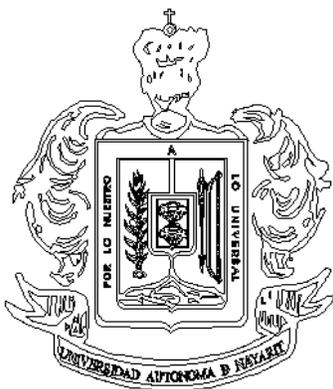


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NAYARIT  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS



Sacarificación del residuo proveniente del procesamiento de la jaca (*Artocarpus heterophyllus*) para propósitos fermentativos

Presenta:  
Ing. José Uriel Medina Morales

Tesis presentada como requisito parcial para la obtención del grado de:  
Maestro en Ciencias en el área de Ciencias Agrícolas

DIRECTOR DE TESIS:  
Dr. Raul Delgado Delgado

CODIRECTOR DE TESIS:  
Dra. Leticia Mónica Sánchez Herrera

*Dedicatoria*

*Por haberme apoyado a lo largo de mi vida hasta llegar a este punto,  
les dedico esta tesis a mis padres.*

*Susana y Úrsulo*

.

## *Agradecimientos*

*Agradezco a Conacyt por el apoyo que me brindó a lo largo de esta etapa.*

*Agradezco a posgrado de Ciencias Biológico Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Nayarit por permitirme realizar mi preparación como maestro en ciencias.*

*Agradezco a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y al posgrado de Ingeniería Química de esta institución por permitirme realizar mis estancias de investigación en su plantel.*

*A la RTB por el apoyo otorgado para realizar mis estancias en la UMSNH.*

*Al Dr. Raúl Delgado Delgado por su apoyo, dirección, consejos que me permitieron desenvolverme en este proyecto, dando nuevas perspectivas y opciones para mi futuro. A la Dra. Leticia Mónica Sánchez Herrera por su apoyo, dirección y consejos que me permitieron avanzar y mejorar como persona y como profesionalista. Al Dr. Antonio Hidalgo Millán y al Dr. Edgar Iván Jiménez Ruíz por su apoyo y consejos a lo largo del proyecto de maestría. Al Dr. Agustín Jaime Castro Montoya por recibirme en la UMSNH, aconsejarme y apoyarme en buena parte del proyecto. A la Dra. Ana Alejandra Vargas Tah por sus consejos, enseñanzas, asesoramiento y apoyo en la UMSNH.*

*A todas las personas que me apoyaron: mis padres, José y Susana, Sonia, el Lalo, el Mesino, la Blanca, la Katy, la Estrella, el Fercho y el Angel. A las buenas personas que conocí en este trayecto: Emanuel, Javier, Caro, Lizbeth, Sandra, Liz, Martín y Tessi.*

*A todos ustedes:*

**GRACIAS.**

Contenido

<b>RESUMEN</b>	<b>XIV</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>XV</b>
<b>1 INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2 MARCO TEÓRICO</b>	<b>2</b>
<b>2.1 LIGNOCELULOSA: ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN</b>	<b>2</b>
2.1.1 CELULOSA	4
2.1.2 HEMICELULOSA	5
2.1.3 LIGNINA	6
<b>2.2 RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS</b>	<b>7</b>
<b>2.3 APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS</b>	<b>8</b>
<b>2.4 PROCESOS DE HIDRÓLISIS</b>	<b>8</b>
2.4.1 PRETRATAMIENTO	8
2.4.2 HIDRÓLISIS ÁCIDA	9
2.4.3 HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA	10
<b>2.5 OTROS PRODUCTOS DE HIDRÓLISIS DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS</b>	<b>14</b>
<b>2.6 ANTECEDENTES</b>	<b>14</b>
<b>2.7 JACA: UNA FUENTE DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICO</b>	<b>16</b>
<b>3 HIPÓTESIS</b>	<b>18</b>
<b>4 OBJETIVO</b>	<b>18</b>
<b>4.1 OBJETIVO GENERAL</b>	<b>18</b>
<b>4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>18</b>

<b>5 MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>19</b>
<b>5.1 MATERIAL BIOLÓGICO</b>	<b>19</b>
<b>5.2 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD</b>	<b>19</b>
<b>5.3 DETERMINACIÓN DE CENIZAS</b>	<b>19</b>
<b>5.4 DETERMINACIÓN DE HOLOCELULOSA</b>	<b>20</b>
<b>5.5 DETERMINACIÓN DE CELULOSA Y HEMICELULOSA</b>	<b>20</b>
<b>5.6 DETERMINACIÓN DE LIGNINA SOLUBLE E INSOLUBLE</b>	<b>21</b>
<b>5.7 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES</b>	<b>22</b>
<b>5.8 DETERMINACIÓN DE EXTRACTO ETÉREO</b>	<b>22</b>
<b>5.10 TRATAMIENTO DE SUSTRATO PARA LAS REACCIONES DE HIDRÓLISIS</b>	<b>22</b>
<b>5.9 HIDRÓLISIS ÁCIDA</b>	<b>23</b>
<b>5.11 HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA</b>	<b>25</b>
<b>5.12 CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES</b>	<b>27</b>
<b>5.13 RENDIMIENTO DE REACCIÓN</b>	<b>28</b>
<b>5.14 ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b>	<b>28</b>
<b>6 RESULTADOS Y DISCUSIONES</b>	<b>29</b>
<b>6.1 CARACTERIZACIÓN DEL SUSTRATO</b>	<b>29</b>
<b>6.2 HIDRÓLISIS ÁCIDA</b>	<b>30</b>
<b>6.3 HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA</b>	<b>36</b>
<b>6.4 DESARROLLO DE MODELOS MATEMÁTICOS</b>	<b>42</b>
<b>7 CONCLUSIONES</b>	<b>50</b>
<b>8 REFERENCIAS</b>	<b>51</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>59</b>
<b>ANEXO A.1: PREPARACIÓN DE SOLUCIONES DE HIDRÓXIDO DE SODIO</b>	<b>60</b>
<b>ANEXO A.2: PREPARACIÓN DE SOLUCIONES DE ÁCIDO SULFÚRICO</b>	<b>61</b>

<b>ANEXO A.3: PREPARACIÓN DE BUFFER DE CITRATO DIBÁSICO DE SODIO (PH=4.8)</b>	<b>62</b>
<b>ANEXO A.4: DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES</b>	<b>63</b>
<b>ANEXO A.5: PREPARACIÓN DE DNS</b>	<b>64</b>
<b>ANEXO A.6: CURVA DE CALIBRACIÓN DE GLUCOSA</b>	<b>65</b>
<b>ANEXO A.7: PLANTEAMIENTO DE LOS FACTORES DE CONVERSIÓN PARA CÁLCULO DE RENDIMIENTO</b>	<b>67</b>
<b>ANEXO A.8: DETERMINACIÓN DE RENDIMIENTO</b>	<b>68</b>
<b>ANEXO A.9 AJUSTES DE LAS CONSTANTES DE LOS MODELOS PROPUESTOS</b>	<b>69</b>
<b>ANEXO B: TRABAJOS GENERADOS</b>	<b>75</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1. Estructura de la lignocelulosa (fuente: (Brandt, <i>et al.</i> 2013)).</b> .....	3
<b>Figura 2. Celulosa: a) estructura de celulosa cristalina y b) glucosa, la unidad monomérica de la celulosa (fuente: modificado de (Wordpress, 2015)).</b> .....	4
<b>Figura 3. Hemicelulosa: a) estructura de hemicelulosa y b) principales monosacáridos que conforman la hemicelulosa.</b> .....	6
<b>Figura 4. Lignina: a) estructura de la lignina y b) ejemplo de algunos de los compuestos que puede contener lignina.</b> .....	7
<b>Figura 5. Reacciones químicas: a) teoría de colisiones y b) teoría del estado de transición.</b> .....	9
<b>Figura 6. Efecto de la concentración del sustrato en la velocidad de las reacciones enzimáticas.</b> .....	12
<b>Figura 7. Proceso de hidrólisis enzimática: a) modelo de la adaptación inducida, b) hidrólisis enzimática de celulosa y c) cinética de las reacciones enzimáticas.</b> .....	13
<b>Figura 8. Jaca: a) fruto de jaca cultivado y b) fruto de jaca seccionado.</b> .....	16
<b>Figura 9. Residuo de jaca</b> .....	17
<b>Figura 10. Producción de azúcares reductores en la hidrólisis ácida del residuo de jaca a temperatura de 90°C.</b> .....	30
<b>Figura 11. Producción de azúcares reductores en la hidrólisis ácida del residuo de jaca a temperatura de.....</b> .....	31
<b>Figura 12. Producción de azúcares reductores en la hidrólisis ácida del residuo de jaca a temperatura de 120°C.</b> .....	32
<b>Figura 13. Producción de azúcares reductores en la hidrólisis ácida del residuo de jaca a temperatura de 90°C.</b> .....	33
<b>Figura 14. Producción de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática del residuo de jaca a temperatura de 30°C.</b> .....	37

<b>Figura 15. Producción de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática del residuo de jaca a temperatura de 40°C. ....</b>	<b>38</b>
<b>Figura 16. Producción de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática del residuo de jaca a temperatura de 50°C. ....</b>	<b>39</b>
<b>Figura 17. Modelos ajustados a los datos experimentales de hidrólisis enzimática 30°C.</b>	<b>44</b>
<b>Figura 18. Modelos matemáticos ajustados a los datos experimentales de hidrólisis enzimática 40°C. ....</b>	<b>44</b>
<b>Figura 19. Modelos matemáticos ajustados a los datos experimentales de hidrólisis enzimática a 50°C.....</b>	<b>45</b>
<b>Figura 20. Predicción del modelo generalizado para la producción de azúcares reductores con dependencia del tiempo (h) y temperatura (°C) a <math>R_{s/l}=7.5\%</math>. ....</b>	<b>46</b>
<b>Figura 21. Predicción del modelo generalizado para la producción de azúcares reductores con dependencia del tiempo (h) y temperatura (°C) a <math>R_{s/l}=10\%</math>. ....</b>	<b>47</b>
<b>Figura 22. Predicción del modelo generalizado para la producción de azúcares reductores con dependencia del tiempo (h) y temperatura (°C) a <math>R_{s/l}=12.5\%</math>.....</b>	<b>48</b>
<b>Figura 23. Curva de calibración obtenida a partir de la ABS medida a soluciones con diferente concentración de glucosa.....</b>	<b>66</b>
<b>Figura 24. Gráfica de aproximación de los valores de <math>C_{PRS}</math> con el modelo propuesto para una <math>R_{s/l}</math> de 7.5%. ....</b>	<b>70</b>
<b>Figura 25. Gráfica de aproximación de los valores de <math>C_{PRS}</math> con el modelo propuesto para una <math>R_{s/l}</math> de 10%. ....</b>	<b>71</b>
<b>Figura 26. Gráfica de aproximación de los valores de <math>C_{PRS}</math> con el modelo propuesto para una <math>R_{s/l}</math> de 12.5%.....</b>	<b>71</b>
<b>Figura 27. Gráfica de aproximación de los valores de k con el modelo propuesto para una <math>R_{s/l}</math> de 7.5%. ....</b>	<b>73</b>
<b>Figura 28. Gráfica de aproximación de los valores de <math>C_{PRS}</math> con el modelo propuesto para una k de 10%. ....</b>	<b>74</b>

**Figura 29. Gráfica de aproximación de los valores de  $C_{PRS}$  con el modelo propuesto para una  $k$  de 12.5%..... 74**

## Índice de tablas

<b>Tabla 1. Productos obtenibles a partir del aprovechamiento de material lignocelulósico*</b> .....	2
<b>Tabla 2. Composición lignocelulósica de algunos residuos lignocelulósicos*</b> .....	4
<b>Tabla 3. Diseño experimental de la hidrólisis ácida en el sustrato de jaca 90°C.</b> .....	23
<b>Tabla 4. Diseño experimental de la hidrólisis ácida en el sustrato de jaca 105°C.</b> .....	24
<b>Tabla 5. Diseño experimental de la hidrólisis ácida en el sustrato de jaca 120°C.</b> .....	24
<b>Tabla 6. Diseño experimental de la hidrólisis ácida en el sustrato de jaca 135°C.</b> .....	25
<b>Tabla 7. Diseño experimental de la hidrólisis enzimática a 30°C</b> .....	26
<b>Tabla 8. Diseño experimental de la hidrólisis enzimática a 40°C</b> .....	26
<b>Tabla 9. Diseño experimental de la hidrólisis enzimática 50°C.</b> .....	26
<b>Tabla 10. Análisis de composición del sustrato de jaca (secado a 50°C durante 96 horas).</b> .....	29
<b>Tabla 11. ANOVA de los datos experimentales de la hidrólisis ácida del sustrato de jaca.</b> .....	34
<b>Tabla 12. Comparación de medias para los datos de la hidrólisis ácida (tres grupos con respuestas más elevadas).</b> .....	35
<b>Tabla 13. ANOVA de los datos de la hidrólisis enzimática.</b> .....	40
<b>Tabla 14. Comparación de medias para los datos de la hidrólisis enzimática (tres grupos con respuestas más elevadas).</b> .....	41
<b>Tabla 15. Parámetros cinéticos para la predicción de la producción de azúcares reductores.</b> .....	43
<b>Tabla 16. Cantidades empleadas para la elaboración de NaOH.</b> .....	60
<b>Tabla 17. Cantidades empleadas para la elaboración de solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluido empleado en la hidrólisis ácida del residuo de jaca.</b> .....	61

<b>Tabla 18. Respuesta de ABS a las diferentes concentraciones de glucosa.....</b>	<b>65</b>
<b>Tabla 19. Masa de azúcares producidos a conversión total de la reacción de hidrólisis ácida del sustrato de jaca.....</b>	<b>68</b>
<b>Tabla 20. Masa de azúcares producidos a conversión total de la reacción de hidrólisis enzimática del sustrato de jaca.....</b>	<b>68</b>
<b>Tabla 21. Ajuste de la constante <math>C_{PRS}</math> a un modelo de segundo orden, para la hidrólisis realizada a una <math>R_{s/l}</math> de 7.5%.....</b>	<b>69</b>
<b>Tabla 22. Ajuste de la constante <math>C_{PRS}</math> a un modelo de segundo orden, para la hidrólisis realizada a una <math>R_{s/l}</math> de 10%.....</b>	<b>69</b>
<b>Tabla 23. Ajuste de la constante <math>C_{PRS}</math> a un modelo de segundo orden, para la hidrólisis enzimática realizada a una <math>R_{s/l}</math> de 12.5%.....</b>	<b>70</b>
<b>Tabla 24. Ajuste de la constante <math>k</math> a un modelo de segundo orden, para la hidrólisis realizada a una <math>R_{s/l}</math> de 7.5%.....</b>	<b>72</b>
<b>Tabla 25. Ajuste de la constante <math>k</math> a un modelo de segundo orden, para la hidrólisis realizada a una <math>R_{s/l}</math> de 10%.....</b>	<b>72</b>
<b>Tabla 26. Ajuste de la constante <math>k</math> a un modelo de segundo orden, para la hidrólisis realizada a una <math>R_{s/l}</math> de 12.5%.....</b>	<b>73</b>

## Resumen

En las últimas décadas, se ha despertado el interés por el aprovechamiento de los residuos lignocelulósicos (recurso renovable), conformados por celulosa, hemicelulosa y lignina, los cuales pueden ser empleados como productores de carbohidratos mediante procesos químicos y/o biológicos. Los carbohidratos pueden ser aprovechados para producir diversos compuestos químicos similares a los que se obtienen a partir del petróleo como es el caso de los biocombustibles, que se pueden implementar para aportar parte de la demanda energética. La biomasa lignocelulósica como residuo o subproducto puede provenir de diversas fuentes como: la agricultura, las actividades forestales, aserraderos, la agroindustria, entre otras. La generación de residuos lignocelulósicos por el procesamiento y comercialización del fruto de la jaca (*Artocarpus heterophyllus*) es una alternativa para la obtención de azúcares aprovechables. El presente trabajo trata de un estudio sobre el desempeño del residuo lignocelulósico de jaca para su aprovechamiento como fuente de azúcares reductores, mediante el proceso de hidrólisis ácida e hidrólisis enzimática. La composición de los residuos del fruto de jaca fue de 25.36% de celulosa, 13.24% de hemicelulosa y 9.29% de lignina. Las condiciones óptimas para la hidrólisis ácida fueron de 90°C de temperatura, 6% (p/p) de concentración de ácido y tiempo de 120 min; obteniendo una producción de azúcares reductores de 9.8104 g/L y un rendimiento de reacción de 22.69%. En el caso de la hidrólisis enzimática las condiciones óptimas de temperatura,  $R_{s/1}$  y tiempo para la producción de azúcares reductores fue de 40°C, 7.5% y 2 h, con las cuales se obtuvo una concentración de azúcares de 25.2646 g/L, utilizando celulasas y hemicelulasas de *Aspergillus niger* (Sigma Aldrich®), con un rendimiento de reacción de 58.48%. Los modelos matemáticos estudiados y aplicados a los datos experimentales mostraron ajustes de 0.9662 para una  $R_{s/1}$  de 7.5%, un valor de 0.9886 para un  $R_{s/1}$  de 10% y un ajuste de 0.9881 para un  $R_{s/1}$  de 12.5%. Basado en los rendimientos obtenidos para las condiciones óptimas, se determinó que la hidrólisis enzimática fue 2.6 veces más eficiente que la hidrólisis ácida.

## Abstract

In recent decades, interest has been awakened in the use of lignocellulosic waste (renewable resource), consisting of cellulose, hemicellulose and lignin, which can be used as carbohydrate producers through chemical and/or biological processes. Carbohydrates can be used to produce several chemical compounds similar to those obtained from petroleum, such as biofuels, which can be implemented to provide part of the energy demand. The lignocellulosic biomass as waste or by-product can come from diverse sources such as: agriculture, forestry activities, sawmills, agroindustry, among others. The generation of lignocellulosic residues by the processing and commercialization of the jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) is an alternative for the obtaining of usable sugars. The present work deals with a study on the performance of the lignocellulosic waste of jackfruit for its use as a source of reducing sugars, through the process of acid hydrolysis and enzymatic hydrolysis. The composition of the waste of the jackfruit was 25.36% cellulose, 13.24% hemicellulose and 9.29% lignin. The optimum conditions for acid hydrolysis were 90°C of temperature, 6% (w/w) of sulfuric acid concentration and 120 min of time; obtaining a production of reducing sugars of 9.8104 g/L and a reaction yield of 22.69%. In the case of enzymatic hydrolysis, the optimal conditions of temperature,  $R_{s/l}$  and time for the production of reducing sugars were 40°C, 7.5% and 2 h, respectively, with which a concentration of sugars of 25.26 g/L was obtained, using cellulases and hemicellulases of *Aspergillus niger* (Sigma Aldrich®), with a reaction yield of 58.48%. The mathematical models studied and applied to the experimental data showed adjustments of 0.9662 for a  $R_{s/l}$  of 7.5%, a value of 0.9886 for a  $R_{s/l}$  of 10% and an adjustment of 0.9881 for an  $R_{s/l}$  of 12.5%. Based on the yields obtained for the optimal conditions, it was determined that the enzymatic hydrolysis was 2.6 times more efficient than the acid hydrolysis.

# 1 Introducción

La necesidad de materias primas como fuente de carbono sostenibles fomenta cada vez más el interés en los procesos para el aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica como fuente de carbohidratos. Estos hidratos de carbono pueden ser aprovechados para producir, por ejemplo, etanol y ácido láctico, sustratos para la producción de biocombustible y bioplástico (Guerfali, *et al.* 2014; Sacramento-Rivero, *et al.* 2010). Además, la imposibilidad de establecer un modelo sostenible a partir del petróleo, la incertidumbre en la disponibilidad y precio, así como el impacto ambiental que conlleva el aprovechamiento de este recurso, fomenta cada vez más el interés en los procesos para el aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica como fuente de azúcares fermentables (Guerfali *et al.* 2014; Sacramento-Rivero *et al.* 2010; Yamaguchi *et al.* 2015).

El aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica ha ganado terreno debido a que este recurso se puede explotar y generar un amplio espectro de productos. Sin embargo, para aprovechar plenamente los residuos lignocelulósicos es necesario considerar procesos aplicables a estos materiales sin importar la fuente de procedencia. También es necesario acoplar la producción de los bioproductos de alto valor agregado, principalmente biocombustible, mediante el desarrollo de biorefinerías. Este tipo de estrategias ya han sido empleada en Estados Unidos, Japón y en países de la Unión Europea (Sacramento-Rivero, *et al.* 2010; Nizami, *et al.* 2017).

En la literatura se puede encontrar una gran variedad de trabajos de investigación sobre el aprovechamiento de residuos lignocelulósicos para la obtención de azúcares reductores. En estas investigaciones, los azúcares obtenidos se emplean principalmente para producción de etanol, ácido láctico, polioles (alcoholes polihídricos), entre otros. Además, estos carbohidratos pueden ser transformados en diversos productos útiles mediante procesos de conversión biológica o química (Tabla 1) (Nwogwugwn, *et al.* 2016; Agencia Provincial de la Energía, 2014; Yamaguchi, *et al.* 2016)

**Tabla 1. Productos obtenibles a partir del aprovechamiento de material lignocelulósico\***

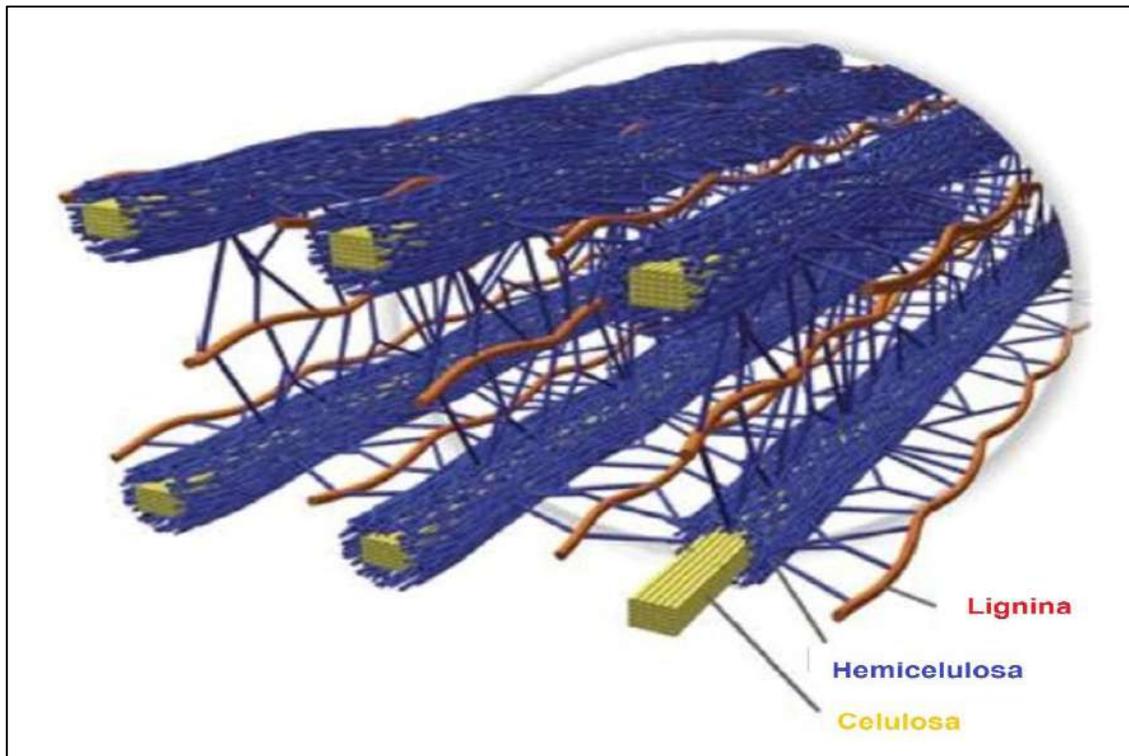
<b>Materia prima</b>	<b>Azúcares</b>	<b>Químicos primarios</b>	<b>Químicos secundarios</b>	<b>Intermediarios</b>
Material lignocelulósico				Combustibles
			Metanol	Aditivos para combustibles
		Glucosa	Etanol	Éter
		Xilosa	Glicerol	Olefinas
		Arabinosa	Ácido láctico	Ésteres
		Manosa	Furfural	Furano
		Galactosa	Lisina	Acrilato
			Ácido gálico	

\* Modificado de (Agencia Provincial de la Energía, 2014)

## 2 Marco teórico

### 2.1 Lignocelulosa: estructura y composición

Se denomina lignocelulosa (Figura 1) al material principal que constituye parte de las plantas. La lignocelulosa, al ser un recurso natural renovable es uno de los materiales más prometedores para producir energía y productos que se obtienen a partir de la explotación del petróleo.



