:** bioethanol, lignocellulosic residues.

## INTRODUCCIÓN

El uso de los combustibles fósiles cada vez se hace más limitante, dándole un mayor espacio al uso de nuevas alternativas energéticas de carácter renovable y con menor impacto en el medio ambiente, siendo una alternativa el bioetanol, permitiendo una mejor combustión; actualmente existe una disminución progresiva de las fuentes energéticas fósiles, principalmente porque no son renovables (petróleo). Además, el aumento en el consumo energético crece a pasos agigantados, esperándose que al año 2030, el consumo mundial de energía sea un 35 % mayor que en estos últimos años.

El uso de biomasa celulósica en la producción de etanol ha sido beneficioso ambientalmente. La aplicación a gran escala de bioetanol como un combustible de transportación puede contribuir sustancialmente a la reducción de la emisión de CO<sub>2</sub> y otras emisiones (SO<sub>2</sub> y NO<sub>2</sub>) desde receptores de transporte. El etanol celulósico puede reducir el efecto invernadero (Viñals 2012).

En la actualidad la biomasa surge como fuente de energía alternativa importante y renovable. Se puede producir a partir de diferentes sustratos o residuos como son los agrícolas, forestales, sólidos urbanos y cultivos energéticos, lo que permitiría obtener energía de manera diversificada sin afectar directamente otros recursos importantes utilizados en la alimentación.

Sin embargo, la producción de bioetanol de primera generación ha comenzado a cuestionarse en los últimos años ya que se considera una interferencia en la agricultura dedicada a la producción de alimentos, así como, causa de pérdidas de ecosistemas naturales. Para evitar estos inconvenientes se están realizando investigaciones con el fin de utilizar fuentes naturales alternativas para los biocombustibles de segunda generación. De entre las fuentes alternativas para la producción de biocombustibles, la biomasa lignocelulósica aparece como una de las más adecuadas.

La lignocelulosa es el principal componente de las células vegetales y consiste en tres elementos básicos: celulosa, hemicelulosa y lignina; es además la fuente de materia orgánica más abundante en la tierra. Debido a su naturaleza recalcitrante, las plantas son naturalmente resistentes a la degradación microbiana y enzimática, sin embargo, la biodegradación de residuos vegetales ricos en lignocelulosa es un proceso importante para el ciclo del carbono en la naturaleza. La descomposición de la biomasa lignocelulósica involucra la formación de cadenas largas de polisacáridos y la subsecuente hidrólisis en cadenas de azúcares de 5 a 6 carbonos. En la producción de biocombustible, estos azúcares pueden ser convertidos en bioetanol a través de un proceso de fermentación; con la ayuda de sistemas celulolíticos, la celulosa puede convertirse a glucosa que es un producto multi útil mediante un proceso barato y biológicamente favorable (Grijalva 2013). Por lo que en la presente investigación planteamos queremos determinar si el uso de un consorcio microbiano celulolítico en la obtención de bioetanol teniendo como sustrato residuos vegetales de parques y jardines de la ciudad de Jaén.

El objetivo general planteado para el desarrollo de la presente investigación fue de determinar el efecto de un consorcio microbiano celulolítico en la obtención de bioetanol usando como sustrato residuos vegetales de parques y jardines de la ciudad de Jaén. Los objetivos específicos fueron:

- Calcular la cantidad de los residuos de podas de los parques y jardines de la ciudad de Jaén.
- Evaluar la cantidad de glucosa formada por el consorcio microbiano celulolítico a partir de residuos de parques y jardines de la ciudad de Jaén.

- Describir los pasos de la fermentación para la obtención de alcohol a partir de la glucosa obtenido de los residuos de podas de los parques y jardines de la ciudad de Jaén.

## I. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes

El tratamiento de los residuos vegetales producto de desechos urbanos, procesos agrícolas e industriales enfrenta varios problemas técnicos y constituye una preocupación ambiental importante. Entre ellos se destacan la permanencia de productos fitosanitarios en altas concentraciones en el material vegetal unido a la carencia de microorganismos que puedan tolerar dichos compuestos y logren descomponer eficientemente el sustrato. Las bacterias y principalmente los hongos de la podredumbre blanca son los mejores degradadores de materiales lignocelulósicos por su capacidad de sintetizar enzimas extracelulares hidrolíticas y oxidativas en altas cantidades. *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp. Y *Phanerochaete chrysosporium* son cepas modelo cuya eficiencia de degradación de materiales ricos en lignocelulosa incluso en presencia de contaminantes ha sido comprobada. Se están realizando varios estudios de mutagénesis dirigida, co-cultivo y expresión heteróloga, con el objeto de mejorar el contenido de enzimas (celulasas, xylanasas, y  $\beta$ -glucosidasas) en varias cepas, además de nuevas búsquedas genéticas para encontrar otros microorganismos con este potencial. Su principal aplicación es la producción industrial de etanol y metabolitos secundarios bajo condiciones controladas en procesos de fermentación (Grivalja 2013).

El uso de los combustibles fósiles cada vez se hace más complejo, dándole un mayor espacio al uso de nuevas alternativas energéticas de carácter renovables y con menor impacto en el

medio ambiente. Como alternativa y/o suplemento a la gasolina del transporte terrestre aparece el bioetanol, que tiene un mayor octanaje y permite una mejor combustión. En Chile aparece la inquietud de producir bioetanol de segunda generación debido al potencial biomásico que existe en el país y por ser una alternativa vigente para su desarrollo.

El presente trabajo de memoria consistió en estudiar la estrategia de sacarificación y fermentación simultánea (SSF) para residuos forestales (eucalipto y lenga) que fueron pretratados mediante estrategias alternativas: líquidos iónicos (LI) reciclados y hongos de pudrición blanca (HPB).

La primera parte del trabajo consistió en estudiar la factibilidad de utilizar el líquido iónico reciclado y luego ver los resultados en la sacarificación enzimática, compararlo con el pretratamiento de líquido iónico puro, con distintas cargas de material y líquido iónico (1:3, 1:5, 1:9, 1:10 p/p). Para eucalipto el mejor pretratamiento se logró con una carga de 1:3 p/p a 150 °C por 30 minutos como condiciones de operación con un rendimiento de glucosa/celulosa del 67 % respecto al líquido iónico puro (185,1 mg de glucosa por gramo de material). Para lenga el mejor resultado se dio con una carga 1:5 a 150 °C por 15 minutos de pretratamiento, lográndose un 94 % del rendimiento glucosa/celulosa respecto al líquido iónico puro (408,3 mg de glucosa por gramo de material). Esta diferencia se justifica principalmente en que el eucalipto tiene una mayor resistencia a la humectación por solventes que la lenga, debido a su densidad.

La segunda parte consistió en realizar la estrategia de sacarificación y fermentación simultánea previo pretratamiento con líquido iónico reciclado para lenga con distintas concentraciones iniciales de inóculo (0,1; 0,5 y 1,0 [g.p.s/L]) y cargas enzimáticas (5, 15, 20 [FPU/g material]). Utilizando la mejor condición de pretratamiento para lenga, se siguió con la segunda parte de este

trabajo, lográndose el mejor rendimiento del 23 % sobre el máximo valor teórico del rendimiento etanol/glucosa total disponible con una concentración inicial de inóculo de 1,0 [g.p.s. /L] y 5 [FPU/g material], con lo cual es posible obtener 19.290 m<sup>3</sup> de bioetanol que representa el 29 % y 12 % de la demanda de bioetanol suponiendo un reemplazo de 2 % y 5 %, respectivamente. La tercera parte consistió en realizar la estrategia de sacarificación y fermentación simultánea sobre lenga y eucalipto pretratado con hongos de pudrición blanca a 30 y 45 días, utilizando una condición encontrada en la segunda parte (concentración inicial de inóculo =1,0 [g.p.s. /L] y 20 [FPU/g material]), donde se obtuvo el rendimiento cuando se realizó un pretratamiento con *S. hirsutum* por 45 días con un rendimiento del 56 % respecto al máximo teórico. Con este rendimiento hipotéticamente se podría producir 39.329 m<sup>3</sup> de bioetanol abarcando el 60 % y 24 % de la demanda de bioetanol al 2 % y 5 % de mezcla en gasolina, respectivamente. Sin embargo a largo plazo se logra mejores niveles de productividad para la estrategia de sacarificación y fermentación simultánea si se aplica un pretratamiento con hongos de pudrición blanca a 30 días.

