



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

APROVECHAMIENTO DEL RAQUIS DE BANANO MEDIANTE  
HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA Y POLIETILENGLICOL PARA LA  
PRODUCCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES.

ORTEGA TORRES ISRAEL HERBER  
INGENIERO QUÍMICO

MACHALA  
2022



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

APROVECHAMIENTO DEL RAQUIS DE BANANO MEDIANTE  
HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA Y POLIETILENGLICOL PARA LA  
PRODUCCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES.

ORTEGA TORRES ISRAEL HERBER  
INGENIERO QUÍMICO

MACHALA  
2022



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

TRABAJO TITULACIÓN  
TRABAJO EXPERIMENTAL

APROVECHAMIENTO DEL RAQUIS DE BANANO MEDIANTE HIDRÓLISIS  
ENZIMÁTICA Y POLIETILENGLICOL PARA LA PRODUCCIÓN DE AZÚCARES  
REDUCTORES.

ORTEGA TORRES ISRAEL HERBER  
INGENIERO QUÍMICO

CARCHI TANDAZO TANYA ALEXANDRA

MACHALA, 22 DE SEPTIEMBRE DE 2022

MACHALA  
2022

# APROVECHAMIENTO DEL RAQUIS DE BANANO MEDIANTE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA Y POLIETILENGLICOL PARA LA PRODUCCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES

## INFORME DE ORIGINALIDAD

8%

INDICE DE SIMILITUD

7%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL  
ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://scielo.sld.cu">scielo.sld.cu</a> Fuente de Internet	<1 %
2	<a href="http://www.acvenisproh.com">www.acvenisproh.com</a> Fuente de Internet	<1 %
3	Submitted to Universidad Nacional de Trujillo Trabajo del estudiante	<1 %
4	<a href="http://es.scribd.com">es.scribd.com</a> Fuente de Internet	<1 %
5	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	<1 %
6	<a href="http://repositorio.unjfsc.edu.pe">repositorio.unjfsc.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
7	<a href="http://www.clubensayos.com">www.clubensayos.com</a> Fuente de Internet	<1 %
8	<a href="http://repositorio.uea.edu.ec">repositorio.uea.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %

## CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, ORTEGA TORRES ISRAEL HERBER, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado APROVECHAMIENTO DEL RAQUIS DE BANANO MEDIANTE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA Y POLIETILENGLICOL PARA LA PRODUCCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES., otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 22 de septiembre de 2022



ORTEGA TORRES ISRAEL HERBER  
0707058269

## **DEDICATORIA**

Primeramente agradezco a dios por permitirme culminar una meta más en mi vida , los cuales me han sabido guiar durante todo el proceso académico y que me permitan seguir cosechando nuevos metas en mi vida, que me den la paciencia necesaria , la inteligencia, sabiduría, entendimiento y la salud para poder lograr todos mis objetivos, a mi madre Carmen Estrella Torres Espinoza por enseñarme los valores los cuales me forjan y educan día a día, a mi padre, Luis Antonio Ortega Salazar por darme el carácter y el esfuerzo los cuales ambos me han enseñado el valor de la honrades y que siempre hay algo nuevo que aprender en la vida, a mi hermana por ser esa guía y apoyo desde pequeños la cual hemos visto en momentos difíciles, a mis hermanos Eder y David por ser esas personas que de alguna u otra manera me ayudaron en esas noches decisivas , a Jaqueline por ser una persona incondicional y por brindarme ese apoyo la cual siempre estuvo ahí. A mis compañeros y amigos futuros colegas las cuales hemos pasado por varias etapas en nuestras vidas y de manera muy especial por ser testigos del sacrificio y optimismo durando el proceso de estudio. A mi familia, amigos y colegas por brindarme su apoyo, aprecio y amor incondicional para que el día de hoy me sienta muy agradecido por cumplir una de mis más grandes metas en la vida. Obtener mi título de Ingeniero Químico.

*Israel Herber Ortega Torres*

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco primero a Dios todo poderoso por habernos dado la salud, sabiduría y fortaleza para saber guiarme durante la realización de este proyecto y en todo el proceso académico.

Agradecemos a nuestras familias por su apoyo incondicional, confianza y ser nuestra motivación principal para cumplir con nuestros propósitos.

Lic. Anabel Matamoros, Ing, Marta Porras, por la paciencia, dedicación y empeño al momento de impartir sus actividades como docente.

A mi tutor a la Ing. Tanya Carchi y a mi cotutor Ing. Byron Lapo al saber guiarnos en cada momento y a su vez la dedicación y paciencia que supieron manejar en momentos críticos y así el desarrollo de la investigación,

Por la calidad de personas que supieron ser los conserjes la facultad de Ciencias Químicas y de la Salud en todo el proceso del periodo académico.

Completamente agradecido

*Israel Ortega*

## **RESUMEN**

### **AUTORES:**

Egdo. Israel Herber Ortega Torres

### **TUTOR:**

Ing. Tanya Carchi. Mg. Sc.

### **COTUTOR:**

Ing. Byron Lapo. Mg. Sc.

En la actualidad los recursos no renovables son explotados para obtener fuentes energéticas las cuales amenazan a los seres vivos y al medio ambiente. Los métodos innovadores para producir bioenergías cada vez tienen mayor demanda dentro del campo investigativo. Estas biotecnologías tienen un propósito vital, el cual es mitigar el uso o efectos nocivos ocasionados por los recursos no renovables. Uno de los métodos a utilizar es mediante microorganismos y enzimas, que logran transformar e hidrolizar diferentes tipos de carbohidratos según su enlace: polisacáridos, monosacáridos y disacáridos; en azúcares de sustratos lignocelulósicos, que se pueden encontrar en diferentes tipos de residuos agrícolas.