**Figura 1. Estructura de la lignocelulosa (fuente: (Brandt, *et al.* 2013)).**

El material lignocelulósico es el principal componente de la pared celular de las plantas, es un recurso abundante, renovable y sus principales componentes son la celulosa, hemicelulosa y lignina. En la tabla 2 se muestran las concentraciones químicas de algunos materiales lignocelulósicos.

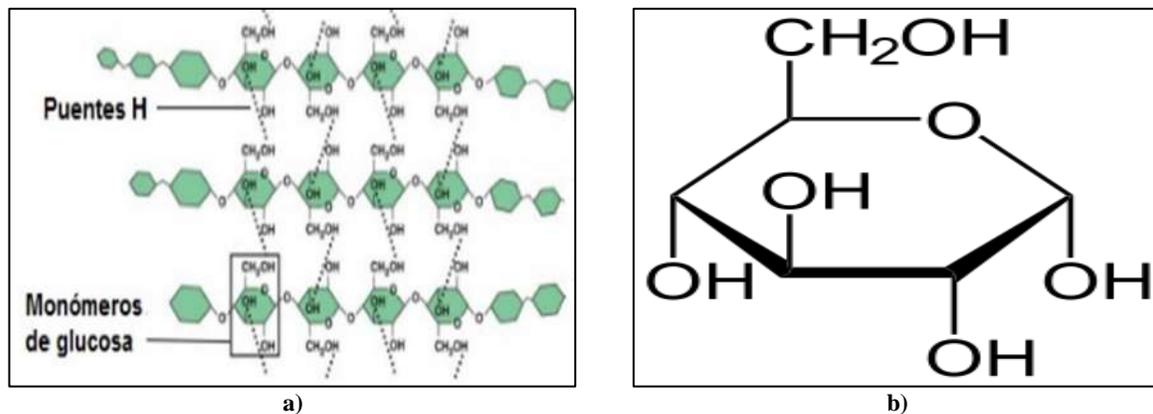
**Tabla 2. Composición lignocelulósica de algunos residuos lignocelulósicos\***

<b>Fuente</b>	<b>Celulosa %</b>	<b>Hemicelulosa %</b>	<b>Lignina %</b>
Rastrojo de maíz	35	25	35
Paja de trigo	30	50	15
Coco de aceite	18.85	-	21.8
Cáscara de plátano	13.2	14.8	14.0
Hojas de tomates	10.9	8.1	24.8
Madera blanda	40-44	25-29	25-31
Madera dura	43-47	25-35	16-24

\* Modificado de (Abdul Khalil, *et al.* 2012; Suhas, *et al.* 2016; Ruiz-Colorado, *et al.* 2014)

### 2.1.1 Celulosa

La celulosa es el polímero de carbono más abundante en la naturaleza, está conformada por moléculas de glucosa unidas mediante enlaces  $\beta$ -1,4-glucosídicos, esto forma largas cadenas de glucosa. Estas cadenas se unen mediante los diversos puentes de hidrógeno, hechos por los tres grupos hidroxilo de la glucosa, lo cual construye diversas zonas cristalinas en la celulosa, así como se muestra en la figura 2 (Abdul Khalil, *et al.* 2012; Coseri, 2017; Suhas, *et al.* 2016).



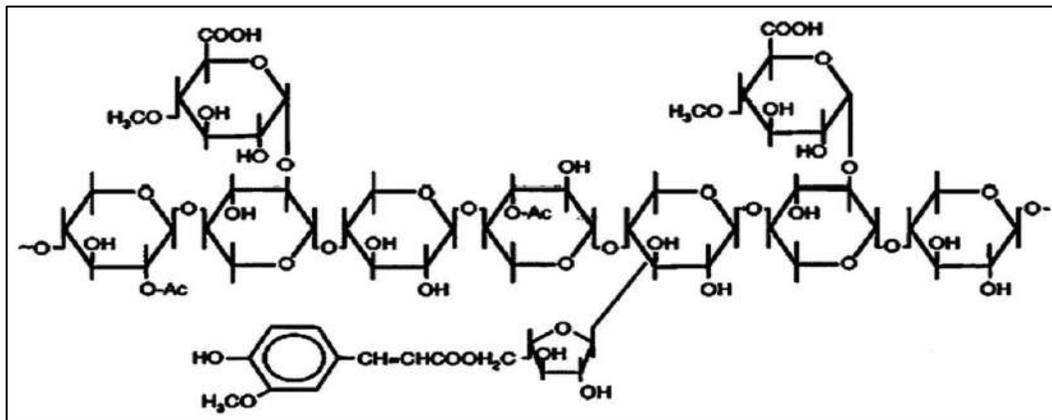
**Figura 2. Celulosa: a) estructura de celulosa cristalina y b) glucosa, la unidad monomérica de la celulosa (fuente: modificado de (Wordpress, 2015)).**

La alta cristalinidad de la celulosa provoca que sea insoluble en agua y en los solventes orgánicos más comunes; además, por esta propiedad, es resistente a las reacciones químicas a temperaturas elevadas, hasta que se accede a sus regiones amorfas (Coseri, 2017).

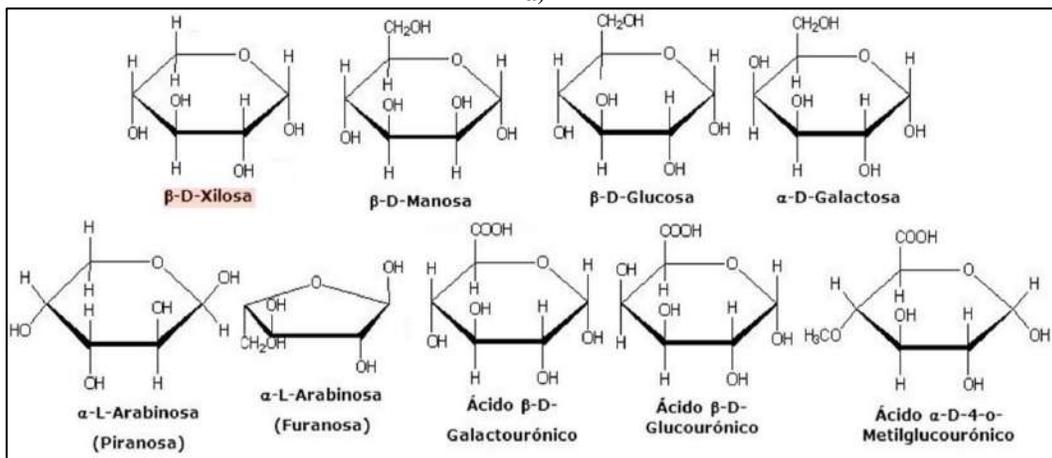
La celulosa puede ser aprovechada para la obtención de glucosa (Figura 2b), la cual puede ser empleada para elaborar diversos productos químicos. La glucosa puede ser fácilmente usada en procesos de fermentación para obtener una gran variedad de productos químicos (Healey, *et al.* 2015; Sacramento-Rivero, *et al.* 2010).

### 2.1.2 Hemicelulosa

La hemicelulosa (Figura 3a) es un heteropolisacárido que está conforma por cadenas lineales de xilosa ramificada con pentosas y hexosas. Podemos encontrar monosacáridos como xilosa, glucomananos, galactanos y arabanos, además también pueden presentar ácido urónico cuando el tejido es muy lignificado. Esta variedad de azúcares incrementa la cantidad de productos obtenibles de la lignocelulosa.



a)

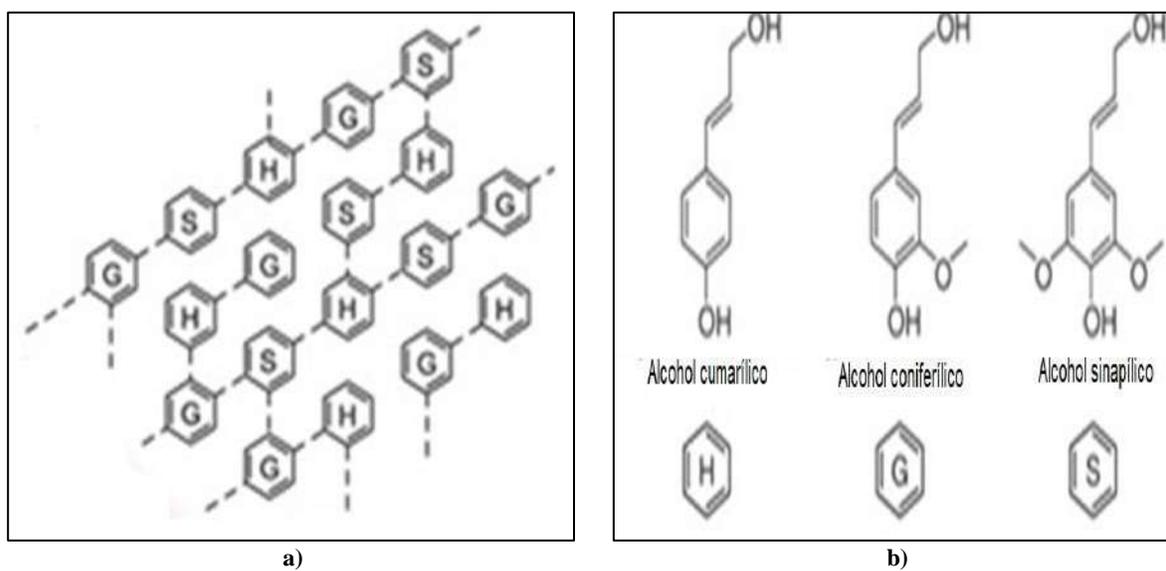


b)

**Figura 3. Hemicelulosa: a) estructura de hemicelulosa y b) principales monosacáridos que conforman la hemicelulosa.**

### 2.1.3 Lignina

La lignina es un biopolímero el cual posee una estructura muy compleja y de alto peso molecular. Dentro de su estructura contiene alcoholes fenilpropílicos como el alcohol cumarílico, coniferílico y sinapílico (Figura 4).



**Figura 4. Lignina: a) estructura de la lignina y b) ejemplo de algunos de los compuestos que puede contener lignina.**

La lignina se puede aprovechar para la obtención de diversos productos como el ácido gálico (aditivo alimenticio) y el ácido ferúlico (antioxidante, precursor de vainillina) (Healey, *et al.* 2015; Ruiz-Colorado, *et al.* 2014).

## 2.2 Residuos lignocelulósicos

Una fuente de lignocelulosa son los residuos lignocelulósicos, los cuales pueden ser generados a partir de la agricultura, la agroindustria y actividades forestales. Estos residuos son una fuente rica en carbohidratos ya que se producen  $15-17 \times 10^{10}$  ton/año aproximadamente, de este residuo, la mayor parte es proveniente de residuos agrícolas, los cuales son generados por las actividades del cultivo de diversas plantas, o parte de estas, después de que el producto agrícola es aprovechado (Chen, *et al.* 2017).

Los residuos lignocelulósicos pueden provocar graves efectos de contaminación. Un ejemplo de estos casos es la acumulación en los sistemas agrícolas y la incineración del material para diversos fines. Una forma óptima y eficiente para mermar este problema es reciclar estos residuos para diversos fines, por ejemplo, producción de alimento para ganado, como composta para diversos cultivos y su empleo como fuente de azúcares (Petre y Petre, 2012; Petre y Petre, 2013).

## 2.3 Aprovechamiento de residuos lignocelulósicos

La lignocelulosa es una fuente de carbono renovable, pero debido a su estructura compleja, el aprovechamiento de este material es costoso (Guerfali, *et al.* 2014; Sacramento-Rivero, *et al.* 2010; Yamaguchi, *et al.* 2016; Chen, *et al.* 2017). Sin embargo, la lignocelulosa puede provenir de fuentes de bajo costo como lo son los residuos lignocelulósicos. Al emplear los residuos lignocelulósicos como fuente de azúcares, se amplía la variedad de sus aplicaciones en biorefinerías. Sin embargo, para lograr el buen aprovechamiento de estos materiales para este fin, es necesario acceder a los carbohidratos que conforman la pared celular de la lignocelulosa. Estos procesos pueden incluir un pretratamiento químico, mecánico o biológico, procesos de hidrólisis ácida o enzimática para la obtención de los azúcares estructurales, la producción de compuestos químicos a partir de estos elementos y la separación de los productos (Tanaka y Matsuno, 1985).

## 2.4 Procesos de hidrólisis

La rigidez del material lignocelulósico está dado por la concentración de lignina, lo cual limita su aprovechamiento eficiente ya que impide el contacto con la celulosa y la hemicelulosa. La lignina es el material residual de la hidrólisis (Chen, *et al.* 2017; Healey, *et al.* 2015).

En el aprovechamiento de los residuos lignocelulósicos, en la obtención de azúcares a partir de los carbohidratos estructurales del material, se emplean las técnicas la hidrólisis (ácida, enzimática y básica), la cual, es la disociación de las moléculas de celulosa y hemicelulosa en presencia de agua y un catalizador.

### 2.4.1 Pretratamiento

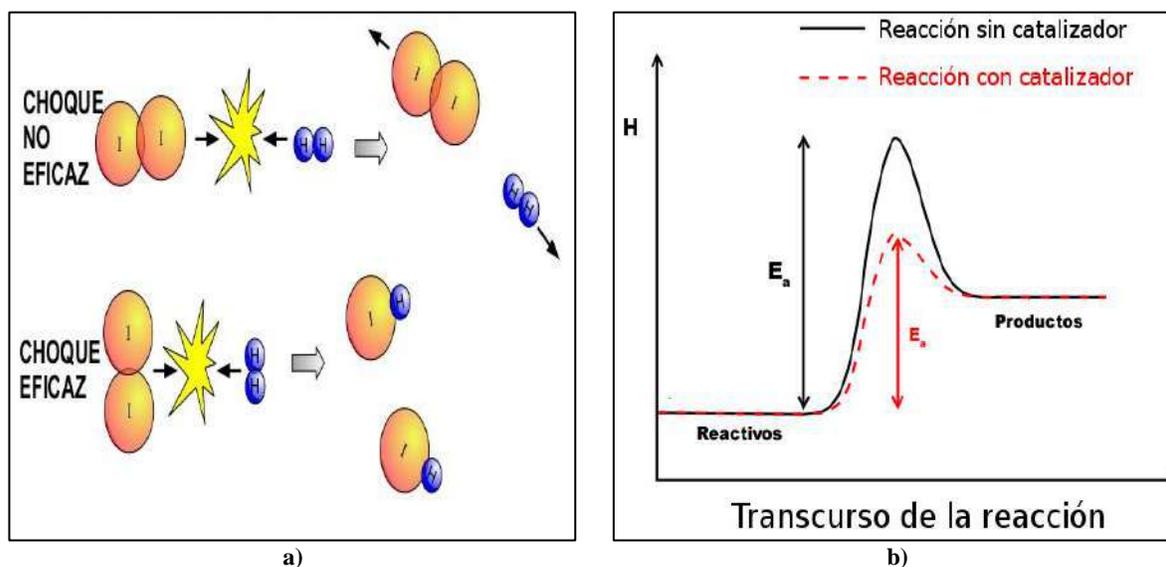
Algunos de los materiales lignocelulósicos presentan una alta resistencia a ser aprovechados como fuente de azúcares debido a la recalcitrancia generada por la lignina, la cual varía dependiendo de su fuente (Domínguez-Domínguez, *et al.* 2012; Da Silva-Perez, *et al.* 2011). Para retirar la lignina existen tres métodos, el primero es el químico, en el cual se realizan una reacción directamente sobre el material con sustancias ácidas; esto reduce la concentración de los materiales que componen la lignocelulosa, incluyendo la lignina y, por lo tanto, su

recalcitrancia. El segundo método es el mecánico, en el cual se reduce el tamaño de partícula para incrementar la porosidad y el área de contacto de la partícula, lo que facilitaría la reacción. La tercera es el método biológico, en el cual se emplean organismos que se alimentan de la lignina o enzimas extraídas de estos organismos (Da Silva-Perez *et al.* 2011).

## 2.4.2 Hidrólisis ácida

El proceso de hidrólisis ácida de residuos lignocelulósicos consta de la ruptura de los enlaces de las macromoléculas de polisacáridos en presencia de agua apoyados por el catión  $H^+$  (hidrón) el cual es aportado por una fuente ácida (catalizador) (Chen, *et al.* 2017; Domínguez-Domínguez, *et al.* 2012; Herrera, *et al.* 2003).

La hidrólisis ácida es una reacción química y para que esta ocurra deben cumplirse dos cosas: la primera es que las moléculas reaccionantes deben impactarse de forma precisa (teoría de colisiones) (Figura 5a) y estas deben alcanzar la energía de activación para llevar exitosamente la reacción (teoría de estado de transición) (Figura 5b) (Fogler, 2001; Roberts, 2009).



**Figura 5. Reacciones químicas: a) teoría de colisiones y b) teoría del estado de transición.**

La reacción de hidrólisis ácida se puede llevar a cabo de dos maneras: la primera, empleando bajas concentraciones de ácido a altas temperaturas, reduciendo la cantidad de ácido y el tiempo de reacción; sin embargo, al requerir altas temperaturas se aceleran todas las reacciones,

incluyendo las de degradación. La segunda, utilizando altas concentraciones de ácido a bajas temperaturas y con lo que se logra alcanzar altas concentraciones de azúcares; sin embargo, el gasto de catalizador es elevado, además, de los equipos son corroídos más fácilmente y los tiempos de residencia se incrementan (Piñeros-Castro y Yineth, 2014).

Para la hidrólisis de lignocelulosa se presentan diversas reacciones paralelas y secuenciales que crean un sistema complejo de reacciones, las cuales se representan en las ecuaciones (1) a (4):



Donde  $k$  es la constante de velocidad de reacción.

En la ecuación (1) se presenta la producción de glucosa a partir de la celulosa. En la ecuación (2) se presenta la producción de xilosa a partir de la hemicelulosa, excluyendo el resto de los monosacáridos que componen este polímero. En la ecuación (3) y (4) se plantea la degradación de los monosacáridos de hexosas (6 carbonos) y pentosas (5 carbonos) en HMF (hidroximetil furfural) y furfural respectivamente (Healey, *et al.* 2015; Herrera, *et al.* 2003).

### 2.4.3 Hidrólisis enzimática

El proceso de hidrólisis enzimática en residuos lignocelulósicos se lleva a cabo cuando se realiza actividad selectiva, coordinada y sinérgica de las enzimas (proteína o sustancia tipo proteica con propiedades catalíticas) hidrolíticas sobre los enlaces de estos sustratos. En las reacciones enzimáticas las enzimas se enlazan al sustrato mediante un sitio activo específico. El poder catalítico de las enzimas se atribuye a la energía del enlace del sustrato con la enzima a través

de enlaces múltiples con los grupos funcionales específicos de la enzima (cadena de aminoácidos, iones metálicos) (Fogler, 2001). La selectividad de las enzimas es la razón que evita la degradación de los productos deseados, siempre y cuando, la enzima no sea afín al producto (Roberts, 2009). En las ecuaciones 5 a 7 se describen las reacciones involucradas en el proceso de hidrólisis enzimática.



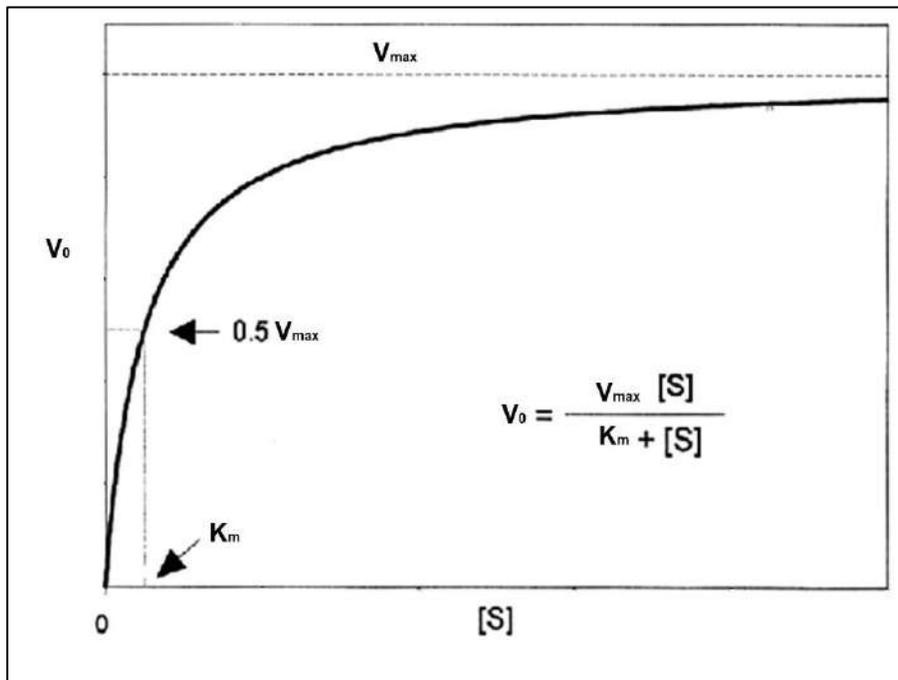
Donde  $S$  es el sustrato,  $E$  es la enzima,  $ES$  es el complejo enzima-sustrato,  $EP$  es el complejo enzima-producto,  $P$  es el producto  $k_1, k_2, k_3, k_4, k_5$  y  $k_6$  son las constantes de velocidad de reacción.

El comportamiento de las reacciones enzimáticas está dada la relación de Michaelis-Menten mostrada en la ecuación (8).