En conclusión, el uso de pretratamientos alternativos como líquidos iónicos reciclados y hongos de pudrición blanca, son factibles para la producción de bioetanol de segunda generación, por lo tanto se debería continuar con la investigación (Juri 2011).

## **2.2. Conceptos básicos**

### **2.2.1. El uso de residuos**

El interés por el uso de materiales lignocelulósicos como materia prima en procesos de transformación por microorganismos, es importante desde hace ya varias décadas. Entre las razones fundamentales para el interés se encuentran; materia lignocelulósica es el subproducto

agrícola de mayor abundancia y constituye la parte estructural en el reino vegetal, por ello, la celulosa, hemicelulosa y lignina, tienen aplicaciones prácticas apreciables, por ejemplo, la celulosa es el polímero en mayor proporción en los residuos vegetales provenientes de floricultura se utiliza para la obtención de etanol y/o biomasa y la lignina como combustible y como fuente de adhesivos y de inmune-adyuvantes (Romano. 2005).

### **2.2.2. Etanol**

El etanol o alcohol etílico ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ ) es un compuesto líquido, incoloro, inflamable y soluble en agua, producido por la fermentación de granos (trigo, cebada, maíz, etc.), por el procesamiento de gramíneas (caña de azúcar, sorgo dulce, etc.) y otras fuentes como frutas, madera, residuos forestales y desechos sólidos (papel, alimentos, basuras, etc.).

CONAE (1999), menciona que las ventajas y desventajas del etanol son las siguientes:

#### **a. Ventajas**

- Se produce a partir de fuentes renovables.
- Su alto octanaje (105) favorece la combustión y evita el golpeteo.
- Al quemarse produce menos dióxido de carbono que la gasolina.
- Al usarse como aditivo en la gasolina contribuye a generar menos emisiones de monóxido de carbono.
- Al presentar una temperatura de auto ignición mayor, es menos inflamable que la gasolina y el diésel.
- Es de baja toxicidad.
- No produce compuestos de azufre.

## **b. Desventajas**

- Es de menor poder calorífico que la gasolina, por lo tanto para una misma distancia requiere un mayor consumo.
- Contiene solo 2/3 de energía a la contenida en el mismo volumen de gasolina.
- Su elaboración a partir de granos, lo convierte en un producto más caro que la gasolina. Aproximadamente 1.5 veces.
- Presenta problemas de corrosión en partes mecánicas y sellos.
- En climas muy fríos presenta dificultades para el encendido.
- Genera misiones de óxidos de nitrógeno y aldehídos (contaminantes menores).

## **2.2.3. Biomasa lignocelulósica**

### **a. Composición de materiales lignocelulósicos**

Compuestos principalmente de tres tipos diferentes de polímeros, celulosa, hemicelulosa y lignina Fengel y Wegener (1984), envueltos en una compleja estructura. Este tipo de materiales son los más abundantes en la naturaleza.

### **b. Celulosa**

Está conformada por subunidades de D-glucosa, unidas por b-1,4 glicosídicos Fengel y Wegener (1984), monosacárido de gran importancia en la fermentación.

La celulosa posee dos estructuras una cristalina (organizada) y otra amorfa. Las cepas de celulosa son “empaquetados” denominados fibrillas de celulosa. Estas fibrillas de celulosa son en su mayoría

independientes y débilmente vinculadas a través de uniones de hidrógeno (Hoyos y Pérez 2005).

#### **c. Hemicelulosa**

Carbohidrato complejo y heterogéneo ya que su estructura posee diferentes polímeros como pentosas (como xilosa y arabinosa), hexosas (manosa, glucosa y galactosa), azúcar y ácidos, entrelazadas entre sí glucosídicamente. Muchas de ellas, en la degradación hidrolíticas, dan, junto a glucosa, manosa, galactosa, etc. (Palacio 1956). La hemicelulosa sirve de conexión entre la lignina y las fibras de celulosa y da toda la rigidez a la red de celulosa, hemicelulosa y lignina (Hoyos y Pérez 2005).

#### **d. Lignina**

El heteropolímero amorfo no es soluble en agua y ópticamente inactivo; todo esto hace que la degradación de la lignina sea muy complicada (Fengel y Wegener 1984).

### **2.2.4. Uso de enzimas obtenidas a partir de cultivos fúngicos y bacterianos aisladas en el laboratorio**

Debido a los altos costos que el uso de enzimas comerciales genera en los procesos industriales, sumado al interés de conseguir mejores y mayores rendimientos tanto en la tasa de hidrólisis como de conversión de azúcares a etanol, se ha incrementado el uso de cultivos aislados de su ambiente natural y cultivado en el laboratorio, empleando diferentes metodologías para la producción y acción de enzimas de interés.

Se han empleado cultivos fúngicos, que luego de haber sido aislados de sus medios naturales y sembrados en Laboratorio, propagados en el substrato, son inoculados en los reactores de hidrólisis, donde realizan el respectivo proceso de degradación de la celulosa y/o hemicelulosa a sus monómeros, mediante la acción de sus enzimas.

Según trabajos de Oliveira. (2006), que emplea cascarilla de arroz como substrato y Jorgensen. (2003), donde lograron purificar y caracterizar cinco celulasas y una xilanasa, al igual que Mamma. (2008), donde emplean distintos cultivos fúngicos, para la hidrólisis de cáscaras de naranjas secas a través de la producción multienzimática - xilanolítica, celulítica y pectinolítica.

#### **2.2.5. Obtención de etanol a partir de residuos de poda, mediante hidrólisis ácida e hidrólisis enzimática**

En esta investigación se estudió el aprovechamiento de los residuos de poda y la búsqueda de materias primas para producir biocombustibles. Se llevó a cabo la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica contenida en los residuos de poda, de la Fundación Universitaria Tecnológico Comfenalco, con el fin de producir jarabes glucosados para, potencialmente, ser convertidos en bioetanol. Se aplicaron dos metodologías: la hidrólisis ácida, usando ácido sulfúrico diluido y la hidrólisis enzimática, con enzimas celulasas. A manera de resultados, se obtuvo una mayor conversión con la hidrólisis ácida de todas las muestras (entre 10 y 30 g/l de glucosa) que con la hidrólisis enzimática de los residuos mezclados (8,83 g/l de glucosa), quedando abierta la posibilidad de obtener

biocombustibles a partir de este tipo de residuos. Se hace necesaria la optimización de los procesos con el propósito de mejorar el rendimiento en la producción de glucosa (Tejeda 2011).

#### **2.2.6. Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos**

En la actualidad, la biomasa lignocelulósica y en especial los subproductos agroindustriales han dejado de ser productos de desecho-problema, para convertirse en materia prima potencial para diversos procesos tanto de tipo agrícola como industrial, siendo la producción de alcohol carburante uno de los más importantes. Sin embargo, han sido y son muchos, los limitantes que se han presentado en torno a la obtención de etanol a partir de este tipo de materiales, debido a su estructura lignocelulosa de compleja degradación (Krishna y Chowdary 2001).

#### **2.2.7. Producción de etanol en México**

El etanol es un alcohol que se produce a través de la fermentación de los azúcares o del almidón extraído de la biomasa de ciertos cultivos. La producción de etanol en México proviene básicamente de la caña de azúcar, donde producen cerca de cinco millones de toneladas de azúcar y aproximadamente 56 millones de litros de etanol. Se estima que la capacidad instalada de las destilerías en México, actualmente, es de 346 000 litros /día (Lázaro y Arauzo 1994).

La agroindustria de la caña de azúcar al igual que el maíz, sin embargo también presenta problemas de baja

productividad, es así que a nivel nacional la agroindustria de la caña de azúcar en México, representa casi el 0.5 por ciento del PIB y genera aproximadamente 2.5 millones de empleos directos e indirectos; por otro lado, este sector abarca más de 700 mil hectáreas cuya producción se canaliza a través de 58 ingenios azucareros.