El raquis de banano, es un subproducto que es generado durante la cosecha del banano, mismo que no es aprovechado o, no se le da un uso adecuado. Sin embargo, hoy en día, se lo puede utilizar como materia prima para la producción de azúcares fermentables, para la obtención de bioetanol aportando al desarrollo sostenible en la producción energética de los recursos renovables.

En la presente investigación se aprovechó el raquis de banano mediante hidrólisis enzimática y polietilenglicol para la producción de azúcares reductores. Se desarrolló un diseño factorial de  $2^2$ , es decir, 2 factores con 2 niveles cada uno. Teniendo las muestras A (PEG 0,1 g y enzima: 30 FPU), B (PEG 0,1 g y enzima 50 FPU), C (PEG 0,16 g y enzima 30 FPU) y D (PEG 0,16 g y enzima 50 FPU).

La hidrólisis enzimática se llevó a cabo bajo los siguientes parámetros de operación: temperatura de 40°C, buffer de citrato de sodio a pH = 4.8, cantidad de sustrato de 5%

p/v. Es necesario mencionar, que se tomaron muestras por la mañana y tarde en un lapso de 96 horas para determinar la producción de azúcares reductores, y, para leer la cantidad de glucosa se empleó el método DNS y longitud de onda de 540 nm.

Previamente se realizó una curva de calibración para leer glucosa, empleando el método del reactivo DNS. Teniendo una ecuación de la recta de  $y = 0,0005x - 0,0124$ .

Los resultados de la hidrólisis enzimática, demostraron que la muestra A (PEG 0,1 g y enzima 30 FPU) fue la que mayor producción de azúcares generó, siendo una concentración de  $7008 \text{ mg.L}^{-1}$ , esto en un lapso de 96 horas.

A la vez, el análisis de varianza (ANOVA) indicó que la interacción entre los factores AB, fue el que mayor significancia ocasionó que el factor A (PEG) y factor B (enzima). Esto quiere decir que, combinando enzima y PEG 4000, es la forma más óptima para la producción de azúcares. En el Diagrama de Pareto, se pudo demostrar que, el factor B (enzima) es el que seguidamente genera significancia al efecto AB y, el factor A (PEG 4000) fue el que menor significancia ocasionó en los experimentos de hidrólisis enzimática para la producción de azúcares reductores.

En conclusión, se puede establecer que, combinando el surfactante PEG con la enzima, se pudo obtener una mayor cantidad de azúcares reductores, empleando raquis de banano.

**Palabras claves:** Raquis de banano, DNS, hidrólisis enzimática, PEG 4000.

## **ABSTRACT**

### **AUTHORS:**

Egdo. Israel Herber Ortega Torres

### **TUTOR:**

Ing. Tanya Carchi. Mg. Sc.

### **COTUTOR:**

Ing. Byron Lapo. Mg. Sc.

Currently non-renewable resources are exploited to obtain energy sources which threaten living beings and the environment. Innovative methods to produce bioenergy are increasingly in demand within the research field. These biotechnologies have a vital purpose, which is to mitigate the use or harmful effects caused by non-renewable resources. One of the methods to be used is through microorganisms and enzymes, which manage to transform and hydrolyze different types of carbohydrates according to their link: polysaccharides, monosaccharides and disaccharides; in sugars from lignocellulosic substrates, which can be found in different types of agricultural residues.

The banana rachis is a by-product that is generated during the banana harvest, which is not used or is not used properly. However, today, it can be used as a raw material for the production of fermentable sugars, to obtain bioethanol, contributing to sustainable development in the energy production of renewable resources.

In the present investigation, the banana rachis was used by enzymatic hydrolysis and polyethylene glycol for the production of reducing sugars. A factorial design of 2<sup>2</sup> was developed, that is, 2 factors with 2 levels each. Having samples, A (PEG 0.1 g and enzyme: 30 FPU), B (PEG 0.1 g and enzyme 50 FPU), C (PEG 0.16 g and enzyme 30 FPU) and D (PEG 0.16 g and enzyme 50 FPU).

The enzymatic hydrolysis was carried out under the following operating parameters: temperature of 40 °C, sodium citrate buffer at pH = 4.8, amount of substrate of 5% w/v. It is necessary to mention that samples were taken in the morning and afternoon in a

period of 96 hours to determine the production of reducing sugars, and to read the amount of glucose, the DNS method and a wavelength of 540 nm were used.

Previously, a calibration curve was made to read glucose, using the DNS reagent method. Having an equation of the line  $y = 0.0005x - 0.0124$ .

The results of enzymatic hydrolysis showed that sample A (PEG 0.1 g and enzyme 30 FPU) was the one that generated the highest production of sugars, with a concentration of  $7008 \text{ mg.L}^{-1}$ , this in a period of 96 hours.

At the same time, the analysis of variance (ANOVA) indicated that the interaction between the AB factors was the one that caused greater significance than factor A (PEG) and factor B (enzyme). This means that, combining enzyme and PEG 4000, it is the most optimal form for the production of sugars. In the Pareto Diagram, it was possible to demonstrate that factor B (enzyme) is the one that subsequently generates significance to the AB effect and factor A (PEG 4000) was the one that caused the least significance in the enzymatic hydrolysis experiments for the production of reducing sugars.

In conclusion, it can be established that, by combining the PEG surfactant with the enzyme, a greater amount of reducing sugars could be obtained, using banana rachis.