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]} \quad (8)$$

Donde  $V_0$  es la velocidad de producción,  $V_{max}$  es la velocidad máxima,  $[S]$  es la concentración del sustrato y  $K_m$  es la constante de Michaelis-Menten (corresponde a la concentración del sustrato donde la velocidad de reacción es la mitad de la velocidad máxima). La ecuación (8) es válida cuando la concentración de la enzima es menor a la del sustrato y cuando la concentración

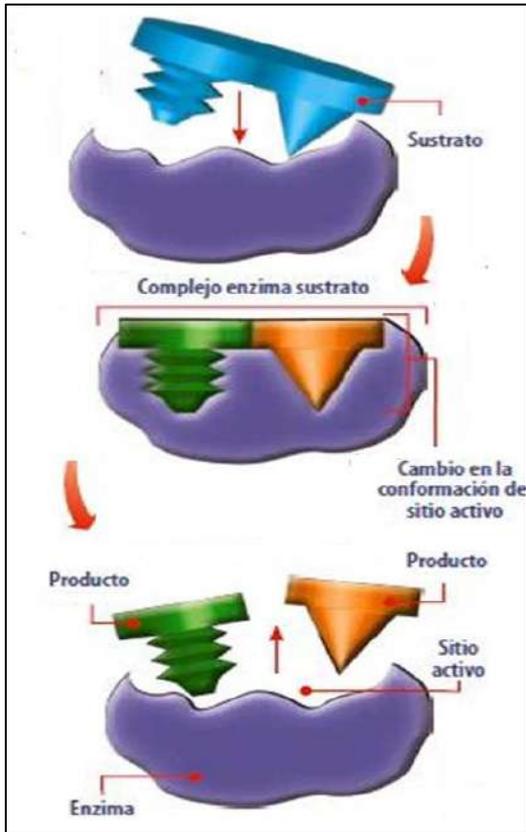
El complejo sustrato-enzima es constante (en estado estacionario) (Roberts, 2009). La figura 6 representa gráficamente el comportamiento de las reacciones enzimáticas.



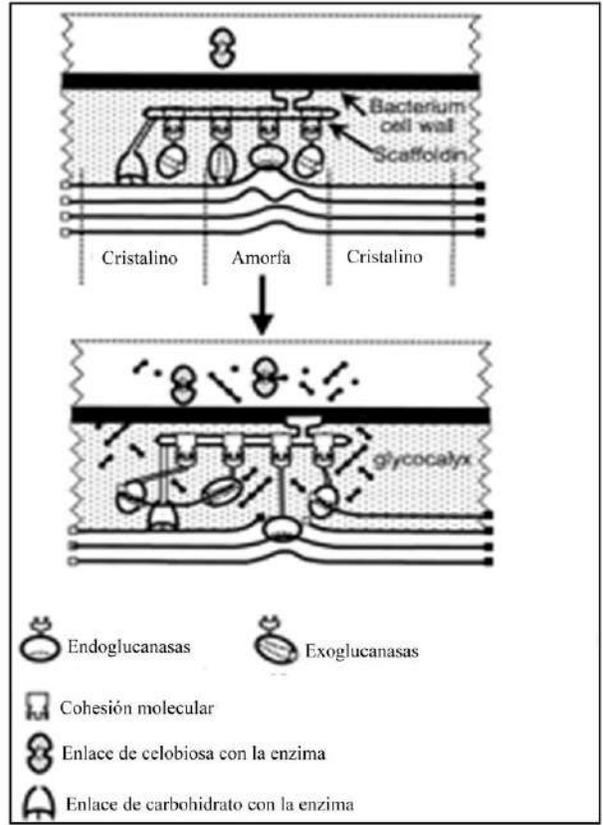
**Figura 6. Efecto de la concentración del sustrato en la velocidad de las reacciones enzimáticas.**

Existen dos modelos para la interacción de la enzima con el sustrato, el modelo de la llave y el candado y el modelo de la adaptación inducida, el cual es más útil, ya que las moléculas de enzima y del sustrato distorsionan uno o más de los enlaces del sustrato, tensionándolos y debilitándolos para que la molécula quede más susceptible al reordenamiento (Figura 7a) (Fogler, 2001; Roberts, 2009).

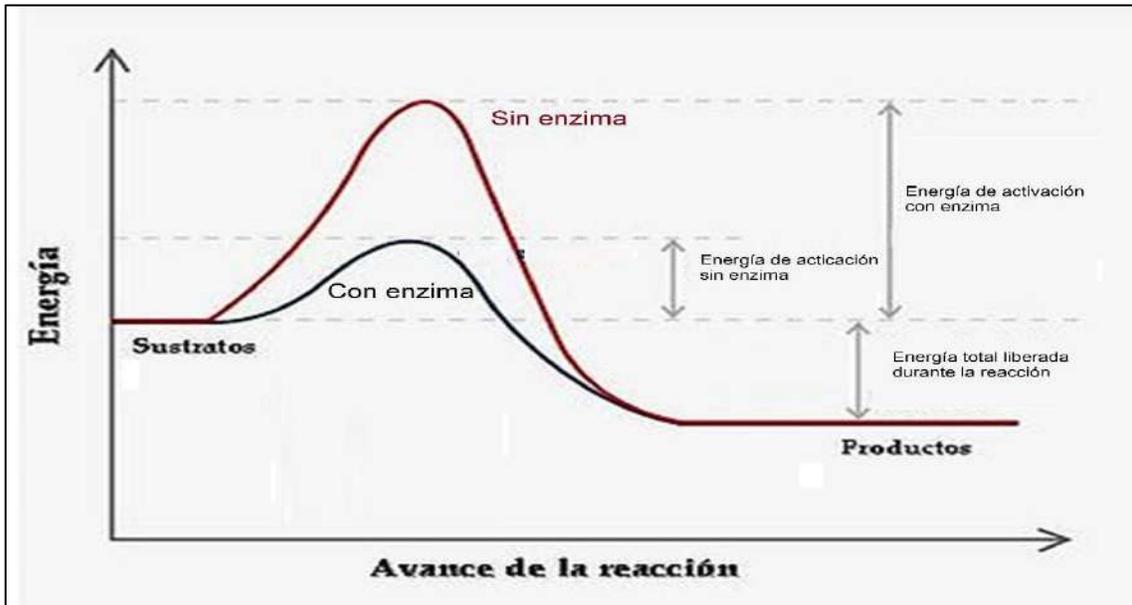
En el caso de la celulosa, las endoglucanasas rompen los enlaces internos de la red, enseguida, las exoglucanasas liberan celobiosa de los extremos no reductores de la cadena y, finalmente, las glucosidasas liberan las unidades de glucosa (Cuervo, *et al.* 2009) (figura 7b).



a)



b)



c)

Figura 7. Proceso de hidrólisis enzimática: a) modelo de la adaptación inducida, b) hidrólisis enzimática de celulosa y c) cinética de las reacciones enzimáticas.

Existen diversos factores que afectan la velocidad de las reacciones enzimáticas, como la temperatura, el pH, la afinidad de la enzima hacia el sustrato, reacciones de competencia; además se ha discutido sobre las limitaciones de la transferencia de masa y los efectos del mezclado en las reacciones enzimáticas (Chien-Tai, *et al.* 2014; Hodge, *et al.* 2008; Kinnarinen, *et al.* 2012; Palmqvist, *et al.* 2016). Incluso las concentraciones del sólido arriba de 20%, reduce la actividad de las enzimas hacia el sustrato (Tervasmäki, *et al.* 2017).

## 2.5 Otros productos de hidrólisis de residuos lignocelulósicos

Los azúcares reductores no son los únicos productos generados a partir de las reacciones de hidrólisis. Los productos de degradación también tienen importancia comercial. El HMF es empleado para la producción de dimetilfurano (DMF) el cual es empleado como biocombustible. También se produce ácido levulínico que se emplea para la producción de nylon, plásticos, gomas y fármacos (Rosatella, *et al.* 2010). En cuanto al furfural, se puede emplear para la producción de agentes antimicrobianos, funguicidas, herbicidas, resinas, fibras de spandex, nylon, se emplea en tratamientos de la madera, preservadores de libros y como aditivo en combustibles (Eseyin y Steele, 2015).

## 2.6 Antecedentes

La hidrólisis ácida ha sido una de las técnicas más empleadas para la obtención de azúcares a partir de la lignocelulosa, en la cual se han empleado diversos ácidos. Comúnmente se emplean ácidos sulfúrico, clorhídrico, fluorhídrico, nítrico, fosfórico y acético (Chen, *et al.* 2017; Domínguez–Domínguez, *et al.* 2012; Herrera, *et al.* 2003).

En el trabajo de Domínguez–Domínguez, *et al.* (2012) se realizó la hidrólisis de la caña de azúcar en la cual se alcanzó una concentración de 0.982 g/L con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 2% de concentración, en un tiempo de 90 min, a una temperatura 75°C. La baja concentración de azúcares obtenidas se debe a las bajas temperaturas del proceso.

Kassaye, *et al.* (2016) reportaron una conversión de 25% en azúcares reductores totales a partir de celulosa monocristalina empleando 5% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> por 60 min a 80°C. Esto se debió a que en la reacción no intervenía la lignina ni la estructura cristalina de la lignocelulosa.

Megawati, *et al.* (2015) reportaron conversiones en azúcares reductores totales de 26.34% en mazorca, 24.28% en ramas de melinjo (*Gnetum gnemon*), 40.75% en hojas de melinjo, 26.01 en aserrín de mahoni (*Swietenia macrophylla*), esto, en un tiempo de reacción de 35 minutos con una concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> de 0.18M a 220°C en una carga de 300g en 1L de solución ácida.

En el trabajo presentado por El-Zawawy, *et al.* (2011) reportaron que con 5% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> se obtuvieron concentraciones de azúcares reductores de 5.9 g/L para mazorca a 50 min, 5.2 g/L para residuo de plátano a 120 min y 5.3 g/L para paja de arroz a 180 min.

En semilla de jaca, Wahidin y Wuryantoro, (2015), reportaron una conversión de azúcares reductores de 25% en una reacción de 3 min, a un pH de 3.5 de HCl a 110°C.

Las reacciones ácidas de hidrólisis se han empleado como pretratamientos químicos para abrir la estructura de la lignocelulosa y celulosa cristalina. Además, reduce la concentración de lignina, lo que deja libre a las fibras de hemicelulosa para su aprovechamiento.

Se han realizado diversas aplicaciones de la sacarificación por hidrólisis enzimáticas a lo largo de los años. Se han empleado celulasas y hemicelulasas de diferentes fuentes como *Trichoderma reesei* y *Aspergillus niger*. Estas enzimas, se han empleado para el aprovechamiento de residuos lignocelulósicos, principalmente residuos agrícolas del cultivo de la caña de azúcar, agave, maíz, trigo, entre otros.

En el trabajo de Guilherme, *et al.* (2017), se obtuvo 55.9 g/L a partir de la caña de azúcar con 34 FPU/g, a 50°C en 72 h de reacción mediante un complejo enzimático comerciales de Novozymes NS22036. Donde la caña de azúcar recibió dos pretratamientos, uno ácido (2% v/v de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y otro alcalino (4% p/p de NaOH).

En el trabajo de Wahidin y Wuryantoro, (2015) se reportó, en harina de semilla de jaca a glucosa, una conversión de 19.43% de glucosa empleando 0.5 mL de alfa-amilasa.

En el trabajo de investigación de Mithra y Padmaja, (2017) se reportó que a partir del ñame pie de elefante (*Amorphophallus paeoniifolius*) se obtuvo concentraciones de 33.42, 35.77, 37.91, 45.17 y 45.67 g/L de azúcares reductores en tiempos de 24, 48, 72, 96 y 120 h, con una

concentración inicial de 29 g/L. A partir del ñame mayor (*Dioscorea spp.*) se reportó concentraciones de 45.9, 47.03, 51.02, 58.63 y 59.01 g/L de azúcares reductores en tiempos de 24, 48, 72, 96 y 120 h, con una concentración inicial de 39.48 g/L. En ambos casos se empleó el complejo enzimático celulolítico Econzyme RT80 de M/s Ecostar a 50°C.

En el trabajo de Idrees, *et al.* (2014) se reportó que a partir del camalote (*Eichhornia crassipes*) pretratado con un pretratamiento de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 3% v/v a 121°C y 1 h de reacción, y una hidrólisis enzimática por 48 h a 50°C con celulasa comercial de Genocore International se obtuvo una concentración de 36.65 g/L de azúcares reductores.

## 2.7 Jaca: una fuente de residuos lignocelulósicos

El fruto de jaca (*Artocarpus heterophyllus*), mostrado en la figura 8, proviene de un árbol de una altura de 10 a 15 metros, los cuales pueden generar alrededor de 500 frutos que pueden medir hasta 90 centímetros y llegar a pesar hasta 50 kg. Al fruto de jaca se le atribuyen propiedades nutritivas y curativas (Elevitch y Manner, 2006; Love y Paull, 2011).



a)



b)

**Figura 8. Jaca: a) Fruto de jaca cultivado y b) Fruto de jaca seccionado.**

En el año 2016 se produjeron 18,611 ton de fruto de jaca en el estado de Nayarit, entidad federativa que es el principal productor de este fruto lo que representa el 88% de la producción anual nacional (SIAP, 2018). Del fruto que no aprueba los estándares de calidad, solo una

pequeña parte es procesada comercializando solo la pulpa en fresco a nivel de carretera. Tanto los residuos del procesamiento como los frutos rechazados son vertidos a tiraderos a cielo abierto ocasionando contaminación al ambiente atrayendo fauna nociva (Agencia Informativa CONACYT, 2016; SIAP, 2014).



**Figura 9. Residuo de jaca**

Wahidin y Wuryantoro (2015) reportaron que el residuo (Figura 9) de la jaca comprende aproximadamente el 40% del total del fruto. Además, Raj y Ranganathan (2018) reportaron que la jaca contiene 21.29% de celulosa en base seca.

Debido al volumen de producción de jaca, el porcentaje de residuo del fruto, la cantidad (variable) del fruto rechazado, es el principal motivo de este proyecto, donde se propone el aprovechamiento del residuo lignocelulósico de la jaca por medio el proceso de sacarificación mediante las técnicas de hidrólisis ácida e hidrólisis enzimática para la obtención de azúcares estructurales, los cuales pueden ser empleados para numerosos procesos biotecnológicos.

### 3 Hipótesis

La cantidad de residuos lignocelulósicos generados por la producción y aprovechamiento del fruto de la jaca son una potencial fuente de azúcares fermentables, que pueden ser aprovechados mediante los métodos de hidrólisis ácida e hidrólisis enzimática, aumentando la concentración de azúcares fermentables con la hidrólisis enzimática por la interacción específica de las enzimas.

### 4 Objetivo

#### 4.1 Objetivo general

Evaluar la producción de azúcares fermentables a partir de la sacarificación de la celulosa y hemicelulosa en el residuo de la jaca mediante hidrólisis ácida y enzimática.

#### 4.2 Objetivos específicos

- Caracterizar químicamente el sustrato de residuo de jaca mediante una hidrólisis ácida cuantitativa.
- Evaluar el efecto de la temperatura, tiempo de reacción, y concentración de ácido en la hidrólisis ácida del residuo de jaca.
- Evaluar el efecto de la temperatura, tiempo de reacción y relación sólido-líquido ( $R_{s/l}$ ) en la hidrólisis enzimática del residuo de jaca.
- Determinar las condiciones óptimas que promuevan una mayor concentración de azúcares fermentable en la hidrólisis ácida y enzimática del residuo de jaca.
- Desarrollar modelos empíricos que permitan la predicción de la concentración de azúcares fermentables en la reacción de hidrólisis.

## 5 Materiales y métodos

### 5.1 Material biológico

Los frutos de jaca se obtuvieron de la planta empacadora perteneciente al señor David Montoya situada en el poblado de Aticama en San Blas, Nayarit. Se emplearon los frutos en estado de madurez fisiológica, los cuales fueron lavados y cortados retirando la pulpa y semillas. Se utilizó la cáscara, listones y el resto (residuos). Los residuos de la jaca fueron deshidratados en un horno (Novatech) a una temperatura de 50°C por 96 horas. El residuo seco se trituró en un molino de mano hasta llevarlo a un tamaño de partícula menor de 1.4 mm; a este material se le nombró sustrato.

### 5.2 Determinación de humedad

El proceso se basó en la pérdida de peso del material debido a la evaporación del agua disponible (Sluiter, *et al.* 2008). Se pesaron 0.5 g de sustrato (por triplicado) en una charola de aluminio a peso constante conocido. Enseguida se colocaron en una mufla (Felisia FE-340) a 105°C hasta registrar un peso constante. Una vez transcurrido este tiempo la humedad ( $H$ ) de las muestras fue determinada por la ecuación (9):

$$H(\%) = \frac{Peso_{charola+muestra} - Peso_{charola+muestra\ seca}}{Peso_{charola+muestra}} * 100 \quad (9)$$

### 5.3 Determinación de cenizas

Se pesaron 0.5 g de muestra (por triplicado) y se colocaron en un crisol de porcelana previamente mantenido a peso constante conocido, se colocaron los crisoles con la muestra en una mufla (Felisia FE-340) a una temperatura de 575°C a presión atmosférica durante 12 horas. Finalmente, el porcentaje de cenizas se determinó por diferencia de peso, entre el crisol con

muestra al inicio y el crisol con la muestra calcinada (Sluiter, *et al.* 2008). Se determinó mediante la ecuación (10):

$$Cenizas = \frac{P_{crisol+muestra} - P_{ceniza+charola}}{P_{crisol+muestra}} * 100 \quad (10)$$

## 5.4 Determinación de holocelulosa

Se determinó holocelulosa con la metodología de Browning 1967 (por triplicado). Se pesaron 2 g de muestra en un matraz erlenmeyer. Se agregó 63 mL de agua destilada, 0.2 mL de ácido acético y 0.6 g de clorito sódico. Se llevó cabo la reacción a 75°C en agitación constante en un agitador transversal (Memmert). Se agregó 0.2 mL de ácido acético y 0.6 g de clorito sódico cada hora durante tres horas. Después de transcurrir este tiempo, se detuvo la reacción enfriando a 10°C en un baño maría con hielo. El contenido se filtró y se lavó con agua destilada hasta perder la coloración amarilla. El material resultante se secó y se determinó su concentración con la ecuación (11):

$$Holocelulosa(\%) = \frac{(Peso_{filtro+muestra} - Peso_{filtro seco})(100 - Humedad(\%))_{holocelulosa}}{Peso_{muestra}} \quad (11)$$

## 5.5 Determinación de celulosa y hemicelulosa

Se determinó celulosa y hemicelulosa por triplicado mediante la metodología planteada en la norma ANSI/ASTM (1997). Se pesó 1 g de holocelulosa en un matraz erlenmeyer, se agregó 5 mL de NaOH al 17.5% (p/p) previamente preparado (ver anexo A.1). Se agregó 2.5 mL de NaOH al 17.5% cada gradualmente hasta completar un volumen de 12.5 mL. Se colocó en un baño maría con agitación constante a 30°C. Se agregó 16.5 mL de agua destilada. Se llevó a cabo la reacción durante una hora en agitación constante. Transcurrido este periodo, el contenido se filtró al vacío con 50 mL de NaOH al 8.3% (p/p) y posteriormente con agua destilada. Se desactivó el vacío y se agregó 7.5 mL de ácido acético al 10%, se dejó 5 minutos en contacto. Se llevó a la neutralidad con agua destilada y se filtra al vacío una vez más. La materia que

permanece en el papel filtro es la celulosa ( $\alpha$ -celulosa) y el material degradado en la reacción es la hemicelulosa ( $\beta$ -celulosa). La concentración de celulosa se determinó con la ecuación (12) y la concentración de la hemicelulosa con la ecuación (13):

$$\begin{aligned}
 & \text{Celulosa}(\%) \\
 &= \left( \frac{(\text{Peso}_{\text{filtro+muestra}} - \text{Peso}_{\text{filtro seco}})(\text{Humedad}(\%)_{\text{holocelulosa}})(100 - \text{humedad}(\%)_{\text{celulosa}}) * 100}{\text{Peso}_{\text{muestra}}(\text{Materia organica}(\%)_{\text{holocelulosa}})(100 - \text{Humedad}(\%)_{\text{holocelulosa}})} \right) \quad (12)
 \end{aligned}$$

$$\text{Hemicelulosa}(\%) = \text{Holocelulosa}(\%) - \text{Celulosa}(\%) \quad (13)$$

## 5.6 Determinación de lignina soluble e insoluble

La determinación de lignina soluble e insoluble se realizó por triplicado con la metodología planteada por Sluiter *et al.* (2012). Se pesaron 0.3 g de muestra seca en un tubo de ensayo. Se realizó la hidrólisis agregando 3 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 72% (p/p) de concentración durante una hora a 30°C en agitación constante en un baño con agitación (Memmert). Enseguida, se le agregó 84 mL de agua destilada para reducir la concentración del ácido a 4% y se llevó a 121°C durante una hora en una autoclave (Biobase BKQ-B7511). Al finalizar este proceso, se filtró y recuperó el líquido filtrado para la determinación de lignina soluble la cual se llevó a cabo en un espectrofotómetro (Jenway 7305) donde se realizó la lectura de absorbancia a 320 nm, con este valor se calculó la concentración de lignina con la ecuación (14).

$$\text{Lignina soluble}(\%) = \frac{V(\text{mL})_{\text{muestra}} \text{UV}(\text{cm}) \text{dilución}}{\text{ABS} \text{Peso seco}(\text{g})_{\text{muestra}} \text{path leingth}(\text{cm})} 100 \quad (14)$$

Para la lignina insoluble (permanece como sólido en el papel filtro) se realizó lavados con 750 mL de agua destilada. El papel se secó durante 24 h. Se registró el peso. La diferencia del peso total y el papel filtro es la lignina insoluble, se determinó la concentración de lignina insoluble con la ecuación (15).

$$Lignina\ insoluble(\%) = \frac{Peso\ de\ lignina(g)}{Peso(g)_{muestra\ seca}} 100 \quad (15)$$

## 5.7 Determinación de sólidos solubles

Se determinó por triplicado la concentración de los sólidos solubles mediante la metodología planteada en la norma ISO-2173-2003. Se pesó 40 g de muestra, se agregó 150 mL de agua destilada. Se llevó a punto de ebullición durante 20 minutos para después ser filtrados y, en seguida fue determinado la concentración de sólidos solubles, en grados Brix (°Bx), mediante la lectura del líquido filtrado en un refractómetro ATAGO, donde la concentración en grados Brix es el porcentaje de sólidos solubles en la muestra.