Tabla 1. Proyección de la producción mundial de etanol 2001-2005 (billones de litros)

Año	Total	Combustible	Industria	Bebidas
2000	31.8	19.0	9.80	3.0
2001	33.1	20.0	10.0	3.1
2002	34.7	21.0	10.5	3.2
2003	34.8	21.5	10.0	3.3
2004	36.4	22.0	11.0	3.4
2005	37.7	23.0	11.2	3.5

Fuente: García. (2005).

Durante la zafra 2004-2005, la producción de etanol en México fue de 59.3 millones de litros, un precario nivel si se compara con lo que produce Brasil, Estados Unidos o Argentina, cuya producción en conjunto representa más del 58 % del etanol mundial.

#### **2.2.8. Producción de etanol en el Perú**

Según Monsalve (2006), en el Perú aún no se extrae etanol a partir de la caña de azúcar, no obstante, existe amplia experiencia en la producción de alcohol farmacéutico, alcohol rectificado, ron y guarapo. Actualmente existe un proyecto para producir etanol para la región de San Martín. La meta de inversión es de US\$

560 millones divididos en dos fases: agrícola (US\$ 320 millones) e industrial (US\$ 240 millones). el etanol se puede producir a partir de las mieles, mediante la fermentación por acción de las levaduras. El etanol se mezcla con la gasolina para aumentar el octanaje y reducir la emisión de gases de efecto invernadero.

Para la ejecución del proyecto, se ha firmado un convenio entre Petroperú y una corporación de empresas integrada por Coler & Colantonio (USA), Naturel (USA) y Coimex (Brasil) para la producción de etanol anhidro. El proyecto está dividido en tres etapas: (i) desarrollar un semillero de 1080 ha; (ii) sembrar 32 000 ha para atender el mercado nacional e instalar 4 destilerías; (iii) cultivar 128 000 ha e instalar 12 destilerías.

El objetivo es atender el mercado nacional (Petroperú) e internacional (Estados Unidos y Japón). Se construirá un alco ducto desde la zona de producción hasta Bayovar (Piura) para su distribución en el ámbito nacional; además, se planea el tendido de fibra óptica en el ducto para interconectar todo el sistema de comunicaciones del Huallaga.

Por otra parte, las empresas agroindustriales de la costa, vienen implementándose para abastecer de etanol al mercado internacional debido a la gran demanda que tiene este producto en el mundo y cuyas proyecciones de crecimiento son alentadoras.

## **2.2.9. Producción de etanol a partir de otros cultivos bioenergéticos**

### **a. Producción de etanol a partir de la caña de azúcar**

Comprende la extracción del jugo de caña (rico en azúcares) y su acondicionamiento para hacerlo más asimilable por las levaduras durante la fermentación. Del caldo resultante de la fermentación debe separarse la biomasa, para dar paso a la concentración del etanol mediante diferentes operaciones unitarias y a su posterior deshidratación, forma en que es utilizado como aditivo oxigenante (Ariel *et al.* 2005).

Para el proceso de obtención de etanol a partir de maíz, es necesario hidrolizar las cadenas de amilosa y amilopectina presentes en el almidón, en azúcares apropiados para la fermentación. La degradación del almidón se lleva a cabo por procesos enzimáticos después de una etapa de gelatinización donde se solubiliza el almidón con el fin de hacerlo más accesible a las amilasas. El jarabe de glucosa resultante es el punto de partida para la fermentación alcohólica donde se obtiene una solución acuosa de etanol que debe ser enviada a la etapa de recuperación de producto, tal como en el caso de la caña de azúcar (Ariel. 2005).

## **II. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1. Ubicación geográfica**

El material biológico se obtuvo de la provincia de Jaén que se encuentra ubicada en la zona Nor-oriental del departamento de Cajamarca, entre los 5° 15" y los 6° 4" de Latitud Sur; y entre los 78° 33" y los 79° 38" de Longitud Oeste.

Comprende un área de 5137.40 km<sup>2</sup> representando un 14.5 % del total del departamento de Cajamarca (INEI 2007).

La provincia de Jaén limita de la manera siguiente:

- Norte : Provincia de San Ignacio.
- Sureste y sur : Provincia de Cutervo.
- Suroeste : Provincia de Ferreñafe y Lambayeque.
- Este : Provincia de Bagua y Utcubamba.
- Oeste : Provincia de Huancabamba.

### **3.2. Materiales**

#### **a. Material biológico**

- Materia prima proveniente de las podas de árboles de parques y jardines de la ciudad de Jaén.
- Consorcio microbiano celulolíticos nativo constituido por cepas de hongos y bacterias aisladas de suelos de bosque Señor de Huamantanga de la provincia de Jaén pertenecientes al laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Cajamarca - Sede Jaén.

#### **b. Material de campo**

Tijeras de podar, sacos de yute, carretilla, cámara fotográfica, tarjeta de apuntes.

#### **c. Material y equipo de laboratorio**

Matraces de 250 ml, tubos de ensayo de 13/100 ml, tubos de ensayo de 15/125 ml, probeta de 250 ml, pipetas de 5 y 10 ml, láminas cubre y porta, placas petri, recipientes de vidrio de un litro. Autoclave, microscopio, espectrofotómetro, refrigeradora, balanza de 0.01 g – 1 kg, envases de plástico.

#### **d. Material de gabinete**

Papel, lapiceros, computadora, regla, calculadora.

### 3.3. Metodología

#### 3.3.1. Trabajo en campo

Primero se realizó un reconocimiento de los parques y jardines de la ciudad de Jaén, encontrando 98 áreas, entre parques y calles con plantaciones en toda la ciudad de la cual se tomaron sólo 2 parques teniendo en cuenta el tamaño y la diversidad de especies botánicas que se encuentran dentro de estos, a los cuales se les conoce como: parque de la Plaza de Armas y el parque Héroes de Cenepa (Tabla 3); se eligió estos 2 parques por ser áreas de mayor extensión (Tabla 02).

Tabla 2. Parques seleccionados

Parques de evaluación	Área total (m <sup>2</sup> )
Plaza de Armas de Jaén	4251.60
Parque Héroes del Cenepa	7678.24
Total	11929.84

Fuente: MPJ. División de áreas verdes - 2014

La recolección de la materia prima se realizó en el momento de las podas realizadas por el personal de la municipalidad de Jaén, obteniendo un total de 165.66 kilogramos de poda de los dos parques del cual solamente se usó el 10 % (MPJ-DDA- División de áreas verdes 2014).

#### 3.3.2. Trabajo de laboratorio

##### a. Pretratamiento

Para la preparación del material lignocelulósico, los residuos vegetales obtenidos de los parques Héroes del Cenepa y Plaza de Armas de la ciudad de Jaén, previamente se procedió a cortar en trozos pequeños

utilizando una tijera de podar de mano a fin de uniformizar la muestra, la cual se colocó en un recipiente con agua durante 6 días para eliminar parte de la lignina, luego se esterilizó en autoclave a 121 °C y a 1 atm de presión por 15 minutos con la finalidad eliminar los microorganismos presentes y dejar actuar solamente al consorcio celulítico (hongos y bacterias) el cual se contaba bajo almacenamiento en el Laboratorio de Cultivos Vegetales. Procedimiento seguido para mejorar las condiciones para el acceso de las enzimas en el proceso de degradación de la celulosa.

### **b. Preparación de inóculo microbiano e inoculación**

Se preparó el inóculo con un litro de caldo peptonado al cual se le adicionó las bacterias y hongos celulolíticos por separado, de este inóculo se tomó 250 ml y se le colocó a los tratamientos, los cuales fueron las muestras de podas de 100 g, 200 g, 250 g y 500 g, colocando primero el inóculo de bacterias celulolíticas (Tabla 3) las cuales se dejaron actuar por 6 días (degradación de la celulosa); luego se colocó el inóculo de los hongos celulolíticos y se dejó actuar por 10 días (Tabla 4), observando que las muestras estén en partículas diminutas totalmente disueltas.