**Keywords:** Banana rachis, DNS, enzymatic hydrolysis, PEG 4000.

## INDICE GENERAL

### Contenido

DEDICATORIA .....	I
AGRADECIMIENTO .....	II
RESUMEN.....	III
ABSTRACT .....	V
INDICE GENERAL .....	VII
INDICE DE TABLAS .....	X
INDICE DE FIGURAS.....	XI
INDICE DE GRAFICOS .....	XII
ÍNDICE DE ANEXOS.....	XIII
LISTADO DE ABREVIATURAS .....	XIV
INTRODUCCIÓN.....	15
OBJETIVOS.....	17
OBJETIVO GENERALES.....	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
CAPÍTULO I.....	18
1. MARCO TEORICO.....	18
1.1. Banano .....	18
1.1.1. Raquis de banano.....	19
1.2. Composición química del raquis de banano.....	19
1.2.1. Celulosa.....	20
1.2.2. Hemicelulosa .....	20
1.2.3. Lignina .....	21
1.2.4. Pared celular .....	22
1.3. Tratamientos de los residuos lignocelulósicos .....	22
1.3.1. Pretratamiento biológico .....	22
1.3.2. Pretratamiento Químico .....	22
1.3.3. Pretratamiento físico .....	23
1.4. Hidrolisis .....	23
1.4.1. Hidrolisis Química.....	23
1.4.2. Hidrolisis Física .....	24
1.4.3. Hidrolisis enzimática .....	24
1.5. Enzimas .....	24

1.5.1. Celulasa.....	25
1.6. Sacarificación .....	25
1.7. Surfactantes .....	26
1.7.1. Surfactantes aniónicos .....	26
1.7.2. Surfactantes no aniónicos.....	26
1.7.3. Surfactantes catiónicos.....	27
1.7.4. Surfactantes anfóteros.....	27
1.8. Análisis estadísticos .....	28
1.9. Diseño factorial.....	28
1.9.1. Diseño factorial 2 <sup>2</sup> .....	28
1.10. Análisis ANOVA .....	28
1.11. Diagrama de Pareto .....	29
1.12. Efectos .....	29
CAPITULO II.....	30
2. METODOLGÍA.....	30
2.1. Tipo de investigación .....	30
2.2. Recolección de la muestra.....	30
2.3. Ubicación de la muestra .....	30
2.4. Materiales, reactivos y equipo .....	30
2.4.1. Materiales.....	30
2.4.2. Equipos.....	31
2.4.3. Reactivos .....	31
2.5. Desarrollo experimental .....	32
2.5.1. Preparación de la muestra .....	32
2.5.2. Preparación de la reacción dinitrosalicílica DNS .....	33
2.5.3. Preparación de patrón de glucosa .....	33
2.5.4. Elaboración de la curva de calibración de glucosa.....	33
2.6. Diseño experimental .....	33
2.7. Hidrolisis enzimática .....	34
2.7.1. Pretratamientos .....	34
2.7.2. Preparación de buffer de citrato de sodio.....	35
2.7.3. Preparación de enzima Celulasa.....	35
2.7.4. Preparación de polietilenglicol (PEG) 4000.....	35
2.7.5. Experimentos de hidrolisis enzimática en presencia de PEG 4000.....	36
CAPITULO III .....	38

3. RESULTADOS.....	38
3.1 Curva de calibración de glucosa .....	38
3.2 Hidrolisis enzimática .....	39
3.2.1 Tasa de producción de azúcares reductores. ....	39
3.3 Análisis estadísticos .....	42
3.1.1. Análisis ANOVA.....	42
<b>3.3.2.</b> Diagrama de Pareto .....	43
3.3.1 Interacciones.....	44
CAPITULO IV .....	47
4. CONCLUSIONES .....	47
CAPITULO V.....	48
5. RECOMENDACIONES .....	48
BIBLIOGRAFIA .....	49
ANEXOS.....	55

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Modelos y aplicaciones de enzimas en la industria.....	25
<b>Tabla 2.</b> Diseño y experimentales.....	33
<b>Tabla 3.</b> Tabla de experimentos.....	34
<b>Tabla 4.</b> Ajuste estadístico.....	39
<b>Tabla 5.</b> Análisis ANOVA.....	42

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Partes de la planta de Banano -----	18
<b>Figura 2.</b> Moléculas de celulosa -----	20
<b>Figura 3.</b> Estructura molecular de la hemicelulosa. -----	21
<b>Figura 4.</b> Estructura de la lignina. -----	22
<b>Figura 5.</b> Diagrama de flujo del proceso del raquis de banano. Polvo -----	32
<b>Figura 6.</b> Diagrama de hidrolisis enzimática del banano -----	37
<b>Figura 7.</b> Curva de calibración con solución patrón para las muestras de raquis-----	38
<b>Figura 8.</b> Tasa de producción de azúcares en muestra A-----	39
<b>Figura 9.</b> Tasa de producción de azúcares en muestra B -----	40
<b>Figura 10.</b> Tasa de producción de azucares en muestra C -----	41
<b>Figura 11.</b> Tasa de producción de azucares en muestra D -----	42

## INDICE DE GRAFICOS

<b>Grafica 1.</b> Diagrama de Pareto .....	44
<b>Grafica 2.</b> Factor con PEG .....	45
<b>Grafica 3.</b> Factor con la enzima.....	45
<b>Grafica 4.</b> Interacción con enzima y PEG .....	46

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Pelado y troceado del raquis de banano .....	55
<b>Anexo 2.</b> Secado a 75 °C en la estufa .....	55
<b>Anexo 3.</b> Raquis de banano (polvo) .....	55
<b>Anexo 4.</b> Solución patrón de glucosa .....	56
<b>Anexo 5.</b> Espectrofotómetro de UV-VIS .....	56
<b>Anexo 6.</b> Preparación de solución patrón de lectura con el DNS .....	57
<b>Anexo 7.</b> Enzima cellulase blend.....	57
<b>Anexo 8.</b> Lectura de curva de calibración.....	57
<b>Anexo 9.</b> Tratamiento en la autoclave .....	58
<b>Anexo 10.</b> Tratamiento con hidróxido de sodio a 1.5% .....	58
<b>Anexo 11.</b> Antes de la hidrolisis enzimática con PEG 4000 y enzima.....	59
<b>Anexo 12.</b> Incubadora a 40°C .....	59
<b>Anexo 13.</b> Toma de muestra de la incubadora .....	59
<b>Anexo 14.</b> Muestra para la lectura en el espectrofotómetro de UV-VIS con DNS.....	60