## 5.8 Determinación de extracto etéreo

Se determinó extracto etéreo por triplicado mediante el método de Soxhlet planteada en Sluiter A. *et al.* 2008. Se pesaron 2 g de muestra seca los cuales fueron colocados en dedales de celulosa marca Whatman<sup>tm</sup>, Cat No. 2800-258 (a peso constante). Los dedales fueron introducidos dentro de un extractor Soxhlet y un matraz (a peso constante) para recuperar el extracto etéreo de la muestra, empleando 200 mL de éter de petróleo como solvente. El proceso de extracción se mantuvo por un tiempo de 4 horas. Al finalizar el tiempo se realizó la extracción del éter mediante el rotovapor. Los matraces se secaron y se determinó el extracto etéreo por diferencia de peso y su concentración con la ecuación 16.

$$Extracto\ etéreo(\%) = \frac{Peso_{matraz+extracto} - Peso_{matraz}}{Peso_{muestra}} \quad (16)$$

## 5.9 Tratamiento de sustrato para las reacciones de hidrólisis

Para realizar las reacciones de hidrólisis, primero fue necesario retirar al sustrato los sólidos solubles con un procedimiento modificado de la norma mexicana NMX-F-112-1970. Se colocaron 5 g de sustrato en un frasco Kimax Kimble®. Se añadieron 200 mL de agua en los frascos y se sometió a una temperatura de ebullición durante 30 min. Enseguida, el contenido

del frasco se filtró al vacío con 200 mL más de agua. El material filtrado se secó en una estufa Novatech durante 32 h a 50 °C.

## 5.10 Hidrólisis ácida

Para la hidrólisis ácida, del sustrato pretratado, se realizó un diseño factorial de tres factores multinivel: temperatura T (°C), tiempo de reacción t (min) y concentración de ácido sulfúrico C (% p/p). Esta reacción de hidrólisis se realizó por triplicado. En las tablas 3, 4, 5 y 6, se muestra el diseño experimental para la hidrólisis ácida del sustrato de jaca. El número expresa el nombre otorgado a cada experimento.

**Tabla 3. Diseño experimental de la hidrólisis ácida en el sustrato de jaca 90°C.**

<b>T(°C)</b>		<b>90</b>				
<b>C(%)</b>		<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>	<b>10</b>
<b>t(min)</b>						
<b>30</b>		1	2	3	4	5
<b>60</b>		6	7	8	9	10
<b>120</b>		11	12	13	14	15
<b>180</b>		16	17	18	19	20

**Tabla 4. Diseño experimental de la hidrólisis ácida en el sustrato de jaca 105°C.**

<b>T(°C)</b>	<b>105</b>				
<b>C(%)</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>	<b>10</b>
<b>t(min)</b>					
<b>30</b>	21	21	23	24	25
<b>60</b>	26	27	28	29	30
<b>120</b>	31	32	33	34	35
<b>180</b>	36	37	38	39	40

**Tabla 5. Diseño experimental de la hidrólisis ácida en el sustrato de jaca120°C.**

<b>T(°C)</b>	<b>120</b>				
<b>C(%)</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>	<b>10</b>
<b>t(min)</b>					
<b>30</b>	41	42	43	44	45
<b>60</b>	46	47	48	49	50
<b>120</b>	51	52	53	54	55
<b>180</b>	66	57	58	59	60

**Tabla 6. Diseño experimental de la hidrólisis ácida en el sustrato de jaca 135°C.**

<b>T(°C)</b>	<b>135</b>				
<b>C(%)</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>	<b>10</b>
<b>t(min)</b>					
<b>30</b>	61	62	63	64	65
<b>60</b>	66	67	68	69	70
<b>120</b>	71	72	73	74	75
<b>180</b>	76	77	78	79	80

La reacción de hidrólisis ácida se realizó en frascos Kimax Kimble®. Se colocó 5 g de sustrato de jaca. Se añadió 50 mL de solución de ácido sulfúrico a las concentraciones de 2%, 4%, 6%, 8% y 10% (ver anexo A.2), correspondientes a cada experimento. La temperatura de la reacción para cada uno de los experimentos se alcanzó en una autoclave (Biobase BKQ-B7511). Al alcanzar la temperatura, se tomó el tiempo de reacción establecido para cada uno de los experimentos (30, 60, 120 y 180 min). Al terminar el tiempo determinado, la autoclave reducía su temperatura a 89°C para retirar los frascos del equipo.

El contenido del frasco se filtró y el líquido recuperado se identificó y se almacenó en refrigeración para su posterior análisis.

## 5.11 Hidrólisis enzimática

Para la hidrólisis enzimática se realizó un diseño factorial de tres factores multinivel: temperatura, T (°C), tiempo de reacción, t (h) y relación sólido-líquido en la reacción,  $R_{s/l}$  (%). En las tablas 7, 8 y 9 se presenta el diseño experimental empleado para el desarrollo de la hidrólisis enzimática a cada una de las temperaturas indicadas. La etiqueta mostrada en la tabla es la identificación de cada experimento.

**Tabla 7. Diseño experimental de la hidrólisis enzimática a 30°C**

<b>T(°C)</b>		<b>30</b>		
<b>Rs/l(%)</b>		<b>7.5</b>	<b>10</b>	<b>12.5</b>
<b>t(h)</b>				
<b>0</b>		1	6	11
<b>2</b>		2	7	12
<b>4</b>		3	8	13
<b>8</b>		4	9	14
<b>12</b>		5	10	15

**Tabla 8. Diseño experimental de la hidrólisis enzimática a 40°C**

<b>T(°C)</b>		<b>40</b>		
<b>Rs/l(%)</b>		<b>7.5</b>	<b>10</b>	<b>12.5</b>
<b>t(h)</b>				
<b>0</b>		16	21	26
<b>2</b>		17	22	27
<b>4</b>		18	23	28
<b>8</b>		19	24	29
<b>12</b>		20	25	30

**Tabla 9. Diseño experimental de la hidrólisis enzimática 50°C.**

<b>T(°C)</b>		<b>50</b>		
<b>Rs/l(%)</b>		<b>7.5</b>	<b>10</b>	<b>12.5</b>
<b>t(h)</b>				
<b>0</b>		31	36	41
<b>2</b>		32	37	42
<b>4</b>		33	38	43
<b>8</b>		34	39	44
<b>12</b>		35	40	45

Las pruebas experimentales para la reacción de hidrólisis enzimática se realizaron en matraces Erlenmeyer con capacidad de 500 mL. Partiendo de los valores establecidos para una  $R_{s/l}$  de 7.5%, 10% y 12.5% y una masa de líquido de 75 g, se realizó la carga del sólido (sustrato tratado) para iniciar la preparación de la mezcla de la reacción. Con respecto a los catalizadores utilizados en la reacción, las enzimas comerciales, celulasa y hemicelulasa de *Aspergillus niger* (Sigma-Aldrich®) fueron involucradas. Las cantidades de celulasa y hemicelulasa añadidas, fueron establecidas en un 6% de la masa total de celulosa y hemicelulosas en la mezcla de reacción, respectivamente. Se agregó un volumen de 75 mL (aproximadamente 75 g) de citrato dibásico de sodio a un pH de 4.8 (ver anexo A.3). La reacción se llevó a cabo en un baño con agitación transversal a 150 rpm. Se tomaron muestras de 2 mL a las 0, 2, 4, 8 y 12 horas de proceso. Para detener la hidrólisis enzimática, las muestras fueron calentadas en agua hasta llegar a punto de ebullición. Las muestras permanecieron en esta condición durante 5 min para posteriormente ser centrifugadas durante 10 min a 13000 rpm. El líquido recuperado se congeló para su análisis futuro.

## 5.12 Cuantificación de azúcares

La determinación de azúcares reductores se realizó mediante la técnica de DNS planteada en Bello-Gil *et al.* (2006) (ver anexo A.4), donde se tomó 0.5 mL de muestra líquida del hidrolizado en un tubo de ensayo, agregando 0.5 mL de reactivo DNS (ver anexo A.5). Se llevó a reacción por 5 min a punto de ebullición. Se agregó 5 mL de agua destilada. La lectura de absorbancia (ABS) fue realizada con un espectrofotómetro (Metash) en una longitud de onda de 540 nm. Las concentraciones, en g/L, fueron calculadas con la ecuación (17) obtenida a partir de una curva de calibración previamente realizada con soluciones de glucosa (ver anexo A.6):

$$AR (g/l) = 1.83331 * ABS + 0.1048 \quad (17)$$

### 5.13 Rendimiento de reacción

El rendimiento de la reacción de hidrólisis ácida y enzimática del sustrato de jaca se realizó mediante la siguiente relación:

$$\begin{aligned} \text{Rendimiento (\%)} & \qquad \qquad \qquad (18) \\ & = \frac{\text{masa de azúcares producidos (g)}}{\text{masa de azúcares producidos a conversión total (g)}} * 100 \end{aligned}$$

Donde, el rendimiento nos indica la eficiencia de la reacción de hidrólisis, la masa de azúcares producidos es la cantidad de azúcares cuantificados disueltos en el volumen de la reacción de hidrólisis y la masa de azúcares producidos a conversión total es equivalente a la cantidad máxima de azúcares producidos para una conversión del 100% en la reacción de hidrólisis (ver anexo A.7).

### 5.14 Análisis estadístico

Los resultados experimentales de las reacciones de hidrólisis ácida y enzimática, fueron evaluados estadísticamente mediante - un análisis de varianza, además de una comparación de medias de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Tukey (significancia de  $\alpha=0.05$ ), utilizando el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 2.0 ®.

Por otro lado, un modelado matemático fue obtenido para la predicción de la concentración de azúcares producidos durante la reacción de hidrólisis enzimática, con base en el ajuste de un modelo matemático propuesto a los datos experimentales.

## 6 Resultados y discusiones

### 6.1 Caracterización del sustrato

La caracterización de los residuos lignocelulósicos del fruto de jaca mostraron una composición de celulosa de 25.36%, hemicelulosa 13.26% y lignina 9.26% (Tabla 10). Con respecto a los valores de celulosa obtenidos, este fue superior al reportado para la corteza de la palma de aceite la cual contiene un 18.85% y al de la cáscara de almendra con un porcentaje de 21.7% (Abdul Khalil, *et al.* 2012). Mientras que el valor de hemicelulosa obtenido resulto mayor a los reportados para ixtle de 4-8% y cáñamo 10%. Y aproximado al valor reportado para el yute con un 14% de hemicelulosa (El-Ahmady El-Naggar, *et al.* 2014). Por otra parte, el valor obtenido en la concentración de lignina resulto menor al reportado para el tallo de sorgo de 11%, paja de arroz entre un 12 a 14% y los tallos del maíz con un 35% de lignina (Abdul Khalil, *et al.* 2012; Ruiz-Colorado, *et al.* 2014; Suhas, *et al.* 2016). Los resultados obtenidos muestran un potencial uso de los residuos lignocelulósicos de la jaca para ser aprovechado como fuente productora de azúcares.

**Tabla 10. Análisis de composición del sustrato de jaca (secado a 50°C durante 96 horas).**

<b>Componente</b>	<b>%</b>
Humedad	5.806
Sólidos totales	94.1939
<i>Cenizas</i>	6.4239
<i>Holocelulosa</i>	38.6096
<u><i>Celulosa</i></u>	25.3633
<u><i>Hemicelulosa</i></u>	13.2462
<i>Lignina</i>	9.2943
<u><i>Lignina soluble</i></u>	0.6777
<u><i>Lignina insoluble</i></u>	8.6166
<i>Solidos solubles</i>	15.4666
<i>Extracto etéreo</i>	6.7878
<i>Sin determinar</i>	17.6117

\*Pruebas realizadas por triplicado

## 6.2 Hidrólisis ácida

Los resultados de la cinética de la reacción de hidrólisis ácida del sustrato de jaca utilizando una temperatura de 90°C mostraron una concentración máxima de azúcares reductores de 9.81 g/L alcanzada a un tiempo de 120 min con una concentración de ácido de 6% (Figura 10).

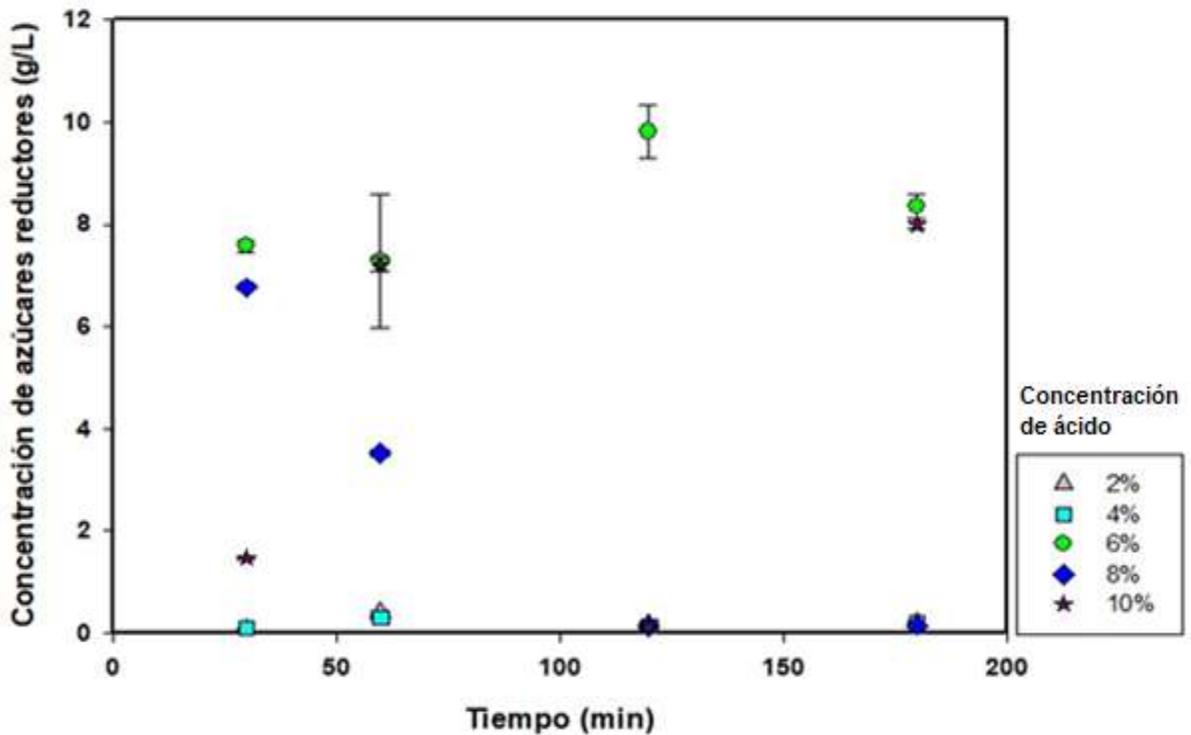


Figura 10. Producción de azúcares reductores en la hidrólisis ácida del residuo de jaca a temperatura de 90°C.

Los resultados en la producción de azúcares reductores utilizando la hidrólisis ácida del residuo de jaca a una temperatura de 105°C, con una concentración de ácido de 10%, mostraron que se alcanza una concentración de azúcares reductores de 9.98 g/L en un tiempo de 60 min hasta llegar a una máxima de 10.01 g/L a los 108 min de reacción (Figura 11).

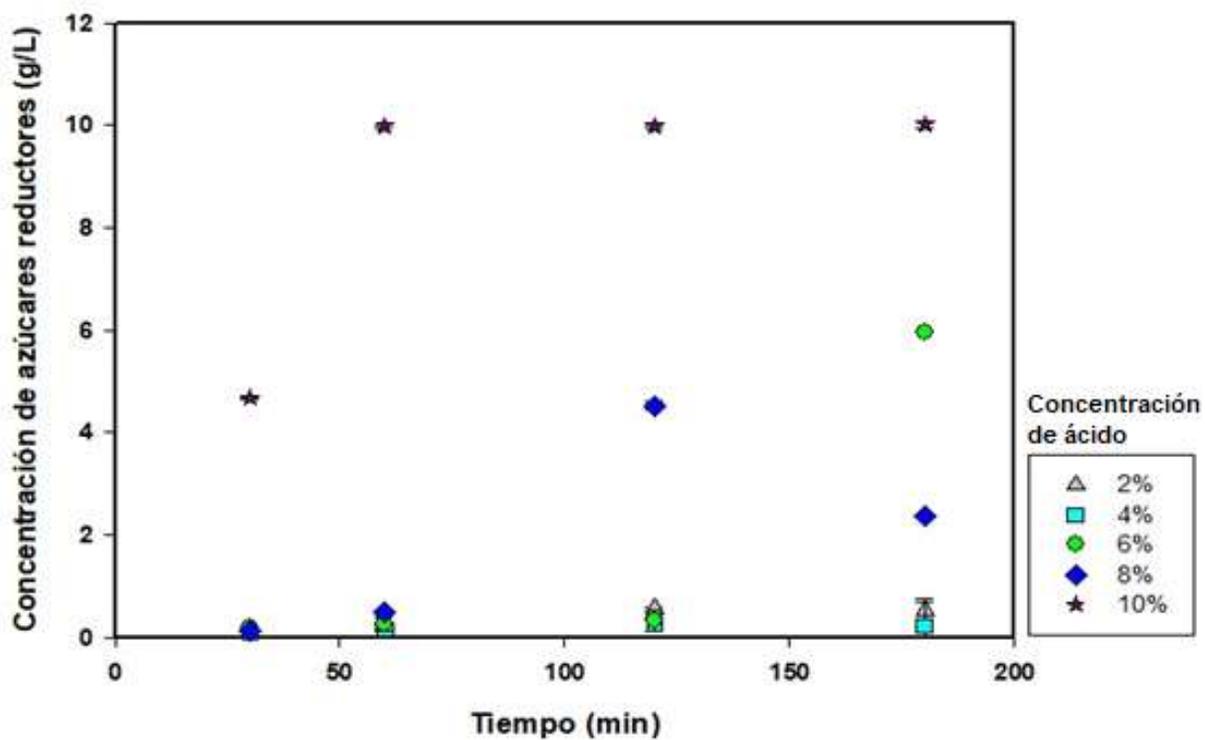


Figura 11. Producción de azúcares reductores en la hidrólisis ácida del residuo de jaca a temperatura de 105°C.

Los resultados de la cinética de la producción de azúcares reductores a partir de la hidrólisis ácida del residuo de jaca a 120°C, expusieron la máxima obtención de azúcares reductores con un valor de 9.49 g/L a 180 min con una concentración de ácido de 10% (Figura 12).

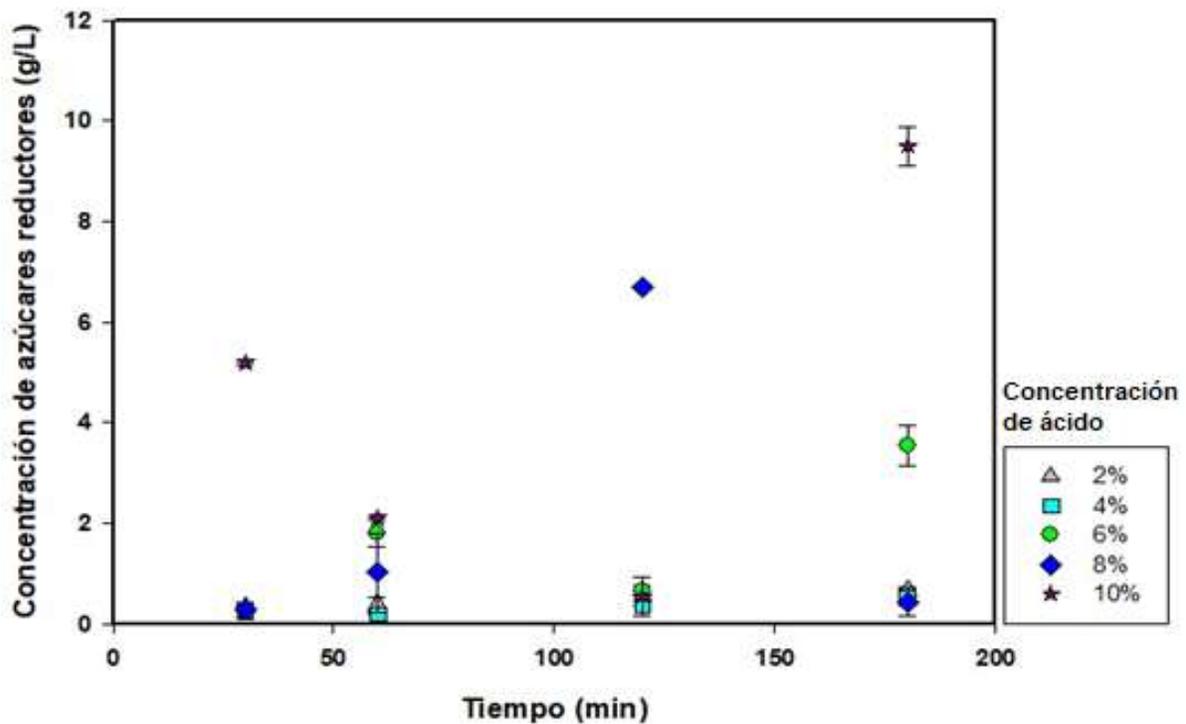


Figura 12. Producción de azúcares reductores en la hidrólisis ácida del residuo de jaca a temperatura de 120°C.

Los resultados de la producción de azúcares reductores a partir de la hidrólisis ácida del residuo de jaca a una temperatura de 135°C, revelaron que las concentraciones máximas de azúcares se obtienen al utilizar concentraciones de 6% y 10% de ácido, obteniendo valores de 9.27 g/L y 9.3 g/L en los tiempos de 120 min y 180 min, respectivamente. Resaltando el resultado que a una concentración de 6% de ácido se obtiene una concentración de azúcares de 9.2 g/L a 30 min de reacción como se observa en la gráfica de la figura 13.

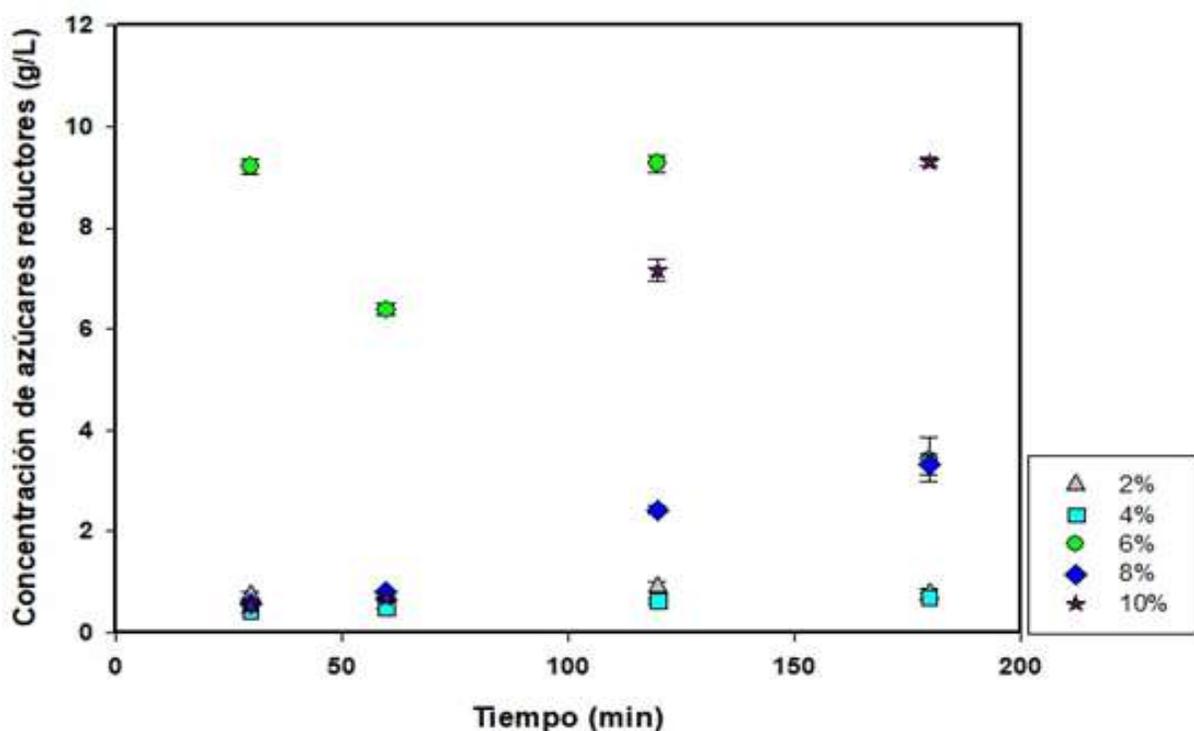


Figura 13. Producción de azúcares reductores en la hidrólisis ácida del residuo de jaca a temperatura de 90°C.