Tabla 3. Tratamientos inoculados con las bacterias

Días	Peso de la muestra (g)							
	100		200		250		500	
6	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
	R3	R4	R3	R4	R3	R4	R3	R4

Tabla 4. Tratamientos inoculados con los hongos

Días	Peso de la muestra (g)							
	100		200		250		500	
10	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
	R3	R4	R3	R4	R3	R4	R3	R4

### c. Determinación de la glucosa formada

Transcurrido el tiempo de la degradación realizada por los microorganismos celulolíticos se realizó la lectura en un espectrofotometro para determinar la cantidad de glucosa en los dos tiempos, el método utilizado fue el método enzimático de la glucosa oxidasa.

### d. Fermentación de la glucosa

Para la fermentación de la glucosa obtenida se preparó 10 ml de inóculo de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) y se sembró en el líquido obtenido de las podas, esta fermentación se realizó durante 4 días a una temperatura de 20 a 30 °C.

#### • Destilación para obtener el alcohol etílico

La solución fermentada fue vertido en un balón de destilación, el mismo que fue colocado en un recipiente con agua (baño maría) y llevado a fuego a temperatura controlada de 76 a 78 °C. Transcurrido un tiempo aproximado de 30 minutos recepcionando el producto en otro matraz.

### 3.3.3. Trabajo en gabinete

Obtenidos los datos promedio de las muestras correspondientes a los diferentes tratamientos, se empezó a

procesar toda la información a través de tablas y gráficos de Excel, para así poder hacer comparaciones de los resultados alcanzados tanto en proceso bacteriano como en el proceso por hongos.

Se utilizó el programa Infostat, para realizar el análisis estadístico, este software estadístico procesa la información proveniente de una tabla. Una tabla se define como un agrupamiento de datos dispuestos en filas y columnas. Las columnas representan usualmente a las variables y las filas a las observaciones. Las etiquetas de las columnas son los nombres con que se designan las variables.

El Análisis de la Varianza (ANAVA), permite probar hipótesis referidas a los parámetros de posición (esperanza) de dos o más distribuciones. La hipótesis que se somete a prueba generalmente se establece con respecto a las medias de las poblaciones en estudio o de cada uno de los tratamientos evaluados en un experimento.

El ANAVA es un procedimiento que descompone la variabilidad total en la muestra (suma de cuadrados total de las observaciones) en componentes (sumas de cuadrados) asociados cada uno a una fuente de variación reconocida (Nelder 1994) (Searle 1971, 1987).

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Trabajo de campo

##### Caracterización de residuos

Los parques donde se tomaron la muestra tienen un área total de 11 929.84 m<sup>2</sup> (Tabla 5).

Tabla 5. Dimensión de los parques utilizados

Parques de evaluación	Área total (m <sup>2</sup> )
Plaza de Armas de Jaén	4251.60
Parque Héroes del Cenepa	7678.24
Total	11929.84

Fuente: MPJ- División de áreas verdes- 2014

Tabla 6. Caracterización de las especies más representativas de los parques donde se realizó la toma de muestra

N°	Plaza de Armas de Jaén	Héroes del Cenepa	Nombre Común
1	<i>Ficus benjamina</i>	<i>Ficus benjamina</i>	Ficus
2	<i>Pelargonium hortorum</i>	<i>Pelargonium hortorum</i>	Geranio
3	<i>Bougainvillea peruviana</i>	<i>Bougainvillea peruviana</i>	Papelillo
4	<i>Sysygium jambos</i>	<i>Sysygium jambos</i>	Pomarrosa
5	<i>Calendula officinalis</i>	<i>Calendula officinalis</i>	Marigold
6	<i>Codiaeum variegatum</i>	<i>Codiaeum variegatum</i>	Croton
7	<i>Roystonea regia</i>	<i>Roystonea regia</i>	Palmera real
8	<i>Stenotaphrum secundatum</i>	<i>Stenotaphrum secundatum</i>	Gras americano
9		<i>Dichondra repens</i>	Oreja de ratón
10		<i>Hibiscus rosa sinensis</i>	Cucarda
TOTAL	8	10	10

La caracterización de los residuos de poda de los dos parques (Héroes del Cenepa, Plaza de Armas), permitió conocer las especies representativas de estos parques la que de acuerdo a su clasificación taxonómica podemos deducir quienes presentan más celulosa, lignina (Tabla 7) de acuerdo a la cantidad que se encuentran en las podas en relación al tallo y hojas (Tabla 8), entendiendo que la glucosa está formando parte de la celulosa.

La celulosa es un polímero de cadena lineal, formado por la unión de unidades anhidroglucosa, en cadenas de glucano. Las unidades anhidroglucosa, están unidas por enlaces  $\beta$ -(1,4) - glucosídicos. Debido a este tipo de unión, se ha establecido a la celobiosa como la unidad repetida en las cadenas de celulosa. El grado de polimerización (GP) de la celulosa nativa está en el rango de 7000-15000 (Ariel 2005).

La biomasa lignocelulósica también se refiere a cultivos de pastos y de árboles para propósitos energéticos, residuos de madera, pulpa de papel, e incluso algunos residuos municipales, Los materiales lignocelulosicos son muy heterogéneos y, en general, pueden ser descritos como una red de fibras de celulosa embebidas en una envoltura de hemicelulosa y lignina. Presentes en proporciones relativas variables de acuerdo al tipo de material, (celulosa 35 %, hemicelulosa 20 % al 40 % y lignina del 15 % al 30 %; su estructura y composición es muy importante porque determinan los tipos de procesos particulares a llevar a cabo en las diferentes etapas de producción (Díaz 2010). En la tabla 7 se muestra el total de celulosa en cada uno de los parques proveniente de los tallos y hojas de los residuos de poda de los dos parques.

Ragauskas. (2006), mencionado por Curvo. (2009); nos dice que la lignocelulosa compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina es el principal y más abundante de la biomasa producida por la fotosíntesis formándose anualmente 200 000 millones de toneladas en el mundo.

Tabla 7. Caracterización de residuos de las podas de cada uno de los parques

Muestra	Tallos k	Hojas k	Total de Celulosa	%
Plaza de armas	65.67	8.25	73.92	44.62
Parque héroes del Cenepa	79.5	12.24	91.74	55.38
Total de Celulosa			165.66	100

En la tabla 7 se observa la caracterización de residuos de poda la que representa la cantidad de celulosa, hemicelulosa y lignina Curvo. (2009), menciona que la pared celular de las plantas está formada por lignocelulosa, la composición y porcentajes de los polímeros varían entre las especies de plantas, incluso.

En el pre tratamiento se tomó 1.0 kg de residuos, tratando de uniformizar y pesar luego para los tratamientos, según Juri (2011), nos dice que los pre tratamientos permiten aumentar la tasa de producción, debido a que permiten la liberación de una mayor cantidad de azúcares para la etapa de hidrólisis, incluso llegar a rendimientos superiores al comparados a hidrólisis sin pretratamiento. El mecanismo de los pretratamientos es variado, pero su principal función es la de aumentar el área de contacto entre las enzimas celulolíticas y la celulosa, rompiendo la estructura cristalina de la celulosa, de polimerizándola parcialmente y solubilizando la lignina y/o hemicelulosa Existen variados pretratamientos utilizados: físicos (molienda), físico-químicos (SE, LWH y AFEX) químicos (Hidrólisis Ácida, Alcalinidad, Agentes oxidantes, oxidación húmeda, Ozonólisis, Líquido Iónico y biológicos (Uso de Hongos). En este caso como pretratamiento físico que consistió en cortar los residuos para hacerlos más pequeños y se usó temperatura

de 121 °C 1 atm de presión por 20 minutos y utilizó y un tratamiento biológico usando bacterias y hongos celulolíticos.

Para la degradación del material lignocelulósico de la poda de parques y jardines de la ciudad de Jaén se usó bacterias y hongos celulolíticos aislados del Bosque de Huamantanga probando su actividad en medios de cultivo que contenían carboximetil-celulosa, como menciona Curvo (2009), los organismos degradadores de celulosa están hongos basidiomicetos y bacterias aerobias a través de producción de celulasas extracelulares. Entre este grupo se encuentran las bacterias del género *Celulomonas* y *Streptomyces*, así como los hongos basidiomicetos responsables de la pudrición de la madera que son los organismos más estudiados en esta área porque producen celulasas y actualmente dominan las aplicaciones industriales.