## **LISTADO DE ABREVIATURAS**

**PEG:** Polietilenglicol

**MS:** material seco

**MAG:** Ministerio de agricultura y ganadería

**CEB:** Cellulase, enzima blend

**DNS:** Ácido 3,5 dinitrosalicílico

## INTRODUCCIÓN

Desde hace años el desarrollo industrial ha tenido un crecimiento abrumador, provocando consecuencias irreparables. Dando origen a la explotación de recursos no renovables, energéticos basados en combustibles fósiles, generando, efectos negativos en el ecosistema<sup>1</sup>.

Las aplicaciones de procesos para la obtención de azúcares no eran convenientes hace tiempo atrás, a pesar que existe abundante demanda de cierta materia prima no renovable<sup>2</sup>. Actualmente, las nuevas fuentes de energía renovable denominadas bioenergía están teniendo un gran avance, con el objetivo de reemplazar poco a poco los combustibles convencionales y contribuir a la diversificación energética, la protección del medio ambiente y la aplicación de nuevas tecnologías energéticas.

Siendo Ecuador un gran productor agrícola y el cual es una fuente rica en materia lignocelulósica. Se estima que el 30 % de la cosecha mundial de banana viene directamente de Ecuador para el mundo<sup>3</sup>.

Los residuos de la planta de banano se estiman en 100 kg, la cual se compone de 5 kg del pseudotallo, 15 kg de hojas, y en baja composición, 2 kg de raquis. Los cuales son desechados como residuos o como compost, sin tener ningún tratamiento antes de su deposición final<sup>4</sup>. Engloba un 67% en la producción final en residuos los cuales son fuente de contaminación para el medio ambiente.

Si se utilizara una tecnología adecuada para el aprovechamiento de la biomasa. Las bananeras se verán beneficiadas al tratar estos residuos y al tener una alternativa económica la cual permite generar bioenergía y a su vez la producción de azúcares fermentables.

En los estudios se observa que la relación que tiene la enzima con el PEG 4000 causa un efecto positivo en cuanto a la estabilidad de la celulase la cual es sensible a cualesquiera cambios, la actividad enzimática perduró en la solución durante 96 h de hidrolisis enzimática. Cuando se complementa el PEG con la enzima causa un método eficaz para incrementar la digestibilidad de la biomasa celulósica, a su vez permite que el proceso sea más orgánico al momento de realizar la hidrolisis<sup>5</sup>.

La presente investigación tiene como objeto de estudio el aprovechamiento del raquis de banano empleando una hidrólisis enzimática para la producción de azúcares reductores con un surfactante.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERALES**

Aprovechar el raquis de banano mediante hidrólisis enzimática y polietilenglicol para la producción de azúcares reductores.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Obtener raquis de banano, como materia prima, para la producción de azúcares reductores.
- Producir azúcares reductores mediante hidrólisis enzimática modificada con PEG.
- Analizar y revisar los resultados obtenidos en la sacarificación del raquis de banano mediante lecturas en el Espectrofotómetro UV-VISIBLE.

# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEORICO

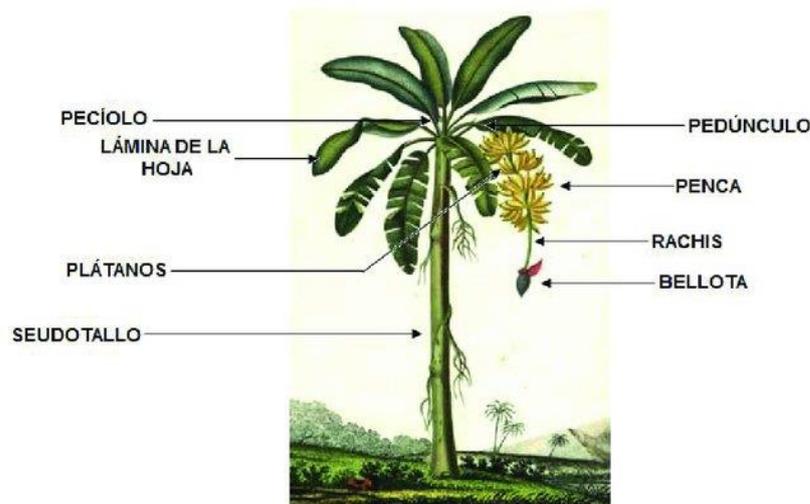
### 1.1. Banano

El cuidado y preservación del medio ambiente ha sido enfatizado en los últimos años, Por el impacto negativo de la generación y acumulación de subproductos agrícolas que afectan, a la sociedad en general<sup>6</sup>.

El banano tiene un tallo floral conocido como raquis o pinzote, obtenido como desecho agrícola de la cosecha del banano<sup>7</sup>. Es arrojado a las plantaciones como fertilizante, pero produce microorganismos contaminantes por no ser preprocesado<sup>8</sup>. Ecuador es un país agrícola, y en los últimos años el cultivo de banano se ha convertido en una importante fuente de exportaciones. La composición de la planta de banano se puede observar en la figura 1.

Según datos del Ministerio de Comercio Exterior del Ecuador a través de registros del Ministerio de agricultura y ganadería (MAG), El país cuenta con un promedio de 162.236 hectáreas de plantaciones de banano y productores de banano 4.473. Alrededor del 42% son productores de la región costera ubicada en la provincia de El Oro, con variedades cavendish, orito y filipina, los principales productores de banano del Ecuador están situados en la provincia del Guayas y Los Ríos<sup>9</sup>.