Por otro lado, se puede observar que a concentraciones de ácido de 2%, 4% y 8%, las concentraciones de azúcares liberados son menores que las concentraciones obtenidas con ácido al 6% y 10%. Esto puede atribuirse a que en las reacciones catalizadas con ácido al 2% y 4%, los iones de hidrógeno presentes no logran penetrar en la estructura de la lignocelulosa, por lo que no se consigue la liberación de los monosacáridos estructurales. Respecto a la reacción catalizada con ácido al 8%, la baja producción de azúcares puede deberse a una serie de reacciones de degradación donde los azúcares tienen un papel de reactante, generando 5-HMF y furfural, los cuales, siguen en otras reacciones de degradación en presencia de altas concentraciones de ácido.

Los resultados estadísticos de las pruebas de ANOVA, con significancia de  $\alpha=0.05$ , de la hidrólisis ácida del sustrato de jaca, mostraron que afecta significativamente la interacción de los factores de concentración, temperatura, tiempo y la interacción entre cada uno de ellos, principalmente la interacción de la temperatura y concentración como se muestra en la Tabla 11.

**Tabla 11. ANOVA de los datos experimentales de la hidrólisis ácida del sustrato de jaca.**

<b>Origen</b>	<b>SC Tipo III</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Significancia</b>
<b>Modelo corregido</b>	2474.542 <sup>a</sup>	79	31.323	751.001	0.000
<b>Intersección</b>	1455.783	1	1455.783	34903.531	0.000
<b>Tiempo</b>	68.064	3	22.688	543.966	0.000
<b>Temperatura</b>	51.761	3	17.254	413.672	0.000
<b>Concentración</b>	969.717	4	242.929	5812.426	0.000
<b>Tiempo-Temperatura</b>	86.674	9	9.63	230.898	0.000
<b>Tiempo-Concentración</b>	206.926	12	17.244	413.435	0.000
<b>Temperatura-Concentración</b>	510.092	12	42.508	1019.155	0.000
<b>Tiempo-Temperatura-Concentración</b>	457.983	36	12.722	305.014	0.000
<b>Error</b>	5.923	142	0.042		0.000
<b>Total</b>	4013.977	222			
<b>Total corregida</b>	2480.464	221			

<sup>a</sup> R<sup>2</sup>=0.998 (R<sup>2</sup> corregida=0.996)

Significancia de  $\alpha=0.05$

En lo que respecta al análisis de comparación de medias utilizando una significancia de 0.05, los resultados sugieren que las mayores respuestas obtenidas se encuentran a concentraciones de ácido sulfúrico de 6% y 10%. Así también la concentración de azúcares resulta con valores mayores en todo el intervalo de tiempos de reacción (30, 60, 120 y 180 min) y condiciones de temperatura (90, 105, 120 y 135°C). El experimento 40 presenta la mayor concentración de azúcares reductores producida siendo este de 10.012 g/L a las condiciones de temperatura, tiempo y concentración de ácido: 105°C, 180 min y 10%, respectivamente. Sin embargo, a partir de este análisis estadístico, se sugiere que el experimento 13, realizado bajo condiciones de temperatura, tiempo y concentración de ácido de 90°C, 120 min y 6%, respectivamente, y cuya

respuesta de 9.81 g/L de azúcares reductores liberados, puede ser seleccionado como el óptimo debido a que es el que requiere menor cantidad de energía y catalizador; y aunado a estos resultados es estadísticamente semejante al experimento 40, datos mostrados en la tabla 12.

**Tabla 12. Comparación de medias para los datos de la hidrólisis ácida (tres grupos con respuestas más elevadas).**

Respuesta (g/L)	T (°C)	Tiempo (min)	Concentración (%)	Experimento
10.012	105	180	10	40 <sup>a</sup>
9.9839	105	120	10	35 <sup>a</sup>
9.8127	105	60	10	30 <sup>a</sup>
9.8104	90	120	6	13 <sup>ab</sup>
9.4988	120	180	10	60 <sup>ab</sup>
9.3020	135	180	10	80 <sup>ab</sup>
9.2715	135	120	6	73 <sup>ab</sup>
9.2079	120	30	6	63 <sup>ab</sup>
8.3476	90	180	6	18 <sup>b</sup>

Los experimentos con la misma literal indican que no hay diferencia significativa entre los valores de la media. Significancia de  $\alpha=0.05$

La respuesta a condiciones óptimas (9.81 g/L) y la más alta (10.012 g/L) obtenidas para la hidrólisis ácida del residuo de jaca, son superiores a la reportada por Aguilar (2002), quien obtuvo un valor máximo de 8.88 g/L a una temperatura de 128°C con una concentración de 6% de ácido sulfúrico en 180 min de reacción. Esto se debe a que en ambos casos se empleó una temperatura menor, lo que reduce la velocidad de reacción para la producción de azúcares y la degradación de estos. Además, a pesar de que la concentración de material holocelulósico en la caña de azúcar empleada (65% aproximadamente) era mayor que la presentada en este trabajo para la jaca (38.60%), la concentración de lignina en la caña de azúcar era 2.6 veces mayor a la presentada para el sustrato de jaca en este estudio (9.26% de lignina).

Por otra parte, se han reportado concentraciones de 20 g /L de xilosa bajo condiciones de 122°C, 6% de ácido nítrico y 30 min (Rodríguez-Chong, *et al.* 2004) y 17.6 g de xilosa/L en condiciones de 122°C, 4% de ácido fosfórico en 300 min de reacción (Gámez, *et al.* 2006), ambos en caña

de azúcar. Este resultado se debe a que el ácido sulfúrico se disocia mejor que el ácido nítrico y el fosfórico, por lo que requiere menor tiempo de retención. Sin embargo, cuando existe una concentración considerable de azúcares, se produce una reacción de degradación de estos, lo que reducirá la concentración de azúcares en el medio.

En cuanto al rendimiento de la reacción de hidrólisis ácida del sustrato de jaca en la producción de azúcares reductores, se determinó un valor para el punto óptimo (9.8104 g/L) de 22.69% (ver Anexo A.8).

Laopaiboon, *et al.* (2010) reportaron una eficiencia en la hidrólisis ácida del bagazo de caña de azúcar de 16.01%, valor obtenido la hidrólisis ácida con HCl a las condiciones de tiempo, temperatura y concentración de catalizador: 5 h, 100°C y 0.5%. Además, también reportaron un valor de eficiencia de 15.33% para la hidrólisis ácida con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a las condiciones de tiempo, temperatura y concentración de catalizador siguientes: 4 h, 110°C y 0.5%. Un estudio realizado por Morales-de la Rosa, *et al.* (2014), dio como resultado un rendimiento de 20% a las condiciones de tiempo, temperatura y concentración de catalizador (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>): 2 h, 140°C y 0.2-0.5 mol/L, respectivamente. Sin embargo, existen trabajos que reportan altos rendimientos para la hidrólisis ácida. Uno de estos trabajos es el de Lavarack, *et al.* (2002) quien reporta valores mayores al 80% de rendimiento en el aprovechamiento de xilosa a partir del bagazo de caña de azúcar. Además, los rendimientos promedios para hidrólisis ácidas con concentración de catalizador (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) de 0.5% a 1.5% y a temperaturas entre 121 hasta 160°C, van desde 70% al 95%, pero esto implica que las reacciones se llevaran a cabo en prolongados tiempos de retención de la reacción (da Silva y Kumar, 2012).

### 6.3 Hidrólisis enzimática

Los resultados de la producción de azúcares reductores durante la reacción de hidrólisis enzimática del sustrato de jaca, se presentan en la figura 14, 15 y 16. Para las R<sub>s/l</sub> estudiadas, un comportamiento cinético similar, pero de diferente magnitud, puede apreciarse durante la liberación de azúcares reductores (Figura 14). La figura muestra que, a 30°C la máxima concentración de azúcares reductores (23.058 g/L) se alcanza a las 12 h con una R<sub>s/l</sub> de 10%.

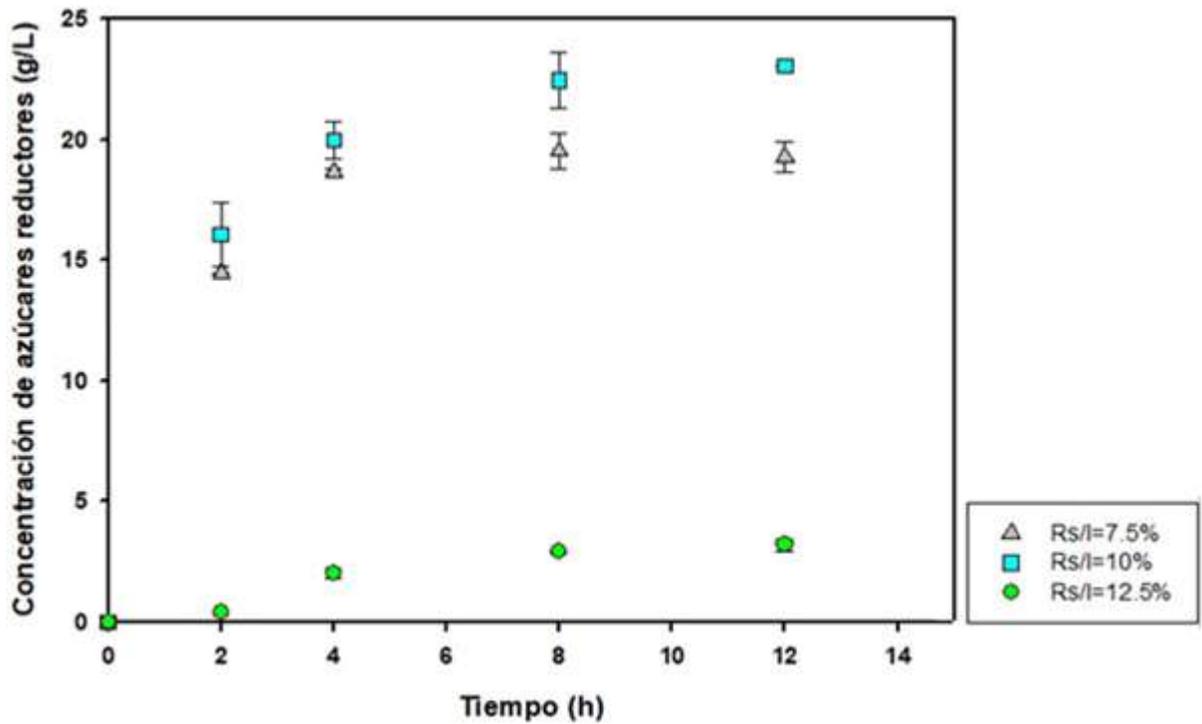


Figura 14. Producción de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática del residuo de jaca a temperatura de 30°C.

En la figura 15, se presentan las cinéticas de reacción para la hidrólisis enzimática del residuo de jaca a 40°C. Se aprecia un comportamiento semejante para todas las cinéticas de hidrólisis enzimática para tiempos menores a 4 h, donde se logra una liberación de azúcares significativa. Sin embargo, la concentración de azúcares para las pruebas realizadas con una  $R_{s/l}$  de 10% y 12.5% se estabiliza una vez alcanzado los valores máximos después de las 4 h de reacción. Por otro lado, la concentración de azúcares reductores para las pruebas con una  $R_{s/l}$  de 7.5%, se incrementa gradualmente hasta alcanzar valor máximo de 30.4436 g/L en un tiempo de 12 h.

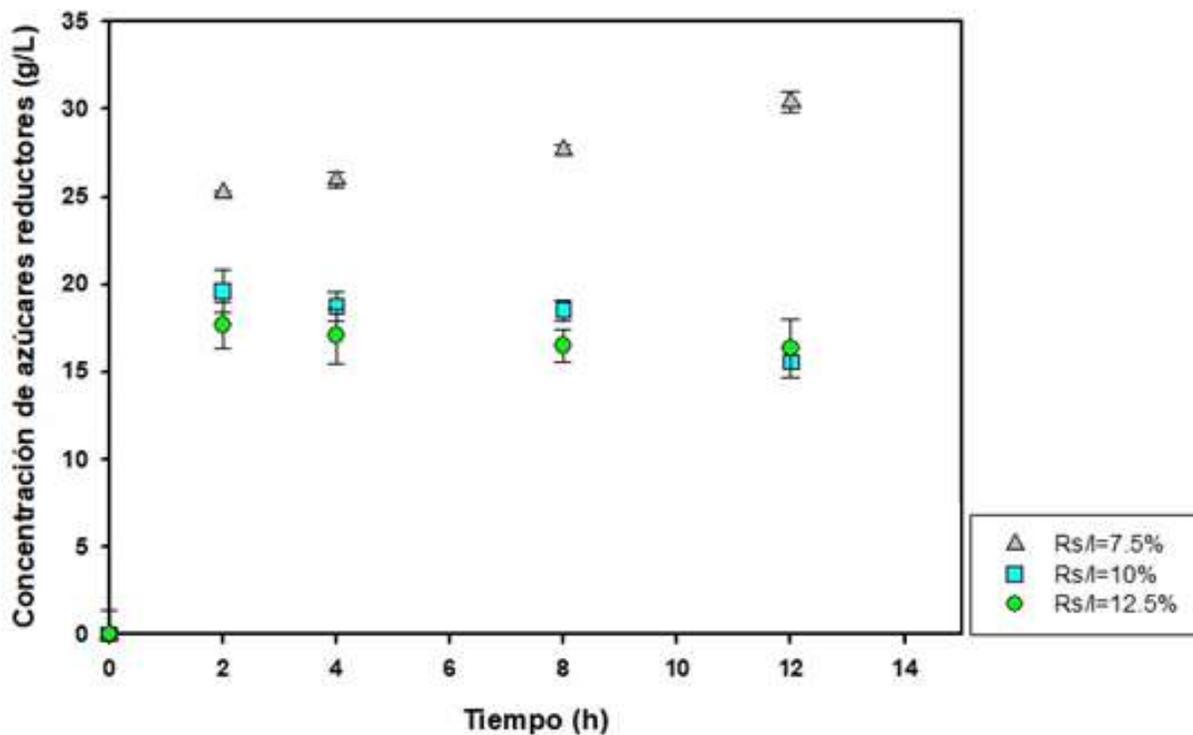


Figura 15. Producción de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática del residuo de jaca a temperatura de 40°C.

La cinética para una  $R_{s/l}$  de 7.5% presentó una mayor concentración de azúcares reductores a partir de las 8 h de reacción y alcanzó su máxima concentración de azúcar reductor de 22.44 g/L a las 12 horas (figura 16). A pesar de que la  $R_{s/l}$  de 12.5% es la que contiene mayor concentración de sustrato, es también la que menor concentración de azúcares reductores logró producir, como se puede apreciar en las cinéticas realizadas a 30°C, 40°C y 50°C (Figuras 14, 15 y 16). Esto se debe a que, al ser la carga del sólido más grande, la viscosidad del medio reactivo incrementa; razón por lo que la resistencia térmica incrementa. El incremento de esta propiedad intensiva provoca que la enzima en el medio no reciba la energía necesaria para llevar a cabo una reacción eficiente (Chapman, 1990). Además, la velocidad de la reacción enzimática es alterada por la concentración de sustrato en el medio, dándose el fenómeno conocido como inhibición por sustrato (Fogler, 2001).

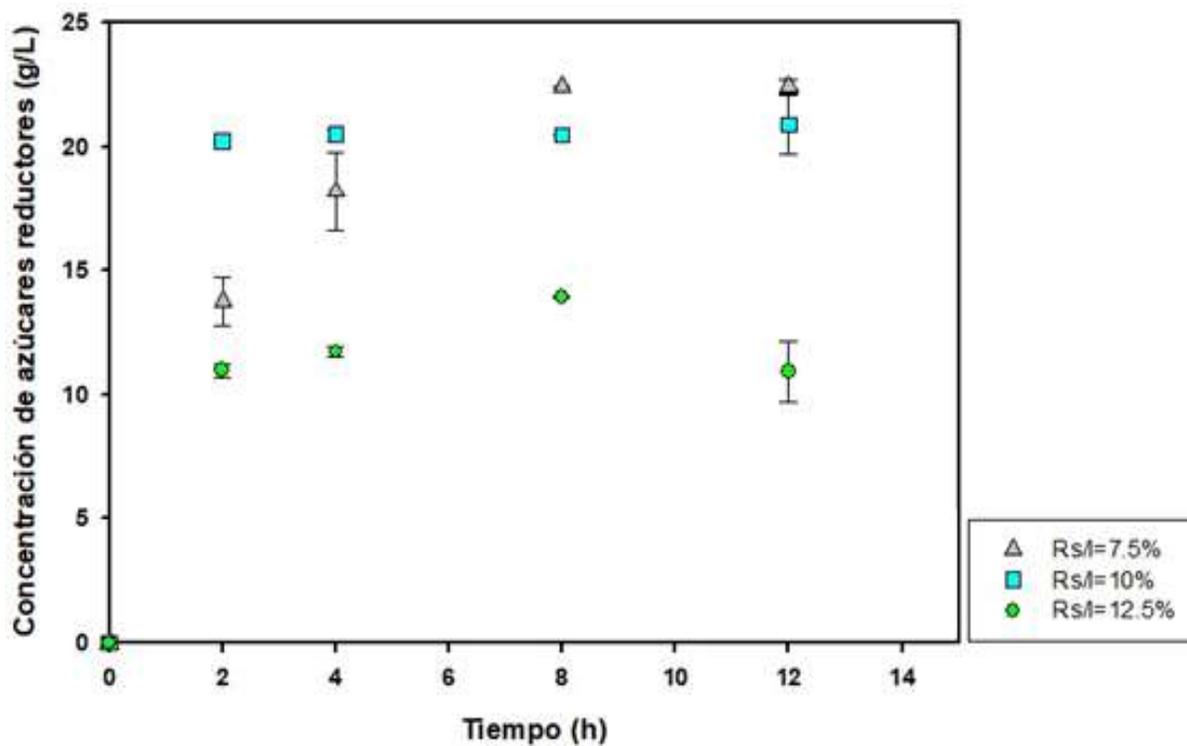


Figura 16. Producción de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática del residuo de jaca a temperatura de 50°C.

Con las respuestas obtenidas en la experimentación de la hidrólisis enzimática del residuo de jaca, se realizó un ANOVA y un análisis de comparación de medias (ambas con una significancia de  $\alpha=0.05$ ). El ANOVA (Tabla 13) dio como resultado que los factores de tiempo, la  $R_{s/l}$  y la temperatura afectan el experimento planteado, al igual que las interacciones entre estos factores.

**Tabla 13. ANOVA de los datos de la hidrólisis enzimática.**

<b>Origen</b>	<b>SC Tipo III</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Significancia</b>
<b>Tiempo</b>	4296.230	4	1074.058	1493.236	0.000
<b>Temperatura</b>	602.225	2	301.113	418.622	0.000
<b>R<sub>S/L</sub></b>	1242.375	2	621.187	863.622	0.000
<b>Tiempo-Temperatura</b>	217.526	8	27.191	37.803	0.000
<b>Tiempo- R<sub>S/L</sub></b>	396.114	8	49.514	68.838	0.000
<b>Temperatura- R<sub>S/L</sub></b>	586.076	4	146.519	203.702	0.000
<b>Tiempo-Temperatura- R<sub>S/L</sub></b>	184.393	16	11.525	16.022	0.000
<b>Error</b>	32.368	45	0.719		0.000
<b>Total</b>	24241.02	90			
<b>Total corregida</b>	7557.307	89			

<sup>a</sup> R<sup>2</sup>=0.996 (R<sup>2</sup> corregida=0.992)

La comparación de medias de los datos experimentales de la hidrólisis enzimática de residuo de jaca, con una significancia de 0.05, mostraron que siete del total de experimentos presentaron una respuesta significativa, resaltando el experimento 20 con una concentración de azúcares de 30.44 g/L, con condiciones de temperatura, R<sub>S/L</sub> y tiempo de: 40°C, 7.5% y 12 h respectivamente. Podemos agregar que la cinética con las condiciones de R<sub>S/L</sub>=7.5% a 40°C, fueron las que mayores concentraciones de azúcares reductores obtuvieron, lo que indica que la combinación de la temperatura con la R<sub>S/L</sub> favorece la reacción enzimática resaltando el experimento 17 con un rendimiento de 25.2646 g/L en un tiempo de residencia de 2 h. (Tabla 14).

**Tabla 14. Comparación de medias para los datos de la hidrólisis enzimática (tres grupos con respuestas más elevadas).**

<b>Respuesta (g/L)</b>	<b>T (°C)</b>	<b>R<sub>s/L</sub> (%)</b>	<b>Tiempo (h)</b>	<b>Experimento</b>
30.4436	40	7.5	12	20 <sup>a</sup>
27.7034	40	7.5	8	19 <sup>b</sup>
25.9771	40	7.5	4	18 <sup>b</sup>
25.2646	40	7.5	2	17 <sup>bc</sup>
23.0588	30	10	12	40 <sup>c</sup>
22.4696	30	10	8	39 <sup>c</sup>
22.4422	50	7.5	12	5 <sup>c</sup>

Los experimentos con la misma literal indican que no hay diferencia significativa Significancia de  $\alpha=0.05$  entre los valores de la media.

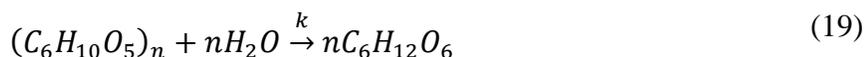
Los valores encontrados en este trabajo para azúcares reductores contrastan con los reportados para otros residuos vegetales, como los reportados por Alrumman (2015), quien utilizó hojas de palma datilera sin pretratamiento y con pretratamiento alcalino encontrando una concentración de azúcares reductores de 2 g/L y 9.2 g/L respectivamente, con un  $R_{s/L}=2\%$ , en un tiempo de 24 h de reacción y 50°C utilizando celulasas de *Geobacillus stearothermophilus*; aumentando su rendimiento al eliminar la lignina (12.75%) después del pretratamiento, siendo esta concentración mayor la encontrada para el residuo de jaca en este trabajo. Otro trabajo realizado por Sharma y Horn (2016) reportaron una producción de 74 g/L de azúcares reductores a partir de la hidrólisis del alga marina kelp (*Saccharina latissima*) con la enzima cellicCTec2 en un tiempo de 96 h, un  $R_{s/L}$  de 25% y a una temperatura de 37°C; que, en comparación con el trabajo presente, es 2.43 veces mayor, esto es debido a los altos tiempos de reacción enzimática y que las algas marinas no contienen lignina (Sharma y Horn, 2016).