Los microorganismos aerobios producen celulasas con diferentes especificidades y modos de acción, actuando en sinergismo para hidrolizar la celulosa (Henrissat 1991).

## **4.2. Trabajo de laboratorio**

- **Pre tratamiento**

Esta fase se realizó cortando en porciones pequeñas e hidrolizando en autoclave con una presión de una atm y con temperatura de 121 °C, y en estas condiciones también se logró la muerte de los microorganismos que existían en la muestra, para que de esta manera se logre la participación de los microorganismos celulolíticos que se inocularon. Muzzy (1983) y Millet (1975) mencionado por Abril (2012), dice que el pretratamiento consiste en las operaciones de recolección, transporte y manipulación, almacenamiento, molido o astillado y otras para reducir el tamaño de las partículas, lograr la apertura del material fibrosos, convertido en una suspensión que se facilite la posterior penetración de los agentes químicos de hidrólisis, incluye también tratamiento termoquímico, con el fin de lograra un

ablandamiento de la lignina y las hemicelulosas que facilite el posterior ataque de las enzimas o microorganismos.

Las etapas de pretratamiento e hidrólisis, constituyen uno de los principales problemas vinculados a la producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica. El complejo lignocelulosico está compuesto principalmente de una matriz de carbohidratos compuesta de celulosa y lignina enlazadas por cadenas de hemicelulosa.

Durante el proceso de producción de etanol. En particular, la complejidad de los fenómenos involucrados en los bioprocesos requiere el desarrollo de nuevos paradigmas en los sistemas de control de procesos.

En el tratamiento, los residuos de la poda se utilizaron (Tabla 7, Foto 07) para la obtención del etanol, en el cual se emplearon tratamientos biológicos como bacterias y hongos celulolíticos, los cuales fueron aislados de muestras de suelo de bosque; éstas 06 bacterias y 05 hongos presentan diferentes tipos de enzimas ya que para degradar la celulosa según Lynd. (2002), se necesita tres tipos de celulasas: las endoglucanasas (EGs) (EC 3.2.1.4), que cortan azarosamente en regiones amorfas de la celulosa generando oligosacáridos, esto causa la disminución en el largo de las cadenas y un incremento de los azúcares reductores; las exoglucanasas o celobiohidrolasas (CBHs) (EC 3.2.1.74), que actúan sobre los extremos reductor y no reductor de las cadenas de celulosa liberando glucosa o celobiosa y las  $\beta$ -glucosidasas (EC 3.2.1.21) que hidrolizan la celobiosa y las celodextrinas para liberar dos moléculas de glucosa.

Juri (2011), menciona tratamiento biológico con un hongo capaz de degradar la lignina, lo que se ve reflejado en un aumento de la digestibilidad. Este factor se debe a la acción oxidativa de las enzimas anteriormente mencionadas sobre los anillos aromáticos

de la lignina. Estas enzimas son producidas por un hongo específico que permite degradar los troncos de los árboles. El uso de este tratamiento como alternativa a los tratamientos químicos tiene menor gasto de energía, es operado en condiciones mucho más amigables con el medio ambiente.

En el presente trabajo se realizó en dos etapas, primero se inoculó las bacterias y se dejó actuar por 06 días para luego hacer la primera lectura en el espectrofotómetro y determinar cuánto de glucosa se había formado en esta primera fase como lo muestra la figura 1.

Tabla 8. Promedio de la cantidad de glucosa formada en los diferentes tratamientos inoculados con bacterias celulolíticas

Sustrato (degradación de las podas)	Glucosa ml/dl
100	94.76
200	11.346
250	109.6
500	117.6

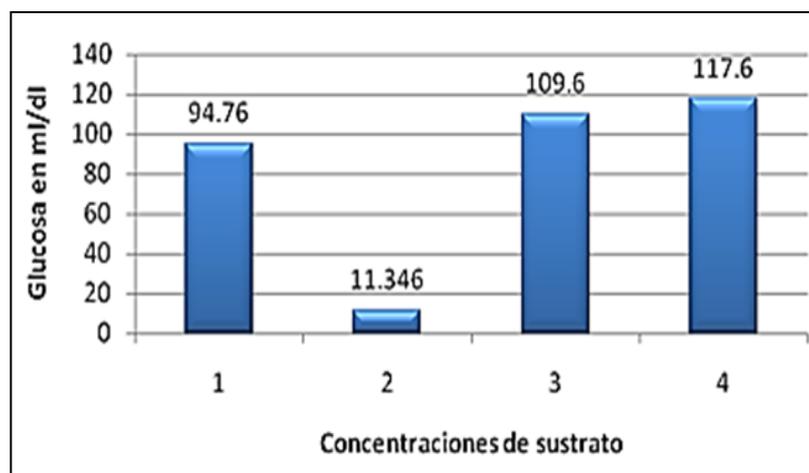


Figura 1. Promedio de glucosa formada con participación bacteriana (ml/dl)

En la figura 1, se muestra el promedio de glucosa formada con participación bacteriana (ml/dl), obtenida a los 06 días de la inoculación con bacterias.

El uso de productos comerciales o inoculantes microbianos para acelerar el proceso de descomposición de residuos orgánicos es una estrategia actual y una de las mejores formas para generar subproductos de mejor calidad, sin embargo los resultados varían dependiendo del tipo de residuo tratado. Los inoculantes son formulaciones de microorganismos cuya ventaja radica en la posibilidad de volver mucho más rápidos los procesos, usar escasa energía no renovable y ser una metodología limpia (no contaminantes del medio ambiente) (UTE 2013).

La figura 1 muestra la participación del consorcio bacteriano en la degradación de los residuos de poda siendo la menor cantidad de glucosa obtenida es en el tratamiento que contenía 200 g de residuos de poda, la razón podría deberse a que no se agito adecuadamente para las bacterias llegaran a todas las porciones de celulosa y degradar o también podría ser, que a ese tratamiento se le coloco mayor cantidad de residuos de tallos o los cortes que se hicieron en el pretratamiento no fueron tan uniformes, para todos los tratamientos no se ha considerado el pH, que podría ser también otra causa, pero esta grafica también nos indica que los residuos lignocelulosicos si fueron degradados hasta glucosa por las bacterias celulolíticas, como lo manifiesta Tejeda (2012).

Los residuos de poda contienen glucosa, celulosa y hemicelulosa por lo cual son potencialmente aprovechables en la producción de jarabes glucosados por vía ácida o enzimática, con un mayor contenido por parte de los residuos de tallos al poseer mayor contenido de celulosa y menor de hemicelulosa. La glucosa contenida en estos residuos es susceptible de ser utilizada bien sea para la obtención de bioetanol a través de la fermentación alcohólica o en la producción de otros materiales de importancia

industrial como el ácido láctico a través de una fermentación láctica.

Tabla 9. ANAVA de inóculo de bacterias después de 06 días, según lectura de espectrofotómetro

Fuentes de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados de Medios	F Calc	P - Valor	Significancia
Tratamiento	28691.96	3	9563.99	33.05	0.0001	S
Error	3472.80	12	289.40			
Total	32164.75	15				

Según el análisis de varianza se observa que hay significancia estadística para el inóculo de bacterias después de 06 días, según lectura de espectrofotómetro, debido a que el F tabular es 0.0001, siendo significativo en la investigación.

Tabla 10. Promedio de la cantidad de glucosa formada en los diferentes tratamientos inoculados con hongos celulolíticos

Sustrato (degradación de las podas)	Glucosa ml/dl
100	114.308
200	32.73
250	270.6
500	250.197

La figura 2 se observa que los tratamientos 3 y 4 presentan la mayor producción de glucosa en ml/dl obtenido a los 12 días de la inoculación con hongos.

Las bacterias y principalmente los hongos de la podredumbre blanca son los mejores degradadores de materiales lignocelulósicos por su capacidad de sintetizar enzimas extracelulares hidrolíticas y oxidativas en altas cantidades. *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp* y

*Phanerochaete chrysosporium* son cepas modelo cuya eficiencia de degradación de materiales ricos en lignocelulosa incluso en presencia de contaminantes ha sido comprobada (Grijalva 2013).