**Figura 1.** Partes de la planta de Banano



**Fuente:** <sup>7</sup>

Ecuador ha sido líder en exportaciones de banano, ahora representa el 26% de las exportaciones a nivel mundial<sup>10</sup>.

La industria agrícola es la responsable de la generación de residuos provenientes de raíces, pseudotallos, hojas y demás partes de la planta; estos subproductos provienen del café, banano, arroz, etc<sup>11</sup>

El banano se considera uno de los productos más producidos en la región occidental, este genera un aproximado de 25 millones de toneladas de residuos lignocelulósicos a general<sup>12</sup>.

Los residuos orgánicos que se generan en la producción del banano son altas, debido a que el fruto es el de valor agregado, y la mayor parte de la plantación se queda como desperdicio, lo cual está generando problemas ambientales.

Los residuos del banano son una fuente de celulosa, azúcares, almidón, bioetanol, entre otros, que mediante técnicas y/o tratamientos químicos<sup>11</sup>.

### *1.1.1. Raquis de banano*

En comparación con otros componentes del banano, el raquis de banano es uno de los residuos agroindustriales más importantes por su variedad de procesos que pueden aplicarse. La mayor parte de esta materia prima se desecha durante la etapa de cosecha, pero no son aprovechadas adecuadamente ya que después de extraer los racimos, se depositan esencialmente en el suelo de la plantación hasta que se produce la biodegradación<sup>13</sup>.

El raquis de banano puede ser empleado como fuente de alimento para animales, biofertilizante, compost y productos de valor agregado como fuentes bioenergéticas e industriales<sup>9</sup>.

## **1.2. Composición química del raquis de banano**

El raquis de banano es una valiosa fuente de energía y materias primas, el cual está compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina. Los métodos de extracción actuales para estos compuestos son muy efectivos, pero no están del todo exentos de inconvenientes, como un alto consumo de energía y agua y el uso de productos químicos potencialmente tóxicos<sup>14</sup>.

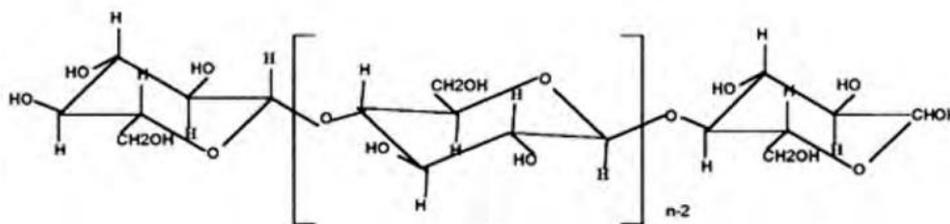
La composición de los residuos lignocelulósicos consta de tres componentes celulosa (10-13%), hemicelulosa (0,20-40%), lignina (16 del 45%) compuesta por estructuras tridimensionales complejas y uniformes<sup>15</sup>.

### 1.2.1. Celulosa

La celulosa es un polisacárido que es caracterizada por tener un resultado eficiente en porcentaje en peso. El raquis de banano forma varias cadenas largas de glucosa con enlaces  $\beta$ -1,4<sup>16</sup>. Los derivados de la glucosa tienen distintas aplicaciones por ser biodegradables, la celulosa se asocia a las extensas cadenas mejorando su capacidad en los procesos de bioadsorción<sup>17</sup>. Su estructura molecular se la observa en la figura 2.

La celulosa se encuentra en la pared de células vegetales en el raquis de banano dando firmeza y estabilidad, esta se encuentra como una red de microfibrillas rodeadas de polímeros como la hemicelulosa y lignina<sup>18</sup>.

**Figura 2.** Moléculas de celulosa

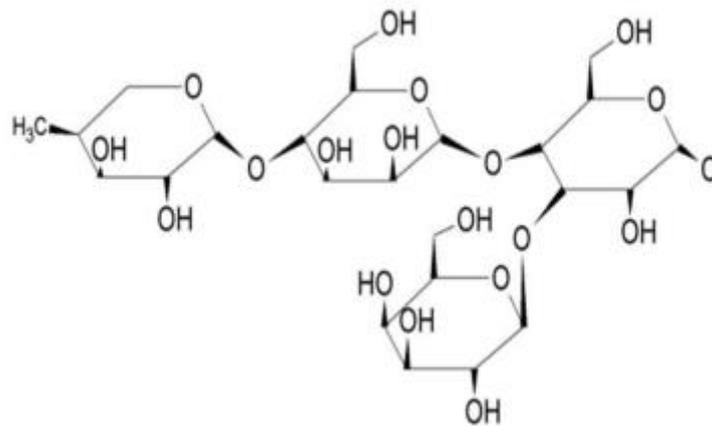


**Fuente:** <sup>16</sup>

### 1.2.2. Hemicelulosa

La hemicelulosa es el segundo polímero más abundante en el raquis del banano, se ha caracterizado como una fuente biológica de gran interés después de la celulosa y constituye el 25% en el raquis de banano<sup>19</sup>. La hemicelulosa se encuentra alrededor de las fibras pequeñas de la médula espinal, en la figura 3 la estructura molecular de la hemicelulosa. Existen varios métodos de extracción química, tales como: extracción alcalina, extracción soluble en ácido y extracción de líquido iónico<sup>20</sup>.