En lo que respecta al rendimiento de reacción de hidrólisis enzimática, se determinó un valor de 58.48% para las condiciones óptimas de temperatura,  $R_{s/L}$  y tiempo de 40°C, 7.5% y 2 h para los residuos de jaca, mientras que el trabajo realizado por Baraldi, *et al.* (2016), el rendimiento fue de 18% a una temperatura de 50°C en un volumen de 250 mL al cual se le añadieron 0.06% de celulasas, 0.06% de galactomanasas y 0.06% de  $\beta$ -glucosidasas, con respecto al volumen de

reacción. Otros estudios utilizando diferentes sustratos como de Guilherme, *et al.* (2017), en residuos de caña de azúcar pretratado, donde el mayor rendimiento de la reacción enzimática fue de 57.3% utilizando 0.15% w/w, 50°C y 70 h de  $R_{s/l}$ , temperatura y tiempo respectivamente. Y el de Ortíz-Mendez, *et al.* (2017) quienes reportaron un rendimiento de 60.85% para la hidrólisis enzimática de *agave lechuguilla* (pretratado con  $H_2O_2$ ) realizado con el complejo comercial celulolítico Accellerase 1500 (Genencor®) con las condiciones de  $R_{s/l}$ , temperatura y tiempo: 20%, 50°C y 120 h. Teniendo un tiempo de exposición mucho más largo al encontrado en este trabajo.

## 6.4 Desarrollo de modelos matemáticos

Los modelos matemáticos para las reacciones de hidrólisis enzimática fueron ajustados para predecir la concentración de azúcares reductores liberados, a pesar de que la ecuación de Michaelis-Menten, ecuación (8), expresa el comportamiento de las reacciones enzimáticas, es difícil acoplar el comportamiento de la hidrólisis enzimática a esta relación cuando la reacción cambia con el tiempo (Herrera, *et al.* 2003), por lo que es necesario simplificarla para aproximar la predicción en la determinación de azúcares.



La ecuación 19 es la reacción general que se plantea para la producción de azúcares para la hidrólisis de la celulosa. La producción de azúcares para el sustrato de jaca puede ser determinada por la ecuación 20 planteada por Herrera *et al.* 2003, que fue empleado para la predicción de concentración de glucosa y xilosa en la hidrólisis ácida de la paja de sorgo

$$C_{RS} = C_{PRS}(1 - e^{-kt}) \quad (20)$$

Donde  $C_{RS}$  es la concentración de azúcares producida (g/L),  $C_{PRS}$  es la concentración máxima predicha de azúcares (g/L),  $k$  es la constante de velocidad de reacción ( $h^{-1}$ ) y  $t$  es el tiempo de reacción (h). La tabla 15 muestra los valores de los parámetros de  $k$  y  $C_{PRS}$  en la cinética de las reacciones enzimáticas, las cuales, se determinaron mediante el método de mínimos cuadrados.

Además, se muestran el ajuste obtenido para cada una de la  $R_{s/l}$  para las temperaturas de 30°C, 40°C y 50°C.

**Tabla 15. Parámetros cinéticos para la predicción de la producción de azúcares reductores.**

<b>T (°C)</b>	<b><math>R_{s/l}</math> (%)</b>	<b><math>k</math> (h<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>C_{PRS}</math> (g/L)</b>	<b><math>r^2</math></b>
<b>30</b>	<b>7.5</b>	0.4124	19.3340	0.9900
	<b>10</b>	0.5870	22.7405	0.9983
	<b>12.5</b>	0.1289	4.2416	0.9427
<b>40</b>	<b>7.5</b>	1.0360	28.3460	0.9857
	<b>10</b>	11.3387	18.0955	0.9657
	<b>12.5</b>	25.7140	17.0636	0.9970
<b>50</b>	<b>7.5</b>	0.4445	22.6679	0.9978
	<b>10</b>	1.9527132	20.6334	0.9996
	<b>12.5</b>	0.81350657	13.2265449	0.9872

Con la ecuación 20 y los parámetros cinéticos de la tabla 15, es posible realizar la predicción de la concentración de azúcares reductores en cualquier instante para cada una de las  $R_{s/l}$  y cada una de las temperaturas propuestas. En las figuras 17, 18 y 19 se muestran las líneas de tendencia acopladas hacia los valores de producción de azúcares obtenidos experimentalmente.

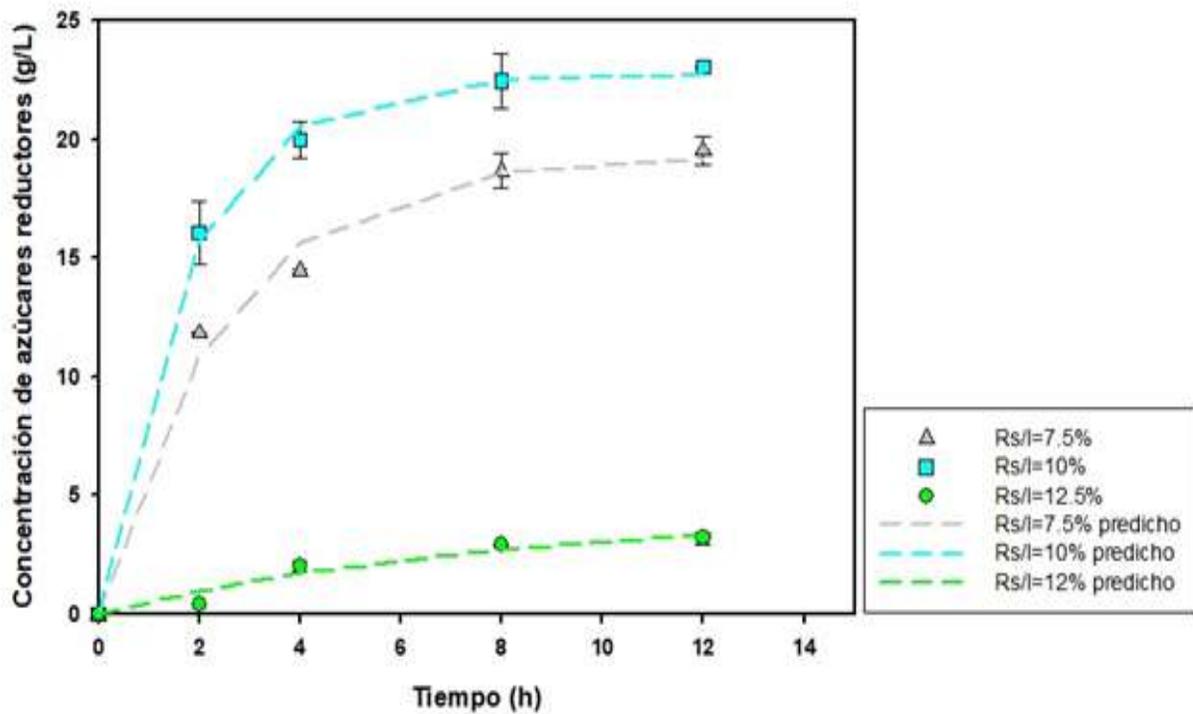


Figura 17. Modelos ajustados a los datos experimentales de hidrólisis enzimática 30°C.

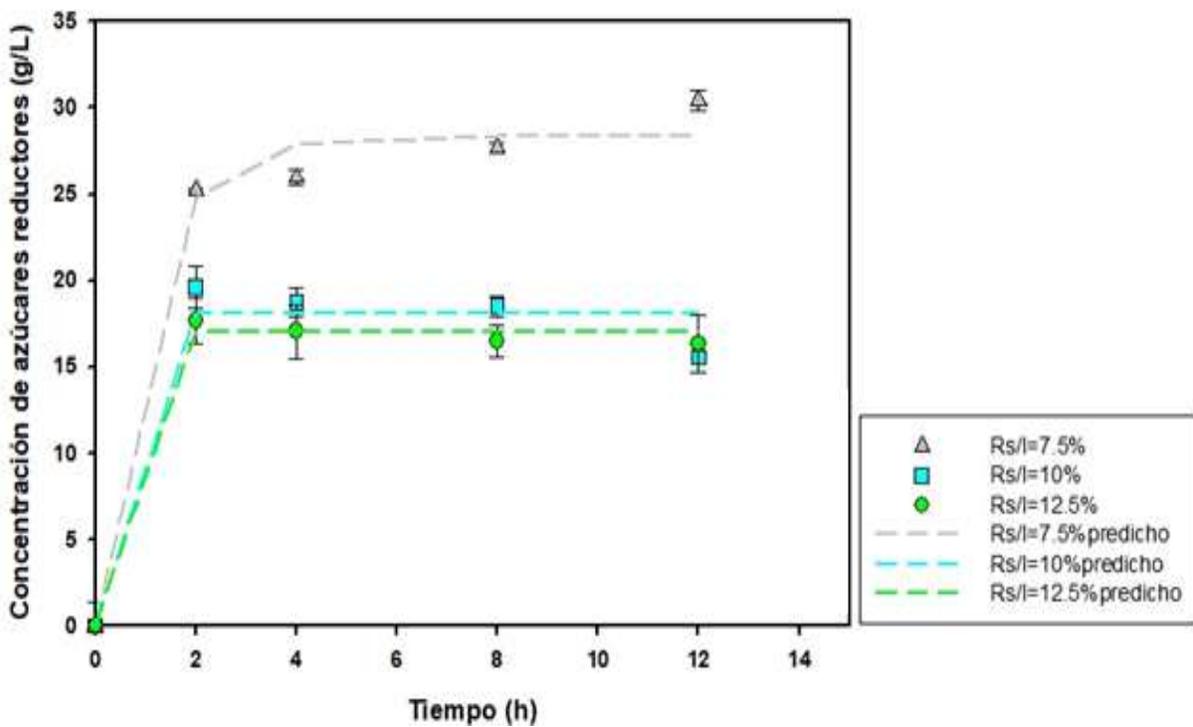


Figura 18. Modelos matemáticos ajustados a los datos experimentales de hidrólisis enzimática 40°C.

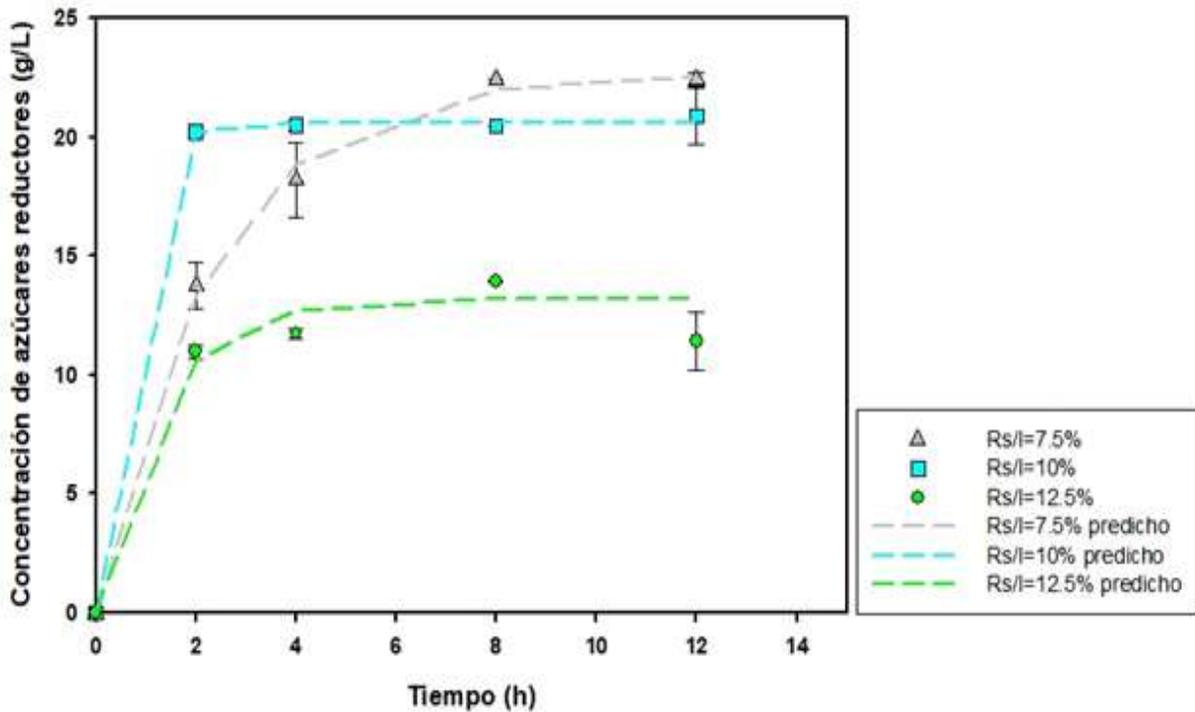


Figura 19. Modelos matemáticos ajustados a los datos experimentales de hidrólisis enzimática a 50°C.

Con la finalidad de generar un modelo general para la predicción de la concentración de azúcares producidos, se estableció una expresión para la funcionalidad de los parámetros  $C_{PRS}$  y  $k$  (ecuación 19) con la temperatura para los diferentes valores de  $R_{s/l}$  estudiados (ver anexo A.9). En las ecuaciones 21, 22 y 23 se presentan los modelos generales para  $R_{s/l}$  de 7.5, 10 y 12.5, respectivamente.

$$C_{RS} = (-96.7236 + 6.088T - 0.074T^2)(1 - e^{-(7.4408+0.4039T-0.0048T^2)t}) \quad (21)$$

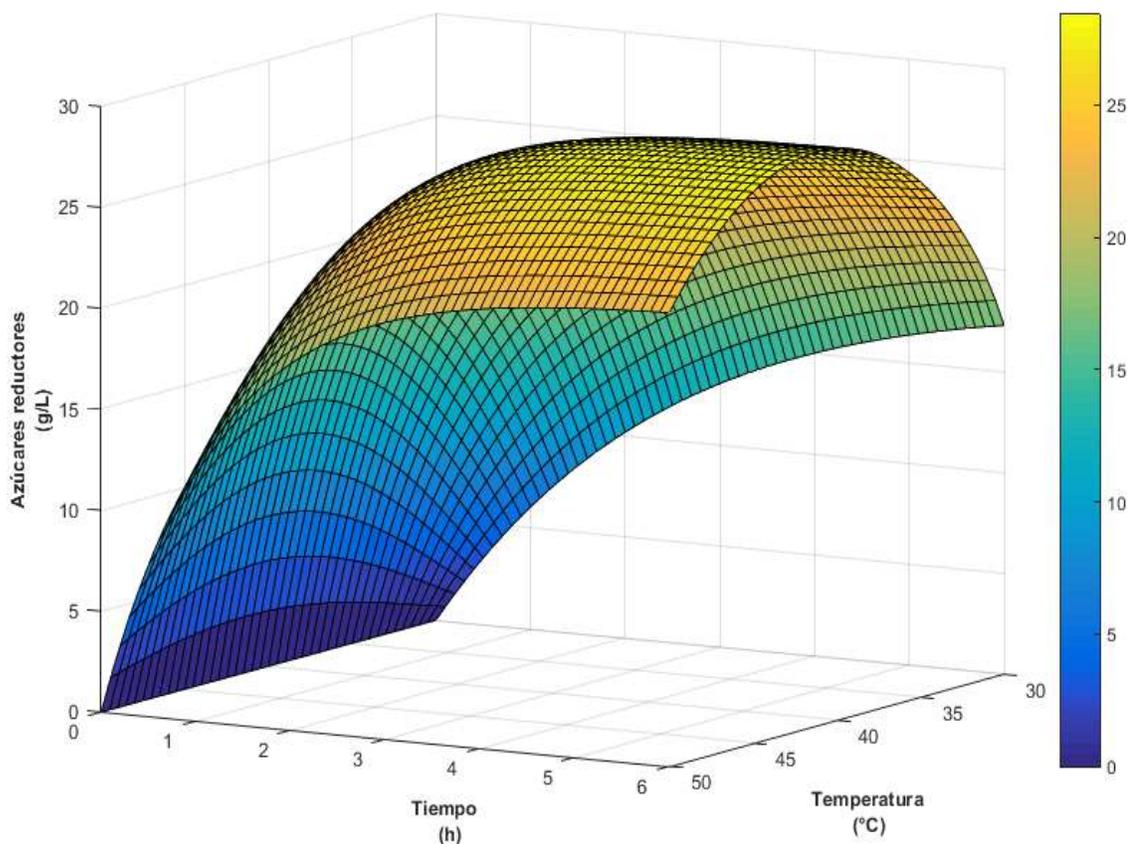
$$C_{RS} = (78.7682 - 2.9265T + 0.0353T^2)(1 - e^{-(153.27+8.1624T-0.1011T^2)t}) \quad (22)$$

$$C_{RS} = (-134.573 + 7.1315T - 0.0835T^2)(1 - e^{-(0.0005-0.0005T-0.2376T^2+0.0126T^3-0.0002T^4)t}) \quad (23)$$

Los ajustes obtenidos de los modelos planteados para las  $R_{s/l}$  de 7.5%, 10% y 12.5%, hacia los datos experimentales de la hidrólisis enzimática fueron de 0.9692, 0.9886 y 0.9881 respectivamente.

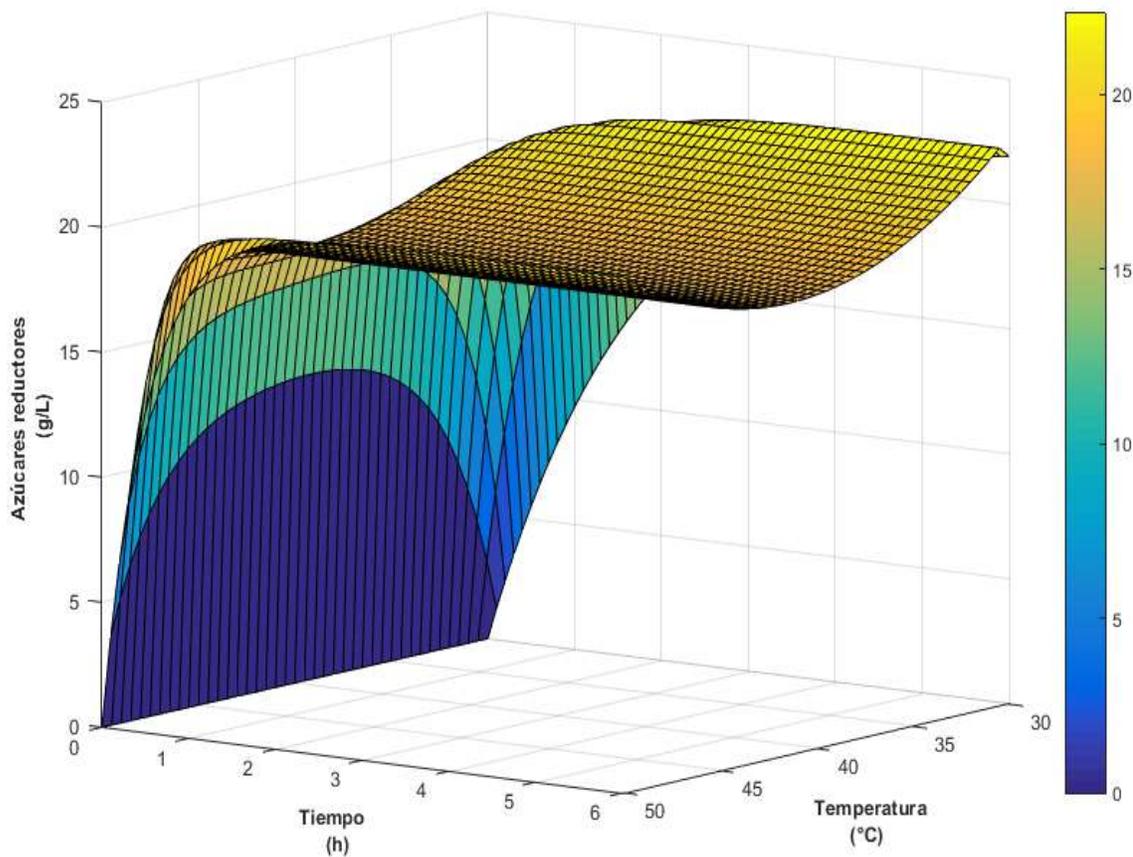
En las figuras 20, 21 y 22 se muestran las representaciones gráficas de los modelos generalizados representados por las ecuaciones 21, 22 y 23, empleados para la predicción de la concentración de azúcares reductores con dependencia del tiempo y temperatura para las  $R_{s/l}$  estudiadas. Estas figuras pueden utilizarse para la selección, de manera gráfica, de las condiciones de temperatura y tiempo para una la obtención de concentración de azúcares deseada.

En la figura 20 se presenta la dependencia de la concentración de azúcares con el tiempo y la temperatura para una  $R_{s/l}$  de 7.5%. El ajuste de este modelo para los datos experimentales fue de 0.9692. El valor máximo de la concentración de azúcares reductores (28.33 g/L) se muestra en el tiempo de 6 h y a 40°C. Se observa que la temperatura de 40°C fue la que mejor favoreció a la producción de azúcares.



**Figura 20. Predicción del modelo generalizado para la producción de azúcares reductores con dependencia del tiempo (h) y temperatura (°C) a  $R_{s/l}=7.5\%$ .**

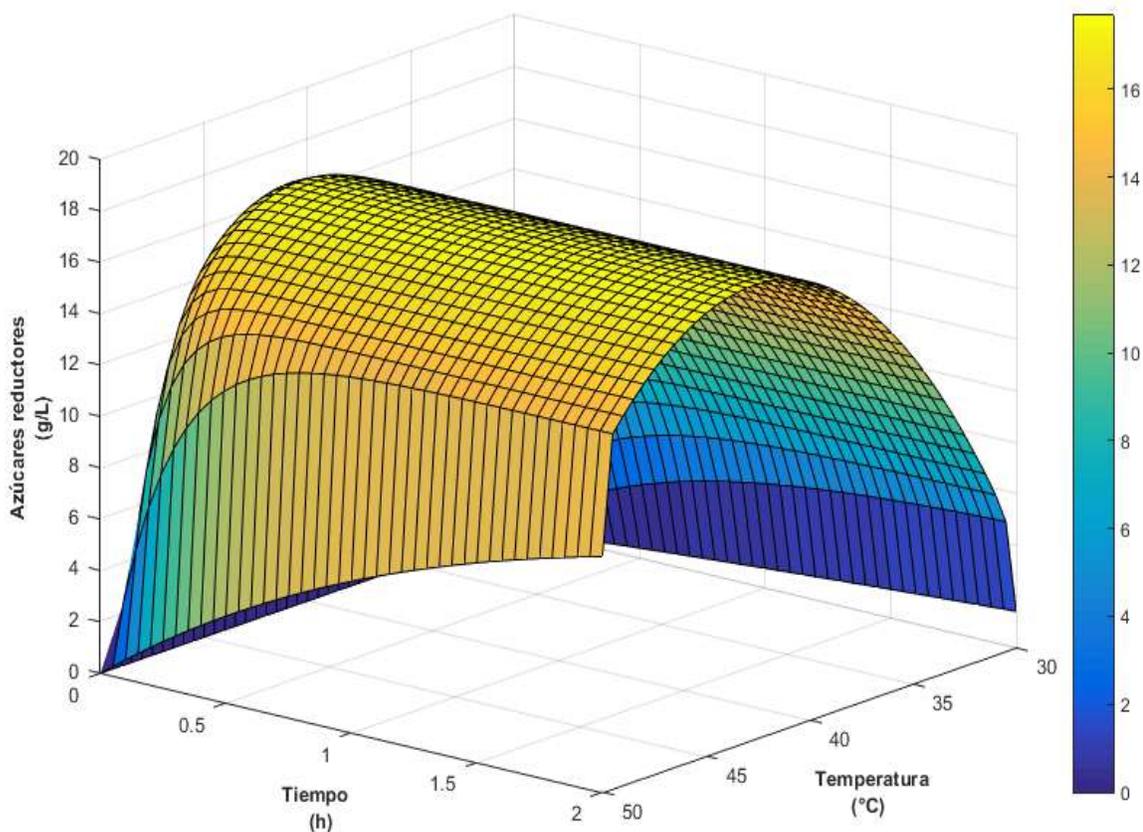
La figura 21 representa el gráfico de la superficie de respuesta correspondiente a la  $R_{s/l}$  de 10% planteada en la ecuación 22, la cual tiene un ajuste de 0.9886. Esta figura muestra que una concentración máxima de azúcares (21.93 g/L) se alcanza en un tiempo de 3.3 h y a una temperatura de 30.5°C. La figura indica que para todo tiempo y a la temperatura de 30.5°C, la respuesta alcanza un máximo, para posteriormente tender a un mínimo a los 40°C, seguido de un incremento al aproximarse a los 50°C.