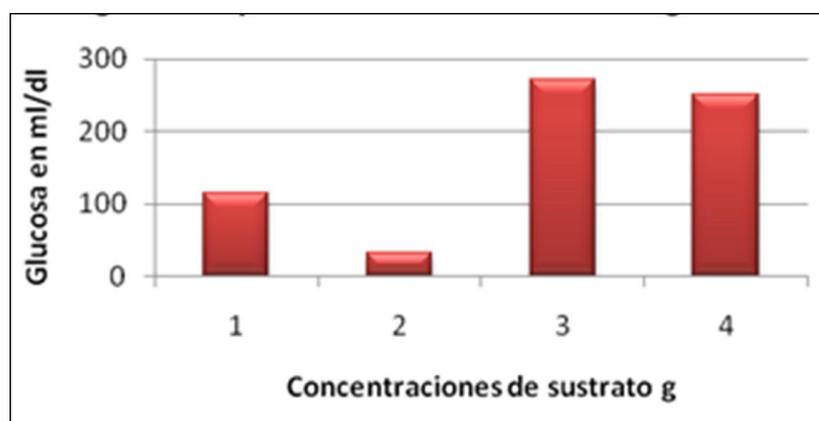


Figura 2. Promedio de la producción de glucosa por el consorcio de hongos

Tabla 11. ANAVA de Inóculo de hongos después de 12 días, según lectura de espectrofotómetro

Fuentes de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados de Medios	F Calc	P - Valor	Significancia
Tratamiento	153804.07	3	51268.02	238.17	0.0001	S
Error	2583.05	12	215.25			
Total	156387.12	15				

Según el análisis de varianza se observa que hay significancia estadística para el inóculo de hongos después de 12 días, según lectura de espectrofotómetro, debido a que el F tabular es 0.0001, siendo significativo en la investigación.

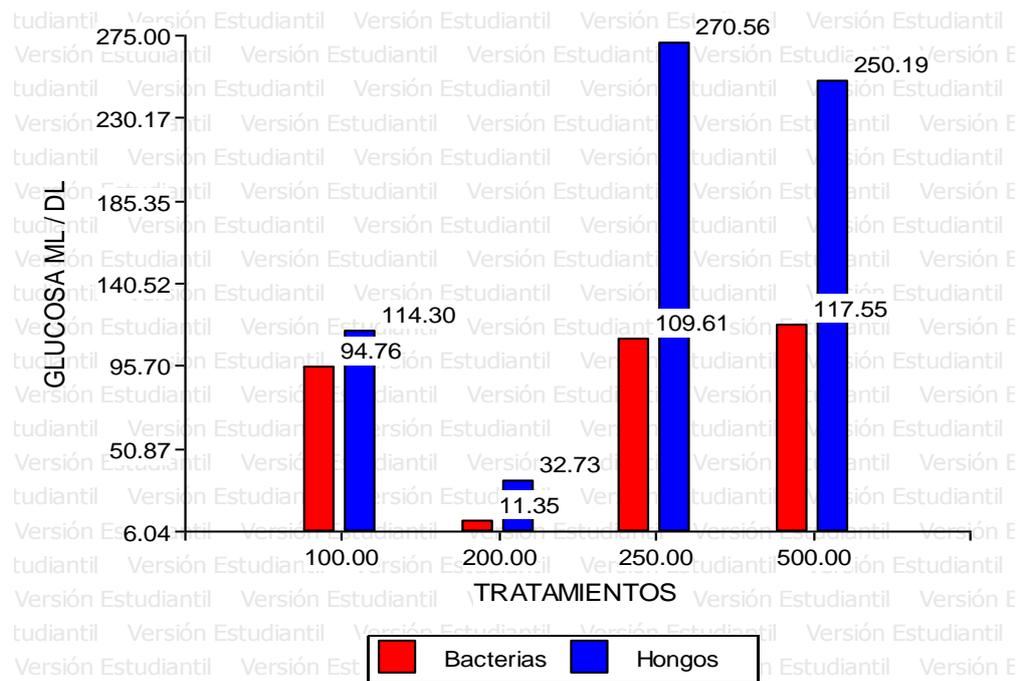


Figura 3. Glucosa ml/dl obtenido a los 26 días de la inoculación por el consorcio microbiano celulolítico

Transcurrido los 26 días se filtro las muestras y se mezclaron las repeticiones de los tratamientos para realizar la otra fase que es la fermentación, para lo cual se inoculo con cepas de *Saccharomyces cereviseae*, se realizó durante 4 días haciendo movimientos de rotación 4 veces durante cada día, transcurrido el tiempo se procedió a la destilación inmediatamente se obtuvo de la destilación 4.2 ml (Tabla 11, Figura 4) encontrando poco eficiente, ya que es necesario evaluar la presencia de otros tipos de azúcares como xilosa y arabinosa; ya que esta levadura solo utiliza como sustrato a la glucosa, galactosa y manosa para llevarla hasta alcohol.

*Saccharomyces cerevisiae* presenta un buen número de ventajas para su aplicación en la fermentación de biomasa, exhibe una gran selectividad en la fermentación, produciendo etanol prácticamente como único producto. Es conocida por su alta tolerancia al etanol, y su habilidad para fermentar azúcares a bajos niveles de pH proporciona protección contra la

contaminación bacterial. Otra ventaja clave es su habilidad para crecer y fermentar azúcares en la presencia de hidrolizados lignocelulósicos (Picataggio *et al.* 1994).

Sin embargo, una de las mayores limitaciones de la *S. cerevisiae* es su incapacidad para fermentar la xilosa (Herrera 2010).

Como menciona García. (2012), que se debe usar los microorganismos *Saccharomyces cerevisiae* y *Picchia stipitis* para la fermentación secuencial de glucosa y xilosa respectivamente. De esta forma solucionaríamos el problema del rendimiento. Hay que evaluar adecuadamente la etapa fermentativa ya que algunos autores mencionan que se debe fermentar solo tres días a una temperatura de 30 °C en cambio en el trabajo de fermentación en la presente investigación fue de cuatro días y posiblemente hay formación de otros metabolitos como el ácido acético.

Tabla 12. Porcentaje de etanol obtenido como producto de la destilación por muestra

Muestras (ml)	Etanol obtenido (ml)
100	1.100
200	0.975
250	1.000
500	1.125
Total	4.200



Figura 4. Cantidad de etanol obtenido como producto de la destilación por muestra

Los países del tercer mundo, muchos con climas tropicales y extensas áreas de tierras cultivadas, tomando en consideración la creciente necesidad de combustibles prevista para estos países para los próximos 20 años (Romano 2005), deben considerar los beneficios potenciales de utilizar sus residuos agrícolas para la producción de alcohol. La producción de etanol del bagazo de caña, y posiblemente de otros productos agrícolas, representa posiblemente una alternativa válida para aliviar sus problemas energéticos. Estos argumentos justifican plenamente un análisis juicioso sobre su viabilidad a largo plazo (Herrera 2002).

## IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

Se obtuvo 4.200 ml de etanol promedio de los cuatro tratamientos en estudio, en muestras de 100, 200, 250, 500 g con sus cuatro repeticiones.

Se logró obtener etanol a través de procesos enzimáticos con la degradación de la celulosa utilizando hongos y bacterias celulolíticas, provenientes del sustrato vegetativo.

El consorcio de bacterias y hongos cumplen un papel primordial en la degradación del sustrato de podas.

Los parques héroes del cenepa y plaza de armas tienen mayor biodiversidad de especies ornamentales y de jardinería en total 10 plantas.

### 5.2. Recomendaciones

En el proceso de degradación se debe tener en cuenta la medición de la glucosa diariamente para no perder al momento de destilar la cantidad total de alcohol.

Se debe usar otras levaduras como *Picchia stipitis* y *Zimomona móviles* para la fermentación secuencial de glucosa y xilosa respectivamente.

Al considerar la tecnología de la producción de etanol combustible de lignocelulosas, es posible identificar áreas de investigación en diversos campos de la ciencia y la tecnología.

El indudable valor estratégico del desarrollo de una industria rentable con altos volúmenes de producción, justifica la aplicación de un sostenido esfuerzo del sector científico e industrial, bajo el apoyo integrador del estado.