**Figura 3** Estructura molecular de la hemicelulosa.



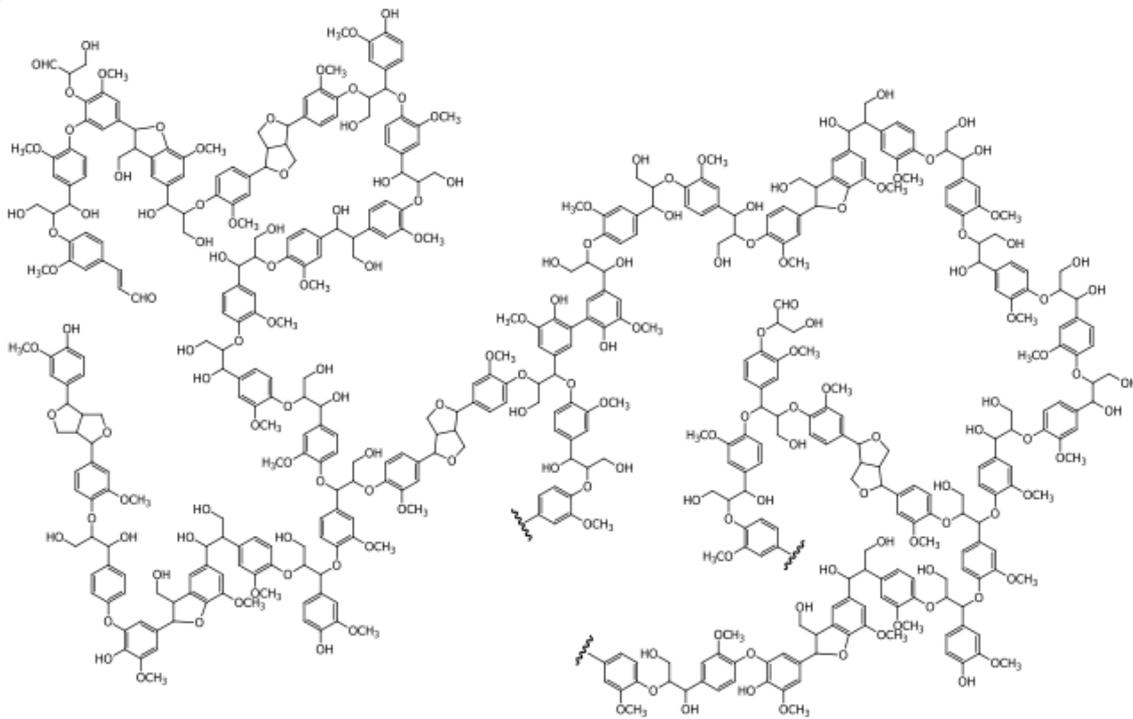
**Fuente:** <sup>21</sup>

### 1.2.3. Lignina

La lignina es parte del raquis de banano y el más abundante biopolímero seguido a la celulosa y hemicelulosa, los rangos que pueden encontrar son: celulosa: 38-50%; hemicelulosa: 23-32% y lignina: 15-25%, su función es conservar el enlace de la celulosa y hemicelulosa<sup>22</sup>.

Principalmente se las puede encontrar en plantas vasculares y a su vez las aplicaciones se las emplean en: preparar compuestos aromáticos y energía como combustibles, en la figura 4 se observa la estructura molecular de la lignina<sup>23</sup>.

**Figura 4** Estructura de la lignina.



**Fuente:** <sup>22</sup>

#### 1.2.4. Pared celular

Es parte de la planta de banano y se la puede encontrar es una capa externa la cual otorga resistencias estructurales jerárquicas. La pared celular se compone de polímeros, que al final esta se compone de celulosa, hemicelulosa y lignina<sup>24</sup>.

### 1.3. Tratamientos de los residuos lignocelulósicos

#### 1.3.1. Pretratamiento biológico

El pretratamiento biológico se utiliza como inhibidor principalmente de los agentes patógenos, sin embargo, hay distintos pretratamientos que pueden ser empleados en la biomasa, como son: enzimáticas y microorganismos la cual actúa para el desdoblamiento de la celulosa. La lignina tiene una barrera la cual no permite ingresar a la pared celular para ello se siguen estos procesos para impregnar a la celulosa y hemicelulosa<sup>25</sup>.

#### 1.3.2. Pretratamiento Químico

Existen efectos químicos que se desarrollan mediante el estudio de agentes oxidantes, álcali, ácidos y sales que son utilizados para la eliminación y alteración de la lignina, hemicelulosa y celulosa. De esta manera se está logrando arrancar a la red de

hemicelulosa de la lignina. Es primordial la prominencia de los poros para agrandar el área de la superficie en el interior y reducir la calidad de polimerización y cristalinidad<sup>26</sup>.

Existen métodos primitivos con ácido diluido entre los cuales se tiene el ácido sulfúrico, ácido oxálico y maleico. También con álcali blando como el hidróxido de sodio, hidróxido de potasio e hidróxido de amonio<sup>27</sup>.

### *1.3.3. Pretratamiento físico*

La principal razón para tratar la biomasa por métodos mecánicos es la disminución de la cristalinidad, el tamaño de las partículas y el grado de polimerización. La hidrólisis enzimática se puede facilitar alterando la estructura de la biomasa aplicando estrés mecánico sin agregar reactivos químicos o biológicos para agrandar el área superficial de la celulosa<sup>28</sup>.

El pretratamiento físico aumenta el tamaño de los poros y somete la cristalinidad y el grado de polimerización de la celulosa. Los tratamientos físicos comúnmente utilizados para degradar los restos lignocelulósicos incluyen la vaporización, la trituración y la molienda, la irradiación, la temperatura y la presión<sup>28</sup>.

## **1.4. Hidrolisis**

### *1.4.1. Hidrolisis Química*

La forma más fácil de hidrolizar químicamente la celulosa a glucosa es utilizando un catalizador ácido. Los polímeros de celulosa están estructurados por monómeros de glucopiranosilo unidos por enlaces  $\beta$ -(1,4)-glucosídicos<sup>29</sup>, sin embargo, los enlaces pueden romperse en presencia de catalizadores ácidos. La hidrólisis de celulosa puede ser catalizada químicamente en varios períodos y, a veces, se combina con niveles de fermentación biocatalítica para transformar azúcares en compuestos químicos de alto valor agregado<sup>30</sup>.