**Figura 21. Predicción del modelo generalizado para la producción de azúcares reductores con dependencia del tiempo (h) y temperatura (°C) a  $R_{s/l}=10\%$ .**

En la figura 22 se muestra la gráfica de superficie de respuesta correspondiente al modelo planteado en la ecuación 23 que corresponde a la  $R_{s/l}=12.5\%$ . Este modelo mostró un ajuste de 0.9881 hacia los datos experimentales. La predicción del modelo para la mayor concentración de azúcares reductores fue de 17.07 g/L, la cual se obtuvo en un tiempo de 0.8 h y a la

temperatura de 40°C. Se aprecia que esta concentración se mantiene constante a lo largo del tiempo estudiado, sin embargo, esto no ocurre para 30°C y 50°C, los cuales llegan a mostrar los valores máximos de concentración de azúcares a las 2 h.



**Figura 22. Predicción del modelo generalizado para la producción de azúcares reductores con dependencia del tiempo (h) y temperatura (°C) a  $R_{s/1}=12.5\%$ .**

Se han realizado diversos trabajos de modelado para reacciones enzimáticas, en los cuales se han reportado ajustes adecuados a sus datos experimentales. Téllez-Luis *et al.* (2002) reportaron un modelo con ajustes de 0.999 y 0.9911 para la producción de xilosa; además, reportaron ajustes de 0.9438 y 0.8588 para la producción de glucosa a partir de paja de sorgo por la técnica de hidrólisis ácida. Herrera *et al.* (2003) reportaron un modelo con ajuste de 0.9833 para la producción de xilosa. De igual forma, se reportó un ajuste de 0.9929 para la producción de glucosa. La producción de ambos carbohidratos se realizó mediante hidrólisis ácida de la paja

de sorgo. Zhang *et al.* 2016 reportaron un modelo para la producción de proteína a partir de cáscara de camarón mediante hidrólisis enzimática. Este modelo obtuvo un ajuste de 0.9063 hacia los datos experimentales. Enteshari y Matínez-Montenagudo, 2018, realizaron la hidrólisis enzimática del agua residual del proceso de producción de helado. Su modelo planteado logró obtener un ajuste de 0.971 a sus datos experimentales.

## 7 Conclusiones

- La composición de residuo de jaca fue de 25.36% de celulosa, 13.24% de hemicelulosa, 9.29 de lignina, 6.78 de extracto etéreo y 6.42 de cenizas.
- Las condiciones óptimas para la producción de azúcares reductores por hidrólisis ácida son: 90°C de temperatura, tiempo de 120 min y 6% de concentración de catalizador ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).
- El factor temperatura tuvo un efecto mayor en la concentración de azúcares producidos por hidrólisis ácida.
- Las condiciones óptimas para la hidrólisis enzimática de los residuos de jaca fueron de 40°C de temperatura, tiempo de 2 h y una  $R_{s/l}$  de 7.5%.
- La variable  $R_{s/l}$  fue el factor con mayor influencia en la producción de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática
- El rendimiento de reacción obtenidos para la hidrólisis enzimática fue de 58.48%, mientras que el obtenido por hidrólisis ácida fue de 22.69%, resultando 2.6 veces mayor el método enzimático, pudiendo incrementarlo si se realizar un pretratamiento alcalino para aumentar la digestibilidad enzimática sobre el residuo de jaca.
- Se obtuvieron modelos matemáticos válidos para la predicción de la concentración de azúcares reductores en términos la temperatura y el tiempo, para las  $R_{s/l}$  estudiadas.
- Los resultados muestran un potencial viable de los residuos generados del procesamiento del fruto de jaca para el aprovechamiento como fuente de azúcares fermentables.

## 8 Referencias

Abdul Khalil, H. P. S., Bhat, A. H. y Ireana Yusra, A. F., 2012. Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. *Carbohydrate Polymers*, Issue 87, p. 963– 979.

Agencia Provincial de la Energía, 2014. Biorrefinerías: una oportunidad de negocio para las zonas rurales y las industrias. *Guía de actuación en las regiones participantes en el Proyecto BIOREF*, pp. 2-15.

Aguilar, R., Ramírez, J. A., Garrote, G. y Vázquez, M., 2002. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. *Journal of Food Engineering*, pp. 309-318.

Alrumman, S. A., 2016. Enzymatic saccharification and fermentation of cellulosic date palm wastes to glucose and lactic acid. *Brazilian Journal of Microbiology*, p. 110–119.

ANSI/ASTM, 1997. Standard test methods for alpha cellulose in wood. *American National Standard Institute*.

Baraldi, I. J., Giordano, R. L. y Zangirolami, T. C., 2016. Enzymatic hydrolysis as an environmentally friendly process compared to thermal hydrolysis for instant coffee production. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 33(4), pp. 763-771.

Bello-Gil, D., Carrera-Bocourt, E. y Díaz-Maqueira, Y., 2006. Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico. *Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar*, Issue 2, pp. 45-50.

Brandt, P., Ernst, A., Gralla, F., Luederitz, C., Lang, D., Newig, J., Reinert, F., Abson, D. y von Wehrden, H., 2013. A review of transdisciplinary research in sustainability science. *Ecological Economics*, Volumen 92, pp. 1-15.

Browning, B., 1967. Methods of wood chemistry. *Interscience publishers*.

Chapman, A. J., 1990. *Transmisión del calor*. Madrid: Librería Técnica Bellisco.

- Chen, H., Liu, J., Chang, X., Chen, D., Xue, Y., Liu, P., Lin, H. y Han, S., 2017. A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals. *Fuel Processing Technology*, Volumen 160, pp. 196-206.
- Chen, P., Xieb, F., Zhaoa, L., Qiaoa, Q. y Liu, X , 2017. Effect of acid hydrolysis on the multi-scale structure change of starch with different amylose content. *Food Hydrocolloids*.
- Chien-Tai, T., Morales-Rodriguez, R., Sin, G. y Meyer, A. S., 2014. A dynamic model for cellulosic biomass hydrolysis: a comprehensive analysis and validation of hydrolysis and product inhibition mechanisms. *Applied biochemistry and biotechnology* , pp. 2815-2837.
- Coseri, S., 2017. Cellulose: To depolymerize... or not to?. *Biotechnology Advances*, 35(2).
- Cuervo, L., Folch, J. y Quiroz, R., 2009. Lignocelulosa Como Fuente de Azúcares Para la Producción de Etanol.. *BioTecnología*, 13(3), pp. 11-25.
- Da Silva-Perez, D., Huber, P., Janodet, A., Soranzo, A., Guillemain, A., Schelcher, M. y Petit-Conil, M., 2011. Impact of the extraction conditions and wood species on the chemical composition of hemicelluloses. *Association Technique de L'Industrie Papetiere*, 65(3), pp. 14-20.
- da Silva, S. S. y Kumar, A., 2012. *D-xilitol: Fermentative production, application and commercialization*. New York: Springer-Verlag.
- Domínguez-Domínguez, M., Álvarez-Castillo, A., Granados-Baeza, M. y Hernández-Campos, F., 2012. Estudio de la cinética del pretratamiento e hidrólisis ácida del bagazo de caña de azúcar. *Revista Iberoamericana de Polímeros* .
- El-Ahmady El-Naggar, N., Deraz, S. y Khalil, A., 2014. Bioethanol Production from Lignocellulosic Feedstocks Based on Enzymatic Hydrolysis: Current Status and Recent Developments. *Biotechnology*, 13(1), pp. 1-21.

Elevitch, C. y Manner, H., 2006. *Artocarpus heterophyllus* (jackfruit). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*, pp. 1-17.

El-Zawawy, W. K., Ibrahim, M. M., Abdel-Fattah, Y. R., Soliman, N. A. y Mahmoud, M. M. , 2011. Acid and enzyme hydrolysis to convert pretreated lignocellulosic materials into glucose for ethanol production. *Carbohydrate Polymers*, p. 865–871.

Enteshari, M. y Matínez-Montenagudo, S. I., 2018. Subcritical hydrolysis of ice-cream wastewater: Modeling and functional properties of hydrolysate. *Food and Bioproducts Processing*, Volumen III, pp. 104-113.

Eseyin, A. E. y Steele, P. H., 2015. An overview of the applications of furfural and its derivatives. *International Journal of Advanced Chemistry*, pp. 42-47.

Fogler, H. S., 2001. *Elementos de ingeniería química*. México: Prentice Hall.

Gámez, S., González-Cabriales, J. J., Ramírez, J. A., Garrote, G. y Vázquez, M., 2006. Study of the hydrolysis of sugar cane bagasse using phosphoric acid. *Journal of Food Engineering*, pp. 78-88.

Guerfali, M., Saidi, A., Gargouri, A. y Belghith, H., 2014. Enhanced enzymatic hydrolysis of waste paper for ethanol production using separate saccharification and fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, pp. :25-42..

Guilherme, A. d. A., Dantas, P. V. F., Soares, J. C. J., dos Santos, E. S., Fernandes, F. A. N. y de Macedo, G. R., 2017. Pretreatments and enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse aiming at the enhancement of the yield of glucose and xylose. *Brazilian Journal of chemical Engineering*, pp. 937-947.

Healey, A. L., Lee, D. J., Furtado, A., Simmons, B. A. y Henry, R. J., 2015. Efficient eucalypt cell wall deconstruction and conversion for sustainable lignocellulosic biofuels. Volumen 3, pp. 8-21.

Herrera, A., Téllez-Luis, S. J., Ramirez, J. A. y Vázquez, A., 2003. Production of Xylose from Sorghum Straw Using Hydrochloric Acid. *Journal of Cereal Science*, pp. 267-274.

Hodge, D., Karim, M. N., Schell, D. y McMillan, J. D., 2008. Soluble and insoluble solids contributions to high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose. *Bioresource Technology*, pp. 8940-8948.

Idrees, M., Adnan, A., Bokhari, S. A. y Qureshi, F. A., 2014. Production of fermentable sugars by combined chemo-enzymatic hydrolysis of cellulosic material for bioethanol production. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, pp. 355-363.

Kassaye, S., Pant, K. K. y Jain, S., 2016. Synergistic effect of ionic liquid and dilute sulphuric acid in the hydrolysis of microcrystalline cellulose. *Fuel Processing Technology*, pp. 289-294.

Kinnarinen, T., Shakhanova, M., Hietanen, E., Salmimies, R., Häkkinen, A. y Louhi-Kultanen, M., 2012. Effect of mixing on enzymatic hydrolysis of cardboard waste: Saccharification yield and subsequent separation of the solid residue using a pressure filter. *Bioresource Technology*, pp. 405-411.

Laopaiboon, P., Thani, A., Leelatcharamas, V. y Laopaiboon, L., 2010. Acid Hydrolysis of sugarcane bagasse for lactic acid production. *Bioresource Technology*, 101(3), pp. 1036-1043.

Lavarack, B. P., Griffin, G. J. y Rodman, D., 2002. The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products. *Biomass and Bioenergy*, 23(5), pp. 367-380.

Love, K. y Paull, R., 2011. The Jackfruit. *Fruits and nuts*, 19(1), pp. 1-7.

Megawati, Sediawan, W. B., Sulistyono, H. y Hidayat, M., 2015. Sulfuric acid hydrolysis of various lignocellulosic materials and its mixture in ethanol production. *Biofuels*, p. 331-340.

Mithra, M. G. y Padmaja, G., 2017. Strategies for enzyme saving during saccharification of pretreated lignocellulose-starch biomass: effect of enzyme dosage and detoxification chemicals. *Heliyon*.

Morales-de la Rosa, S., Campos-Martin, J. M. y Fierro, J. L. G., 2014. Optimization of the process of chemical hydrolysis of cellulose to glucose. *Cellulose*, 21(4), pp. 2397-2407.

Nizami, A. S., Rehan, M., Naqvi, M., Ouda, O. K. M., Shahzad, K., Miandad, R., Khan, M. Z., Syamsiro, M., Ismail, I. M. I. y Pant, D., 2017. Waste biorefineries: Enabling circular economies in developing countries. *Bioresource Technology*, Volumen 241.

Nwogwugwn, N. U., Abu, G. O. y Akaranta, O., 2016. Reducing sugars from agro-waste biomass suitable for industrial applications. *Scholars Research Library*, pp. 37-40.

Ortíz-Mendez, O. H., Morales-Martínez, T. K., Rios-González, L. J., Rodríguez-de la Garza, J. A., Quintero, J. y Aroca, G., 2017. Producción de bioetanol a partir de Agave lechuguilla pretratada por autohidrólisis. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(2), pp. 467-476.

Palmavist, B., Kadić, A., Hägglund, K., Petersson, A. y Lidén, G., 2016. Scale-up of high-solid enzymatic hydrolysis of steam-pretreated softwood: the effects of reactor flow conditions. *Biomass Conversion Biorefinery*, pp. 173-180.

Páztor, A., 2015. *Advanced biofuel production: Engineering metabolic pathways for butanol and propane biosynthesis*, Turku: s.n.

Petre, M. y Petre, V., 2012. The semi-solid state cultivation of edible mushrooms on agricultural organic waste. *Scientific Bull. Ser. F. Biotechnology*, Volumen XVI.

Petre, M. y Petre, V., 2013. Environmental biotechnology for bioconversion of agricultural and forestry wastes into nutritive biomass. *Environmental Biotechnology*.

Piñeros-Castro y Yineth, 2014. *Aprovechamiento de biomasa lignocelulósica, algunas experiencias de investigación en Colombia*. Bogotá: UTadeo.

Raj, A. A. S. y Ranganathan, T. V., 2018. Characterization of cellulose from jackfruit (Artocarpus). *Journal of Pharmacy Research*, 12(3), pp. 311-315.

Roberts, G. W., 2009. *Chemical reactions and chemical reactors*. Hoboken, New Jersey: John Wiley and Sons, Inc.

Rodríguez-Chong, A., Ramírez, J. A., Garrore, G. y Vázquez, M., 2004. Hydrolysis of sugar cane bagasse using nitric acid: a kinetic assessment. *Journal of Food Engineering*, pp. 143-152.

Rosatella, A. A., Simeonov, S. P., Frade, R. F. M. y Afonso, C. A. M., 2010. 5-Hidroxymethylfurfural (HMF) as a building block platform: Biological properties, synthesis and synthetic applications. *Green Chemistry*, pp. 754-793.

Ruiz-Colorado, A., Quintana, J. C., Niño, J., Cano, N., Gómez, A. C., Daza, S., Sierra, A. F. y Correa, J. F., 2014. Biomasa lignocelulósica en Colombia, pretratamientos y productos de valor agregado. *Aprovechamiento de biomasa lignocelulósica*.

Sacramento-Rivero, J., Romero, G., Cortés-Rodríguez, E., Pech, E. y Blanco-Rosete, S., 2010. Diagnostico del desarrollo de biorrefinerías en México. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 9(3), pp. 261-283.

Sánchez-Riaño, A. M., Gutiérrez-Morales, A. I., Muñoz-Hernández, J. A. y Rivera-Barrero, C. A., 2010. Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. 5, pp. 61-90.

Sharma, S. y Horn, S. J., 2016. Enzymatic saccharification of brown seaweed for production of fermentable sugars. *Bioresource Technology*, Volumen 213.

SIAP, 2018. *Jackfruit, jaca, yaca... ¿la conoces?*. [En línea] Available at: <https://www.gob.mx/siap/articulos/jackfruit-jaca-yaca-la-conoces?idiom=es>

Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J. y Templeton, D., 2008. Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples. *NREL*.

- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J. y Templeton, D., 2008. Determination of Ash in Biomass. *NREL*.
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J. y Templeton, D., 2006. Determination of Sugars, Byproducts, and Degradation Products in Liquid Fraction Process Samples. *NREL*.
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D. y Crocker, D., 2012. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. *NREL*.
- Sluiter, A., Hyman, D., Payne, C. y Wolfe, J., 2008. Determination of Insoluble Solids in Pretreated Biomass. *NREL*.
- Sluiter, A., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J. y Templeton, D., 2005. Determination of Extractives in Biomass. *NREL*.
- Suhas, Gupta, V.K., Carrott, P. J. M., Singh, R., Chaudhary, M. y Kushwaha, S., 2016. Cellulose: A review as natural, modified and activated carbon adsorbent. *Bioresource Technology*, Issue 216, p. 1066–1076.
- Tanaka, M. y Matsuno, R., 1985. Conversion of lignocellulosic materials to single-cell protein (SCP): review developments and problems.. *Enzyme Microbiologic Technology*, Volumen 7.
- Téllez-Luis, S. J., Ramírez, J. A. y Vázquez, M., 2002. Matematical modelling of hemicellulosic sugar production from sorghum straw. *Journal of Food Engineering*, pp. 285-291.
- Tervasmäki, P., Sotaniemi, V., Kangas, J., Taskila, S., Ojamo, H. y Tanskanen, J., 2017. A discretized model for enzymatic hydrolysis of cellulose in a fed-batch process. *Bioresource Technology*, pp. 112-124.
- Thammasittirong, S. N., Chatwachirawong, P., Chamduang, T. y Thammasittirong, A., 2017. Evaluation of ethanol production from sugar and lignocellulosic part of energy cane. *Industrial Crops and Products*, p. 598–603.

Wahidin, N. y Wuryantoro, 2015. Ethanol Synthesis From Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) Stone Waste as Renewable Energy Source. *Energy Procedia*, p. 372 – 377.

Wordpress, 2015. *Lidia con la química*. [En línea]  
Available at: <https://lidiakonlaquimica.wordpress.com/tag/celulosa/>  
[Último acceso: 25 02 2019].

Yamaguchi, A., Sato, O., Mimura, N. y Shirai, M., 2016. Catalytic Production of Sugar Alcohols from Lignocellulosic Biomass. *Carbohydrate Research*, pp. 199-202.

Zhang, K., Zhang, B., Chen, B., Jing, L., Zhu, Z. y Kazemi, K., 2016. Modeling and optimization of Newfoundland shrimp waste hydrolysis for microbial growth using response surface methodology and artificial neural networks. *Marine Pollution Bulletin*, pp. 245-252.

## Anexos

### **A. Preparación de reactivos y determinaciones**

### **B. Trabajos publicados**

## Anexo A.1: Preparación de soluciones de hidróxido de sodio

En la tabla 16 se presentan las cantidades de reactivos empleadas para la preparación de 100 mL de solución de hidróxido de sodio.

**Tabla 16. Cantidades empleadas para la elaboración de NaOH.**

<b>Concentración deseada</b> <b>(% p/p)</b>	<b>Peso de NaOH</b> <b>(g)</b>	<b>Volumen de H<sub>2</sub>O</b> <b>(mL)</b>
<b>8.3</b>	8.3	91.7
<b>17.5</b>	17.5	82.5

## Anexo A.2: Preparación de soluciones de ácido sulfúrico

En la tabla 17, se presentan los valores para las cantidades empleadas en la producción de 100 mL de solución de ácido sulfúrico.

**Tabla 17. Cantidades empleadas para la elaboración de solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluido empleado en la hidrólisis ácida del residuo de jaca.**

<b>Concentración deseada</b>	<b>Volumen de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98%)</b>	<b>Volumen de H<sub>2</sub>O</b>
<b>(% p/p)</b>	<b>(mL)</b>	<b>(mL)</b>
<b>2</b>	1.098	98.979
<b>4</b>	2.229	98.398
<b>6</b>	3.393	97.757
<b>8</b>	4.589	97.057
<b>10</b>	5.818	96.296
<b>72</b>	63.958	45.698

### Anexo A.3: Preparación de buffer de citrato dibásico de sodio (pH=4.8)

Para 1000 mL de solución:

- 8.93 g de citrato básico de sodio ( $\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_7$ )
- 2.19 g de citrato dibásico de sodio ( $\text{Na}_2\text{C}_6\text{O}_7$ )
- Agua destilada
- Ácido clorhídrico (32%)

Preparación:

- Pesar el  $\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_7$  y  $\text{Na}_2\text{C}_6\text{O}_7$  y colocarlo en un vaso de precipitado.
- Agregar agua destilada y agitar hasta disolver.
- Introducir la mezcla a un matraz aforado de 1L.
- Agregar agua hasta que llegar al aforo.
- El pH obtenido será aproximadamente de 5, por lo que se debe llevar a un pH de 4.8 gota a gota con ácido clorhídrico (o al pH con el que trabaje la enzima).

## Anexo A.4: Determinación de azúcares reductores

Procedimiento:

- Llevar 500 mL de agua destilada a punto de ebullición (96°C).
- Tomar 0.5 mL de muestra a analizar y colocarla en un tubo de ensayo.
- Agregar 0.5 de solución DNS en el tubo de ensayo con la muestra.
- Someter a calentamiento en el agua hirviendo (durante 5 minutos).
- Enfriar en agua a temperatura ambiente.
- Agregar 5 mL de agua destilada.
- Medir la absorbancia (ABS) a una longitud de onda de 540nm.
- Si la lectura se sale del rango del espectrofotómetro, la muestra de la reacción se debe diluir a la mitad o a la cuarta parte para que entre a la lectura del espectrofotómetro (se debe considerar esta dilución para realizar los cálculos: si se diluye a la mitad se multiplica el valor de ABS por 2, si se diluye a la cuarta parte se multiplica por 4).
- Colocar el valor de ABS en la ecuación generada en una previa curva de calibración. Lo que como resultado se obtendrá la concentración de azúcares reductores.

## Anexo A.5: Preparación de DNS

Para 100 mL de la solución DNS.