Diseñar bioreactores para controlar, T°, pH y agitación, y tiempo de exposición de las bacterias y hongos celulolíticos.

## V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aquije, F. 2013. Estudio experimental de obtención de bioetanol a banano orgánico en Piura. Junneyder Escalante Calderón y Hilda Fuentes Aquije.

Ariel, C et al. 2005. Simulación de los procesos de obtención de etanol a partir de caña de azúcar y maíz. Revista Scientia et Technica. Colombia, p. 187-192.

Barroso, M. 2010. Pretratamiento de biomasa celulósica para la obtención de etanol en el marco de una biorrefinería, p. 151.

CONAE (Comisión Nacional para el ahorro de Energía). 1999. Ficha Técnica de vehículos con etanol. México.

Curvo, L., Folch, J., Quiroz, R. 2009. Lignocelulosa como fuente de azúcares para la producción de etanol. Bio Tecnología, 13(3), 11–25. Retrieved from

[http://www.smbb.com.mx/revista/Revista\\_2009\\_3/Lignocelulosa.pdf](http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2009_3/Lignocelulosa.pdf)

Delfín, I., Durán, C. 2003. Biodegradación de residuos urbanos lignocelulósicos. Revista Internacional Contaminación Ambiental. México, 19(1), p.37-45.

Díaz, R. 2010 Ethanol From Waste of Pruning By Acid Hydrolysis and Enzymatic Hydrolysis. U.D.C.A Act. Y Div. Cient., 14, 111–116.

Fengel, D., Wegener, G. 1984. Madera: química, ultraestructura, reacciones. Berlín. sp.

García, L., Pless, R., González, E. 2012. Diseño de un proceso para la hidrólisis de residuos lignocelulósicos. Universidad Tecnológica San

Juan del Río, Querétaro. Consultado el 18 de Noviembre de 2014. Disponible en: <http://www.cicataqro.ipn.mx>.

Gentina, J. 2012. Bioetanol de Segunda Generación. Retrieved from <http://aiquruguay.org/congreso/download/GENTINA2.pdf>

Grijalva, N. 2013. Degradación de residuos vegetales mediante inoculación con cepas microbianas. Enfoque UTE, 1, 1–13. Retrieved from <http://ingenieria.ute.edu.ec/enfoqueute/>.

Harsono, S., Fauzi, M., Purwono, G., Soemarno, D. 2015. Second Generation Bioethanol from Arabica Coffee Waste Processing at Smallholder Plantation in Ijen Plateau Region of East Java. *Procedia Chemistry*, 14, 408–413. <http://doi.org/10.1016/j.proche.2015.03.055>.

Herrera, F. 2002. Producción de etanol combustible a partir de lignocelulosas. Universidad Del Cauca. Popayán, Colombia. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Santa Clara, Cuba., (1), p. 1–24.

Hoyos, L., Pérez, Y. 2005. Pre tratamiento del Material Lignocelulósico de la planta de banano y su fruto para la producción de jarabe. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Colombia. s.p.

Jorgensen, H; Eriksson, T; Borjesson, J. 2003. Purificación y caracterización de celulosas y una xylanasa para *Penicillium brasilianum*. *Enzima y tecnología microbiana*. V.32, p. 851–861.

Juri, S. 2011. Sacarificación Y Fermentación Simultánea Para La Producción De Bioetanol De Segunda Generación, Mediante Pretratamientos alternativos: Líquidos Iónicos Reciclados y Hongos De Pudrición Blanca, p. 24–26.

Krishna, S., Reddy, J., Chowdary, G. 2001. Fermentación de lignocelulosa para producción de etanol usando termo tolerantes, p. 193-196.

Lázaro, L., Arauzo, J. 1994. Aprovechamiento de residuos de la industria de conservas vegetales: hidrólisis enzimática. *Revista Zúbia España*, 1(12), p. 227-240.

Mamma, D., Kourtoglou, E., Christakopoulos, P. 2008. Hongos multi-enzimático producción en industrias y productos de cítricos en proceso de inutilización, p. 2373–2383.

Municipalidad provincial de Jaén. 2014. División de áreas verdes (Entrevista personal).

Monsalve, J., Medina, V., Ruíz, A. 2006. Producción de etanol a partir de la cáscara de banano y de almidón de yuca. *Revista Facultad de Minas*, 73(150), p. 21-27.

Nelder J., Mead R. 1965. Downhill simplex method in multidimensions. *Computer Journal*, 7: 308-315.

Ohgren, K., Bura, R., Saddler, J., Zacchi, G. 2007. El efecto de hemicelulosa y extracción lignina en la hidrólisis enzimática de vapor preparado en estufa. *Canadá*, 98(13), p. 2503-2510.

Oliveira, L., Porto, L., Tambourgi, E. 2006. Producción de xilanasas y proteasa en *Penicillium janthinellum*. *Revista Tecnología Bioresource*, 97(6), p. 862-867.

Palacio, H. 1956. Fabricación del alcohol. Barcelona, España, p. 279-305.

Romano, D., González, E y Laborde, M. 2005. Combustibles alternativos. Ediciones Cooperativas. Buenos Aires.

Quintana, J., Pérez, J., Young, H. 2011. Obtención de etanol a partir de residuos de poda, Mediante Hidrólisis Ácida E Hidrólisis Enzimática.

Salamanca, G. 1999. Determinación de azúcares mayoritarios en mieles de *Apis mellifera* por cromatografía líquida. *Colombia*, 29(7), p. 17-18.

Searle, S. 1971. Linear Models. New York, John Wiley & Sons, Inc., New York

Searle, S. 1987. Linear Models for Unbalanced Data. New York, John Wiley & Sons, Inc., New York.

Viñals, M., Bell, A., Michelena, G., Ramil, M. 2012. Obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica. Sobre los derivados de la caña de azúcar, p. 7-16.

# ANEXO

## Anexo 1. ÁREAS VERDES DE LA ZONA URBANA DEL DISTRITO DE JAÉN

Nº	Nombre del área verde	Área (m <sup>2</sup> )
01	Plaza de Armas de Jaén	4251.60
02	Parque Héroes del Cenepa	7678.24
03	Parque Magllanal	637.82
04	Parque Santa Rosa	1315.74
05	Parque Miguel Grau	659.68
06	Parque Las Palmeras	1346.91
07	Parque La Molina	1036.63
08	Parque Santa Emilia	960.10
09	Parque Arana Vidal	1181.63
10	Parque Belaunde Terry	1560.10
11	Parque Quiñones	1320.87
12	Parque Infantil Paul Harris	1778.86
13	Parque Guayacán	2696.98
14	Parque El Edén	1754.58
15	Parque Los Aromos	2958.14
16	Parque Independencia	333.44
17	Parque Los Incas	853.18
18	Parque los Tulipanes	1517.41
19	Plazuela Montegrande	1091.31
20	Plazuela Fila Alta - Primera Etapa	1491.71
21	Parque Fila Alta - Primera Etapa / Espaldas del C.E Cristo Rey	547.88
22	Plazuela Fila Alta Tercera Etapa	3169.96
23	Plazuela Fila Alta Ramiro Priale	850.00
24	Parque Miraflores	2427.09
25	Parque Valentín Paniagua	1340.00
26	Parque Los Olivos	1187.00
27	Parque Linderos	853.18

28	Parque externo del estadio	2427.09
29	Parque California	1440.00
30	Parque Linderos	625.00
31	Parque Los Sauces	2673.94
32	Parque la Quina	1180.13
33	Parque Bolívar	610.76
34	Parque Ecología	1179.17
35	Parque Brisas	1723.17
36	Jardín de Malecón Los Libertadores	3600.20
37	Jardín de Malecón Gran Marañón	820.00
38	Jardín de Malecón / Espalda Hs. Prims	620.11
39	Jardín de Malecón / Nueva Victoria	720.00
40	Macizo Amojú	2800.00
41	Macizo Molina	1440.00
42	Corredor Verde Aprox. 17km / Jaén - Chamaya	14 400.00
43	Estadio Municipal "Víctor Montoya Segura"	10 532.59
44	Av. Mariscal Castilla	2582.71
45	Av. Villanueva Pinillos	1235.38
46	Av. Mesones Muro	4799.06
47	Av. Pakamuros	500.00
48	Calle Huamantanga	868.56
49	Calle Sucre	1564.08
50	Calle San Martín	1475.25
51	Calle Diego Palomino	187.23
52	Calle Cajamarca	293.64
53	Calle Mariscal Ureta	133.83
54	Calle Orellana	941.80
55	Calle Santa Rosa	520.00
56	Calle Capellán Duarez	165.00
57	Calle Lambayeque	192.00