Los procesos que realizan los ácidos concentrados (Ácido sulfúrico al 71%, ácido clorhídrico al 41 % (p/v) con las variación de temperatura se pueden obtener otros rendimientos de hidrolisis superiores al 90%<sup>31</sup>.

#### *1.4.2. Hidrolisis Física*

El agua subcrítica es conocida como uno de los solventes ecológicos para materiales orgánicos para diversas aplicaciones industriales y comerciales. Varias propiedades del agua, como la viscosidad, la difusividad, la polaridad y la densidad, cambian con el aumento de la temperatura<sup>30</sup>. Dichos cambios en las propiedades termo físicas ayudan al agua subcrítica a llevar a cabo varios tipos de transformaciones químicas, como la transferencia de masa eficiente y las reacciones de hidrólisis. El agua subcrítica es el estado del agua entre 100 °C (ebullición) y 374 °C (punto crítico) en condiciones de presión (0,1 a 22 MPa). El cambio de la acción del agua en estados debido a la acción de la temperatura y la presión<sup>32</sup>.

#### *1.4.3. Hidrolisis enzimática*

Este proceso se basa en la descomposición del sustrato o materia orgánica en presencia de una enzima es surge después de la reacción con el agua. Esto se ha llevado a cabo en los últimos años a las grandes industrias. La cual se lo realiza en un biorreactor de membrana enzimática de flujo continuo en industrias alimentarias (EMBR) para obtener productor de valor agregado<sup>33</sup>.

El funcionamiento junto con el raquis de banano es cuando se le adicionan las celulasas para que esta hidrolice el sustrato lignocelulosa para la obtención de azúcares fermentables<sup>34</sup>.

### **1.5. Enzimas**

Las enzimas son proteínas procedentes de las células de los organismos vivos activos, como catalizadores biológicos de las reacciones químicas necesarias para la vida. El uso de enzimas correspondientes se considera la estrategia más viable que ofrece una ventaja sobre las rutas de conversión química de alto rendimiento, Mínima formación de subproductos, bajos requerimientos energéticos, manejo moderado y manejo respetuoso con el medio ambiente<sup>35</sup>. Con respecto a la tabla 1. se puede observar los modelos y aplicaciones en las cuales se emplea.

**Tabla 1** Modelos y aplicaciones de enzimas en la industria.

<b>Campo industrial</b>	<b>Aplicaciones</b>	<b>Enzimas específicas</b>
Biorremediación	Degradación de pesticidas tóxicos contaminantes.	hidrolasas
Biotecnología	Manipulación de ADN	Polimerasas, ligasas
Química	Síntesis de productos naturales y químicos fríos	varios
Productos de limpieza	quitamanchas	Lipasas, amilasas, celulasas, proteasas
Alimenticia y aceites	Estabilizante, espesamiento ablandamiento.	varios
Medicina	Tratamiento terapéutico	esterasas
Pasta y papel	Destintado, procesamiento	Amilasas, celulasas, milanasas
farmacéutica	Producto farmacéutico e intermedios	Proteasas, celulasas, amilasas.

**Fuente:** <sup>36</sup>.

### *1.5.1. Celulasa*

Las celulasas y hemicelulosas son utilizadas comúnmente en biocombustibles desarrollados para el proceso de azúcares fermentables los cuales son obtenidos por hidrólisis gracias a materiales lignocelulósicos. Estos cuidan y reducen la cantidad de agua para aumentar la producción total de etanol, el desarrollo de nuevos equipos, y la tecnología de reciclaje y cócteles celulósicos se han procesado o fusionado para convertir granos de maíz en glucosas fermentables para la obtención de etanol y así asegurar una fuente vital u alternativa en el aprovechamiento de materiales no aprovechados<sup>37</sup>.

### **1.6. Sacarificación**

La sacarificación es un proceso alternativo el cual permite que los microorganismos consuman la glucosa obtenida por la enzima hidrolizada<sup>38</sup>. Para hidrolizar la lignocelulosa, la sacarificación es un requerimiento previo hacia la biorrefinería<sup>39</sup>.

La adición con surfactante y celulasa en combinación tiene un aumento en el porcentaje de azúcares reductores y un aumento en la carga de sustrato<sup>1</sup>.

En este proceso se utiliza materia prima de bajo costo, los residuos orgánicos abarcan este proceso sin embargo los residuos agrícolas tienen un alto contenido de material

lignocelulósico el cual puede hidrolizarse obteniendo azúcares reductores o azúcares fermentables (glucosa, fructosa, maltosa, etc)<sup>27</sup>.

## **1.7. Surfactantes**

### *1.7.1. Surfactantes aniónicos*

Los surfactantes aniónicos se definen por ser sales de sodio, que al momento de entrar al proceso de ionización producen iones positivos de sodio y negativos. Entre los principales se tiene al sulfonato de alquil benceno, sulfonato de alquilo lineal y sodio tripolifosfato. Cada uno de ellos se distingue por su estructura molecular, toxicidad y biodegradabilidad, estos son utilizados dentro de la industria en la producción de espumantes, en metalurgia, explotación minera, tratamiento de aguas y producción de papel. Existe un especial interés en los últimos tiempos de los tensoactivos aniónicos. Estos complejos inhabilitan la degradación biológica de ciertas sustancias presentes en el agua<sup>40</sup>.

### *1.7.2. Surfactantes no aniónicos*

Los alcoholes grasos, éteres de poliglicol de alcoholes grasos o polietilenglicol éteres, con una estrecha distribución de homólogos, también conocidos como etoxilados de rango estrecho, son tensoactivos no iónicos conocidos, que se producen industrialmente<sup>40</sup>.