- 1 g de reactivo DNS
- 1.6 g de NaOH
- 30 g de tartrato de sodio y potasio (sal de Rochelle)

Preparación:

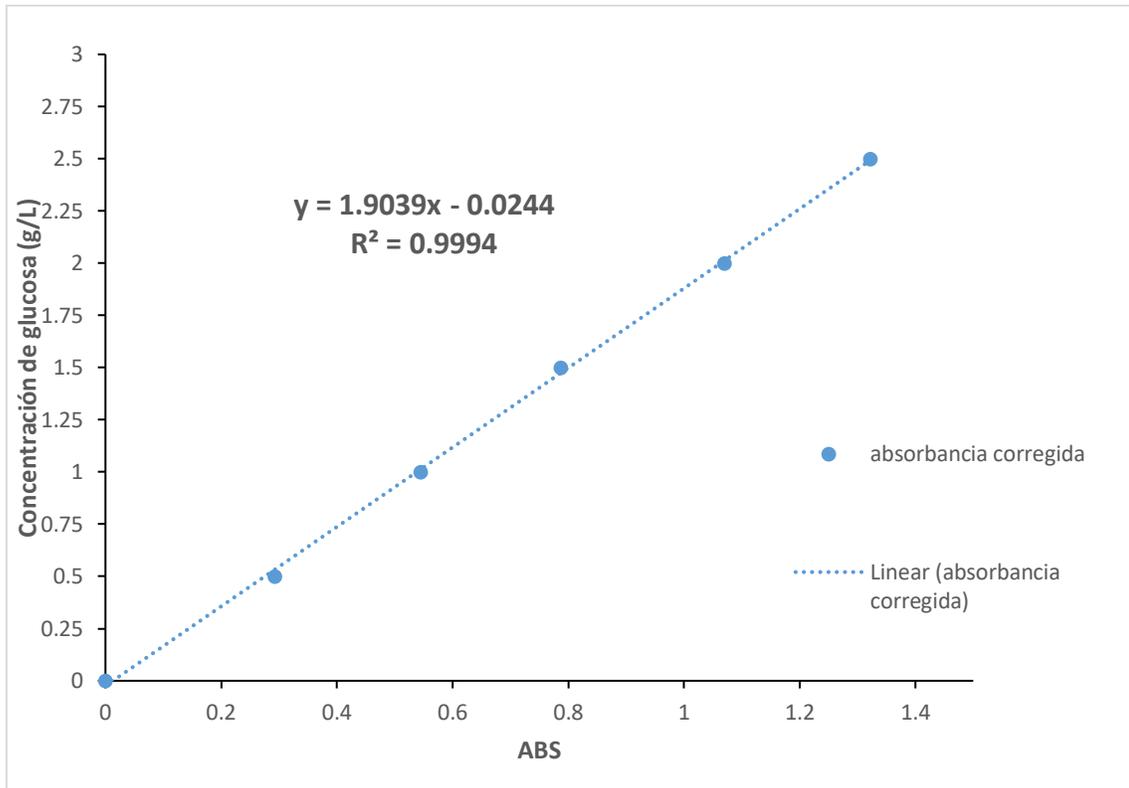
- Disolver el NaOH en 20 mL de agua destilada.
- Disolver el tartrato de sodio y potasio en la solución de NaOH (calentar para disolver). De ser necesario, agregar de 20 a 25 mL de agua destilada para terminar de disolver (la apariencia que tomará será de un líquido amarilloso).
- La solución se coloca en un vaso (de 500 mL o superior) cubierto con papel aluminio y con agitador magnético. Se somete a agitación lenta (evitar que salpique el líquido afuera del vaso) durante 8 horas para asegurar que la sal de Rochelle y el DNS se disuelvan por completo. El resultado será un líquido amarillo-anaranjado.
- La disolución se traslada a un matraz aforado de 100 mL con ayuda de una varilla de agitación.
- El vaso se enjuaga con 10 mL de agua destilada (dos veces), para asegurar el contenido total del vaso.
- En el matraz aforado se comienza a agitar manualmente mientras se le agrega el agua destilada lentamente para facilitar el mezclado. El líquido turbio para a ser naranja transparente conforme se incrementa el volumen del matraz y se mezcla.
- Almacenar en el matraz cubierto con papel aluminio o en un frasco ámbar.

## Anexo A.6: Curva de calibración de glucosa

Para la elaboración de la curva de calibración, se emplearon diferentes concentraciones de glucosa, a los cuales se les determinó la absorbancia (ABS). La tabla 18 muestra la respuesta obtenida a diferentes concentraciones de glucosa.

**Tabla 18. Respuesta de ABS a las diferentes concentraciones de glucosa.**

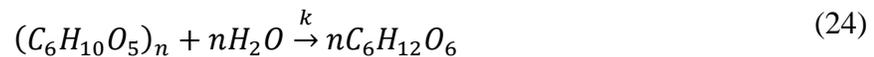
Concentración (g/L)	Absorbancia (ABS)	Absorbancia (ABS)
Blanco	-0.03	0
0	0	0.0244
0.5	0.262	0.292
1	0.515	0.545
1.5	0.757	0.787
2	1.04	1.07
2.5	1.292	1.322



**Figura 23.** Curva de calibración obtenida a partir de la ABS medida a soluciones con diferente concentración de glucosa.

## Anexo A.7: Planteamiento de los factores de conversión para cálculo de rendimiento

Para obtener el rendimiento de las reacciones de hidrólisis, se partió de las reacciones planteadas en las ecuaciones 24 y 25, las cuales son una generalización para expresar la producción de glucosa y pentosas a partir de celulosa y hemicelulosas, respectivamente.



Con base en las ecuaciones mencionadas, un balance de moles puede plantearse para cada reacción (ecuaciones 26 y 27) y, posteriormente, reescribirse en términos de masa mediante la inserción de las masas molares de las unidades monoméricas y las moléculas producidas (ecuaciones 28 y 29).

$$1 \text{ mol de celulosa} = n \text{ moles de glucosa} \quad (26)$$

$$1 \text{ mol de hemicelulosa} = n \text{ mol de pentosas} \quad (27)$$

$$162 \text{ g de celulosa} = 180 \text{ g de glucosa} \quad (28)$$

$$150 \text{ g de pentosas} = 132 \text{ g de hemicelulosa} \quad (29)$$

Las ecuaciones 28 y 29 pueden ser empleadas para el cálculo teórico de la producción de glucosa y pentosas a partir de cualquier cantidad de celulosa y hemicelulosa, respectivamente, para conversiones de 0 a 100%.

## Anexo A.8: Determinación de rendimiento

En la tabla 19 y 20 se muestra el valor teórico calculado para la concentración de sustrato en el medio de las reacciones de hidrólisis.

**Tabla 19. Masa de azúcares producidos a conversión total de la reacción de hidrólisis ácida del sustrato de jaca.**

	<b>Fracción presente en el medio (g)</b>	<b>Peso a la conversión máxima teórica (g)</b>	<b>Concentración obtenida (g/L)</b>	<b>Masa total de azúcares producidos (g)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>
Celulosa	1.268	1.409			
Hemicelulosa	0.662	0.7523			
<b>Total</b>		<b>2.1613</b>	<b>9.81</b>	<b>0.49052</b>	<b>22.69</b>

**Tabla 20. Masa de azúcares producidos a conversión total de la reacción de hidrólisis enzimática del sustrato de jaca.**

	<b>Fracción presente en el medio (g)</b>	<b>Peso a la conversión máxima teórica (g)</b>	<b>Concentración obtenida (g/L)</b>	<b>Masa total de azúcares producidos (g)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>
Celulosa	2.11	2.373			
Hemicelulosa	1.13	1.284			
<b>Total</b>		<b>3.657</b>	<b>25.2646</b>	<b>1.8948</b>	<b>58.48</b>

## Anexo A.9 Ajustes de las constantes de los modelos propuestos

Con los valores obtenidos para la constante  $C_{PRS}$ , se aproximó, mediante el método de mínimos cuadrados, una función de segundo orden, debido a que este tipo de ecuación tiene un mejor ajuste que una función de cero, primer y de tercer orden para todas las  $R_{s/l}$  estudiadas. En este caso, la temperatura  $T$  es la variable.

$$C_{PRS} = aT^2 + bT + c$$

En las tablas 16, 17 y 18 se muestra el método de mínimos cuadrados con el cual se obtuvo el valor de las constantes de la ecuación de segundo orden.

**Tabla 21. Ajuste de la constante  $C_{PRS}$  a un modelo de segundo orden, para la hidrólisis realizada a una  $R_{s/l}$  de 7.5%.**

T (°C)	CPRS real	Grado del término de la función			CPRS calculado	Error de valor real	Error de valor calculado	$r^2$
		0°	1°	2°				
		c	b	a				
30	19.334	-96.7236	6.0880	-0.074	19.3064	0.000764	16.9356	0.9999
40	28.346				28.3776	0.001003	23.977	
50	22.6679				22.6463	0.000467	0.6105	
<b>Promedio</b>	23.4493				<b><math>\Sigma</math> de cuadrados</b>	0.00223		

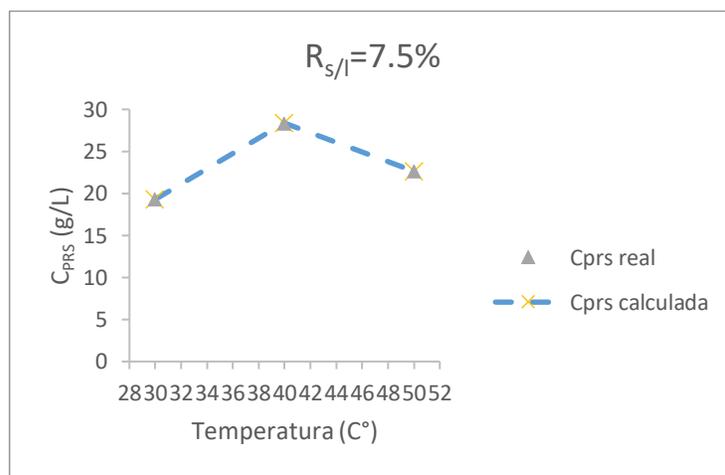
**Tabla 22. Ajuste de la constante  $C_{PRS}$  a un modelo de segundo orden, para la hidrólisis realizada a una  $R_{s/l}$  de 10%.**

T (°C)	CPRS real	Grado del término de la función			CPRS calculado	Diferencia de cuadrados	Error de valor calculado	$r^2$
		0°	1°	2°				
		30	22.7405	78.7682				
40	18.0955				18.1354	0.001593	5.736	
50	20.6334				20.6114	0.000485	0.0206	
<b>Promedio</b>	20.4898				<b><math>\Sigma</math> de cuadrados</b>	0.002828		

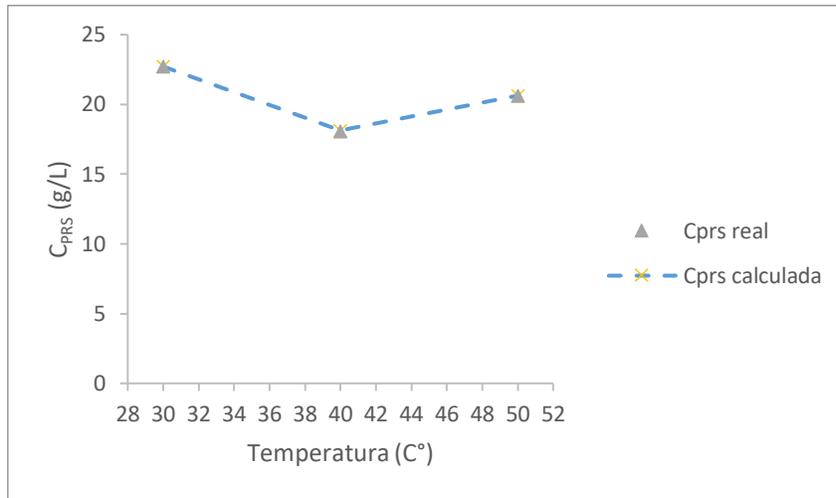
**Tabla 23. Ajuste de la constante  $C_{PRS}$  a un modelo de segundo orden, para la hidrólisis enzimática realizada a una  $R_{s/l}$  de 12.5%.**

T (°C)	CPRS real	Grado del término de la función			CPRS calculado	Error de valor real	Error de valor calculado	$r^2$
		0°	1°	2°				
		30	4.2416	- 134.573				
40	17.0636				17.0712	$5.7 \times 10^{-5}$	30.836	
50	13.2265				13.2261	$1.5 \times 10^{-7}$	2.9444	
<b>Promedio</b>	11.51057				<b><math>\Sigma</math> de cuadrados</b>	0.000829		

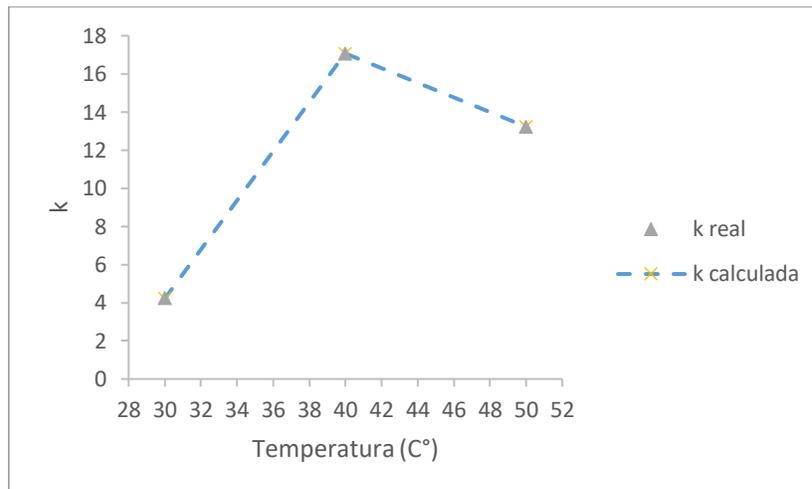
Las figuras 24, 25 y 26 presentan los ajustes obtenidos para las constantes de  $C_{PRS}$  mediante el modelo propuesto.



**Figura 24. Gráfica de aproximación de los valores de  $C_{PRS}$  con el modelo propuesto para una  $R_{s/l}$  de 7.5%.**



**Figura 25.** Gráfica de aproximación de los valores de  $C_{PRS}$  con el modelo propuesto para una  $R_{s/l}$  de 10%.



**Figura 26.** Gráfica de aproximación de los valores de  $C_{PRS}$  con el modelo propuesto para una  $R_{s/l}$  de 12.5%.

De igual manera, la constante  $k$  se determinó mediante la aproximación de un modelo de segundo orden para una  $R_{s/l}$  de 7.5 y 10.

$$k = aT^2 + bT + c$$

Para una  $R_{s/l}$  de 12.5, una ecuación de tercer orden fue aproximada, debido a que daba un mejor ajuste de los modelos planteados.

$$k = aT^3 + bT^2 + cT + d$$

En las tablas 19, 20 y 21 se muestra el método de mínimos cuadrados con el cual se obtuvo el valor de las constantes de la ecuación de segundo orden.

**Tabla 24. Ajuste de la constante  $k$  a un modelo de segundo orden, para la hidrólisis realizada a una  $R_{s/l}$  de 7.5%.**

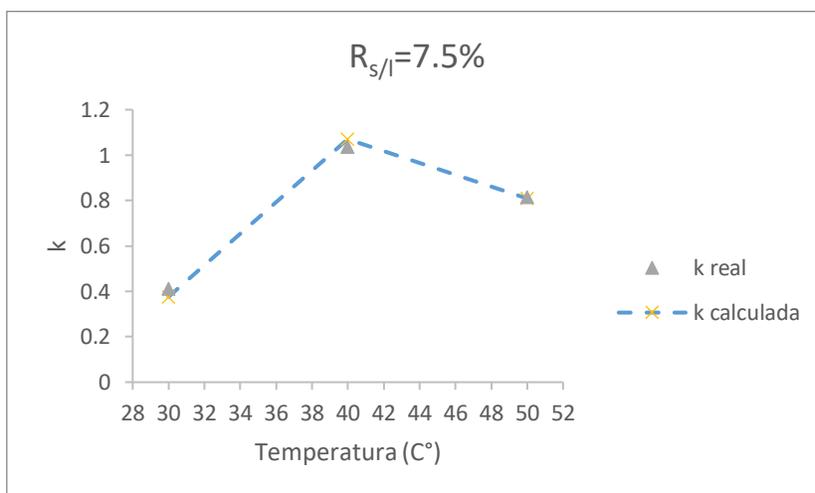
T (°C)	$k$ real	Grado del término de la función			$k$ calculado	Error de valor real	Error de valor calculado	$r^2$
		0°	1°	2°				
		c	b	a				
30	0.4124	- 7.440	0.4039	- 0.004	0.3761	0.116	0.14276839	0.9999
40	1.036				1.07	0.079	0.09989727	
50	0.8135				0.808	0.0035	0.0029289	
<b>Promedio</b>	23.4493				<b><math>\Sigma</math> de cuadrados</b>	0.1997	0.24559456	

**Tabla 25. Ajuste de la constante  $k$  a un modelo de segundo orden, para la hidrólisis realizada a una  $R_{s/l}$  de 10%.**

T (°C)	$k$ real	Grado del término de la función			$k$ calculado	Error de valor real	Error de valor calculado	$r^2$
		0°	1°	2°				
		c	b	a				
30	0.587	-153.27	8.1624	-0.004	0.5566	0.0009	16.31	0.9999
40	11.34				11.3673	0.0008	45.058	
50	1.952				1.9456	$5 \times 10^{-5}$	7.147	
<b>Promedio</b>	4.6261				<b><math>\Sigma</math> de cuadrados</b>	0.00179		

**Tabla 26. Ajuste de la constante  $k$  a un modelo de segundo orden, para la hidrólisis realizada a una  $R_{s/l}$  de 12.5%.**

T (°C)	$k$ real	Grado del término de la función				$k$ calculado	Error de valor real	Error de valor calculado	$r^2$
		0° c	1° b	2° a	3° d				
30	0.1289	-4x10 <sup>4</sup>	-4x10 <sup>4</sup>	-0.237	0.0126	0.236	0.0115	0.0166	0.98
40	25.714					25.818	0.0109	661.2	
50	0.8135					0.736	0.0059	0.661	
<b>Promedio</b>	11.51					<b><math>\Sigma</math> de cuadrados</b>	0.0284		



**Figura 27. Gráfica de aproximación de los valores de  $k$  con el modelo propuesto para una  $R_{s/l}$  de 7.5%.**

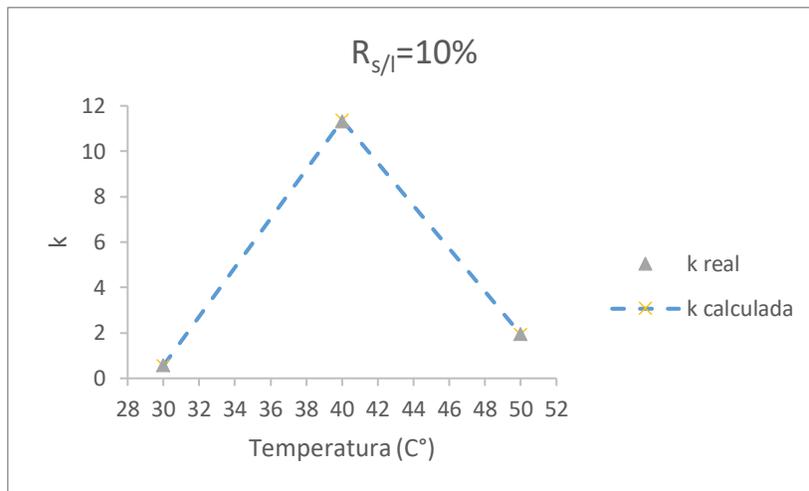


Figura 28. Gráfica de aproximación de los valores de CPRs con el modelo propuesto para una  $k$  de 10%.

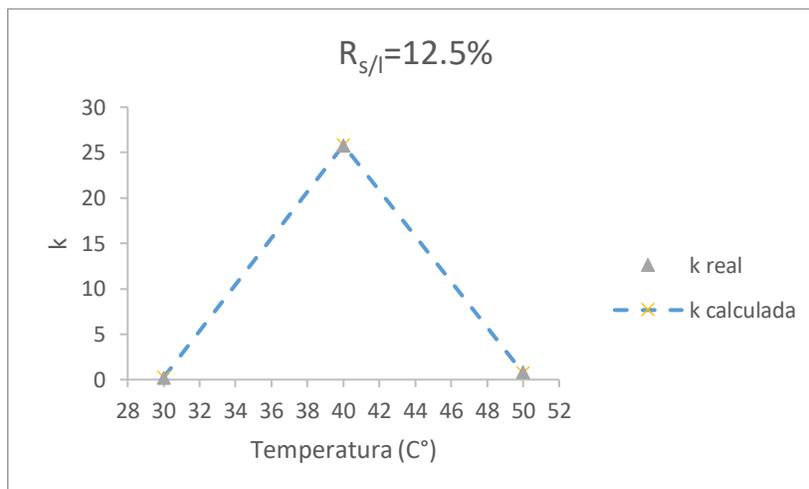


Figura 29. Gráfica de aproximación de los valores de CPRs con el modelo propuesto para una  $k$  de 12.5%.

## Anexo B: Trabajos generados

- Artículo para la revista MICA: Medina Morales, J. U., Sánchez Herrera, M. L., Hidalgo Millán, A., Jiménez Ruíz, E. I., Ruiz Sánchez, T. de J., Espinosa Rodríguez, M. A. y Delgado Delgado, R., (2018). Un estudio sobre el potencial del uso de residuos lignocelulósicos. *Matemáticas, Ingeniería y Ciencias Ambientales*, vol. 1, no.1 pp. 7-23.
- Resumen para la RTB: Medina Morales, J. U., Galván Limas, F., Sánchez Herrera, M. L., Hidalgo Millán, A., Castro Montoya, A. J. y Delgado Delgado, R., (2018). Estudio sobre la sacarificación del residuo lignocelulósico proveniente del procesamiento de jaca (*Artocarpus heterophyllus*). XIV Reunión de Redes de Energía.
- Artículo para la revista SOMI: Medina Morales, J. U., Galván Limas, F., Sánchez Herrera, M. L., Hidalgo Millán, A., Castro Montoya, A. J. y Delgado Delgado, R., (2018). Estudio sobre la sacarificación del residuo lignocelulósico proveniente del procesamiento de la jaca (*Artocarpus heterophyllus*). SOMI Congreso de Instrumentación, año 5, no.1 pp. 1-8.
- Resumen para Sociedad Mexicana de Bioquímica: Medina Morales, J. U., Sánchez Herrera, M. L., Hidalgo Millán, A., Jiménez Ruíz, E. I., Ruiz Sánchez y Delgado Delgado, R., (2018). Estudio sobre la sacarificación del residuo lignocelulósico proveniente del procesamiento de la jaca (*Artocarpus heterophyllus*). XXXII Congreso Nacional de Bioquímica.
- Resumen para la AMIDIQ: Medina Morales, J. U., Hidalgo Millán, A., Sánchez Herrera, M. L., Vargas Tah, A. A., Castro Montoya, A. J., Espinosa Rodríguez, M. A. y Delgado Delgado, R., (2019). Un estudio cinético de la sacarificación del residuo de jaca (*Artocarpus heterophyllus*). Vía química y enzimática. 40 Encuentro Nacional de la Academia Mexicana de Investigación y Docencia de Ingeniería Química.