58	Calle Zarumilla	546.40
59	Calle San José	360.00
60	Calle Iquitos	703.80
61	Calle Tahuantinsuyo	312.00
62	Calle Hospital	420.20
63	Calle Las Begonias	410.00
64	Calle Marañón	1313.28
65	Calle Horacio Zevallos	335.00
66	Calle Los Pinos	200.00
67	Calle El Bosque	268.00
68	Calle Marieta	480.00
69	Calle San Carlos	652.00
70	Calle 9 de Octubre	997.92
71	Calle Raymondi	652.00
72	Calle Los Cipreses	280.00
73	Calle Los Robles	120.00
74	Calle Unión	180.00
75	Calle Torre Tagle	132.00
76	Calle José Gálvez	72.00
77	Prolongación Huamantanga	466.00
78	Prolongación Universidad	552.48
79	Pasaje Bracamoros	3.48
80	Pasaje Altamirano	144.00
81	Pasaje Ciro Alegría	105.00
82	Pasaje Rojas	133.00
83	Urb. Los Cedros (Ca. Capellán Duarez Cdas. 5,6)	181.50
84	Urb. Bancarios	1475.25
85	Ovalo Av. Villanueva Pinillos, Av. Mariscal Castilla	526.30
86	Ovalo Mariscal Castilla y Pakamuros	285.56
87	Ovalo Av. Mesones Muro (Cruce Montegrande)	32.85

88	Ovalo Av. Mesones Muro (Frente al Parque Arana Vidal)	197.61
89	Campo Ferial - Sr. de Huamantanga	1138.20
90	Camal Municipal	86.72
91	Jardines Hospital General	600.18
92	Jardines Ext. de Estadio Municipal	3482.44
93	Coliseo Cerrado Señor de Huamantanga	54.00
94	Instituto Nacional de Cultura (INC)	64.75
95	Biblioteca Municipal	404.09
96	Malecones Quebrada Amojú	161.69
97	Jardín Botánico	5831.00
98	Vivero Municipal	3120.07
<b>TOTAL</b>		<b>136531.51</b>

**Anexo 2. MEDICION EN EL ESPECTOFOTOMETRO DE LA CANTIDAD DE  
GLUCOSA CON BACTERIAS**

<b>MUESTRA g</b>	<b>CANTIDAD DE GLUCOSA ML / DL</b>	<b>O.D</b>
<b>100</b>		
1	98.1807	0.1832
2	67.5294	0.1261
3	118.472	0.221
4	94.8526	0.177
<b>200</b>		
1	10.62	0.1503
2	15.2	0.339
3	11.221	0.191
4	8.372	0.1748
<b>250</b>		
1	106.0182	0.1978
2	119.2774	0.2225
3	101.2942	0.189
4	111.869	0.2087
<b>500</b>		
1	149.9284	0.2796
2	95.5504	0.1783
3	125.8863	0.2348
4	98.8249	0.1844
<b>SUB TOTAL</b>	<b>1333.0965</b>	<b>3.2575</b>
<b>TOTAL DE MUESTRAS</b>		<b>16</b>

**Anexo 3. MEDICION EN EL ESPECTOFOTOMETRO DE LA CANTIDAD DE  
GLUCOSA CON HONGOS**

<b>MUESTRA g</b>	<b>CANTIDAD DE GLUCOSA ML / DL</b>	<b>O.D</b>
<b>100</b>		
1	98.2698	0.2399
2	120.4679	0.1384
3	115.2243	0.1757
4	123.2519	0.1644
<b>200</b>		
1	30.4597	0.1695
2	36.7836	0.2044
3	31.5469	0.1755
4	32.1268	0.1787
<b>250</b>		
1	250.4567	0.1637
2	265.989	0.2079
3	300.8984	0.2121
4	264.8891	0.2289
<b>500</b>		
1	250.7986	0.2009
2	249.1488	0.2251
3	270.4697	0.2433
4	230.3567	0.2677
<b>SUB TOTAL</b>	<b>2671.1379</b>	<b>3.1961</b>
<b>TOTAL DE MUESTRAS</b>		<b>16</b>

#### Anexo 4.

<b>N°</b>	<b>Cantidad</b>
<b>MUESTRA (ml)</b>	<b>Etanol obtenido (ml)</b>
<b>100</b>	
1	1.2
2	0.98
3	1.22
4	1.01
<b>200</b>	
1	1.2
2	0.9
3	1.1
4	0.7
<b>250</b>	
1	1.1
2	1
3	0.7
4	1.2
<b>500</b>	
1	1.198
2	1.18
3	1.162
4	0.98
<b>TOTAL</b>	<b>16.83</b>

## Anexo 5. Panel fotográfico



**Foto 01. Recolección de podas con apoyo del personal de áreas verdes de la MPJ. Parque: Héroes del Cenepa**



**Foto 02. Parque de Plaza de Armas**



**Foto 03. Caracterizacion del sustrato en el Vivero Municipal**



**Foto 04. Seleccionando tallos y hojas**



**Foto 05. Seleccionando tallos y hojas**



**Foto 06. Cantidad Total de poda del parque Héroes del Cenepa, Plaza de Armas**



**Foto 07. Preparación del sustrato de jardín**



**Foto 08. Secado de la muestra de poda en la estufa**



**Foto 09. Preparación del consorcio de hongos y bacterias**



**Foto 10. Introducción del consorcio de hongos y bacterias en los recipientes del sustrato vegetativo.**



**Foto 11. Pesado del sustrato de Jardín**



**Foto 12. Medición en el espectrofotómetro**



**Foto 13. Degradación del sustrato vegetativo con la ayuda del consorcio de bacterias celulíticas**



**Foto 14. Degradación del sustrato de jardín y la función que cumple el consorcio de hongos y bacterias celulíticas**



**Foto 15. Proceso de Colado**



**Foto 16. Preparación de la levadura**

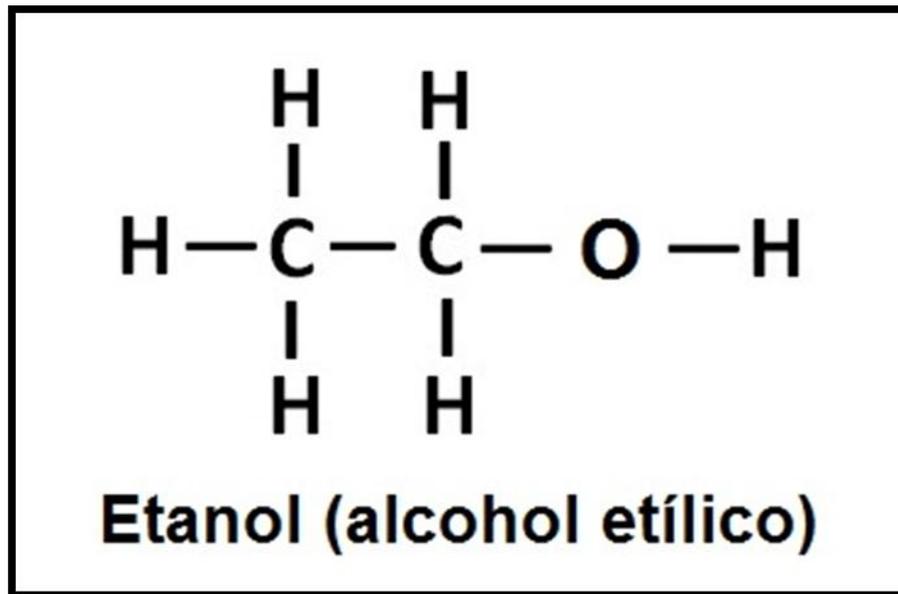


Foto 17. Formula del Etanol



Foto 18. Muestras para medición de glucosa en el espectrofotómetro