En la industria tienen el segundo lugar en cuando a su función, con una aproximación del 45 % de la producción. Estos no se ionizan en solución acuosa, porque su grupo hidrófilo es de tipo no dissociable, como el alcohol, el fenol, el éter, el éster o la amida. Los tensoactivos no iónicos se vuelven hidrófilos por la presencia de una cadena de polietilenglicol, obtenido por la policondensación del óxido de etileno. Se denominan no iónicos polietoxilados. En la última década, se han introducido en el mercado grupos de cabeza de glucósidos, por su baja toxicidad. En lo que se refiere al grupo lipofílico, a menudo es del tipo alquilo o tipo de alquilbenceno, el primero procedente de ácidos grasos de origen natural. La policondensación del óxido de propileno produce un poliéter que (en oposición al óxido de polietileno) es ligeramente hidrofóbico<sup>41</sup>.

#### *1.7.2.1. Polietilenglicol (PEG)*

El polietilenglicol, PEG para abreviar, es un polímero químicamente inerte, soluble en agua, no absorbible y no tóxico que es líquido o sólido según la longitud de la cadena. Los polietilenglicoles de alto molar son prácticamente no reabsorbibles y tienen un fuerte

efecto osmótico porque se unen al agua a través de enlaces de hidrógeno en forma de capas de hidratación. También conocido como macro gol. Este es un polímero, es decir, una sustancia química que es la base para la producción de plástico<sup>42</sup>.

El PEG tiene un papel fundamental en la hidrolisis que consiste en ser un método eficiente para los materiales lignocelulósicos, este es empleado para la recuperación de la enzima para que actúe en el proceso de hidrolizar el sustrato<sup>43</sup>.

Hay muchos tipos de PEG que difieren en la longitud de su cadena y, por lo tanto, en su peso molecular. Eso significa que PEG viene en forma líquida, sólida o soluble en agua. El PEG tiene una amplia gama de usos, incluso en medicamentos y en dispositivos médicos como apósitos para heridas e hidrogeles<sup>44</sup>.

Los PEG se utilizan incluso en alimentos, por ejemplo, como conservantes<sup>45</sup>.

### *1.7.3. Surfactantes catiónicos*

Los surfactantes catiónicos se distinguen por su disociación en agua con un catión anfifílico y un anión, más a menudo del tipo halógeno. Una proporción muy grande de esta clase corresponde al nitrógeno. Compuestos tales como sales de aminas grasas y amonios cuaternarios, con uno o varios de cadena larga del tipo alquilo, muchas veces provenientes de ácidos grasos naturales. Estos tensioactivos son en general más caros que los aniónicos, debido a la reacción de hidrogenación a alta presión que se lleva a cabo durante su síntesis<sup>46</sup>.

### *1.7.4. Surfactantes anfóteros*

Cuando una sola molécula de surfactante presenta disociaciones tanto aniónicas como catiónicas, es llamado anfótero. Este es el caso de productos sintéticos como betaínas o sulfobetaínas y sustancias naturales como aminoácidos y fosfolípidos. Algunos tensioactivos anfóteros son insensibles al pH, mientras que otros son catiónicos a pH bajo y aniónico a pH alto, con un comportamiento anfótero a pH intermedio. Los tensioactivos anfóteros son generalmente bastante caros, y en consecuencia, su uso se limita a aplicaciones muy especiales como los cosméticos donde su alta compatibilidad biológica y baja toxicidad es de primordial importancia<sup>47</sup>.

## **1.8. Análisis estadísticos**

El procesamiento estadístico se puede demostrar de una forma más clara, aquel sea un fenómeno que no se puede ver de forma fragmentaria si se mide, investiga, clasifica y resume por ciertas propiedades o elementos. Se puede encontrar una ley común o regularidad de todo el fenómeno, es decir, descubre una regla inherente, Este es el concepto general de estadística y a este proceso se lo puede llamar análisis estadístico. Por ejemplo, es posible presentar la base para la mejora de calidad mediante la evaluación de los datos de conteo de defectos de los productos industriales o establecer una modelo de planes<sup>48</sup>.

En los últimos años los conceptos y anti métodos estadísticos han sido más demandados en varios campos junto con la difusión de las computadoras por las siguientes dos razones; en primer lugar, dado que se recopila, procesa, difunde y transmite al público una gran cantidad de datos que no se pueden manejar fácilmente<sup>48</sup>.

## **1.9. Diseño factorial**

Lo principal que el diseño factorial estudia son los efectos que esta puede ocasionar ya sea varios factores en uno o más resultados. Siempre y cuando tengan los mismos factores. El objetivo particular que tiene este diseño es la combinación de niveles en los factores en el cual resulte el mejor desempeño<sup>49</sup>.

Existen varios tipos de factores como por ejemplo el cualitativo y el cuantitativo.

### *1.9.1. Diseño factorial 2<sup>2</sup>*

Este diseño consta de la combinación de cuatro experimentos o puntos experimentales ya sea en tratamientos que pueden ser de diferentes maneras. Se parte del diseño  $n^k$  donde  $k$  son los factores y  $n$  indica los niveles que este tiene (el número de corridas o replicas la investigación tenga. Por lo que , para el diseño  $2^2$ , indica que está compuesto de 2 factores y, cada factor tiene 2 niveles<sup>50</sup>.

## **1.10. Análisis ANOVA**

El ANOVA es utilizado para comprobar si hay una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de una o más muestras o conjuntos de muestras en el mismo análisis. Este método utiliza un procedimiento la cual consiste en la comparación de valores según la varianza global de las muestras que se comparan. Por lo general, este

análisis se utiliza para relacionar las probabilidades con la conclusión de que las medias de dos o más poblaciones son diferentes<sup>51</sup>.

El propósito del análisis se fundamenta en dividir la variabilidad total en diferentes partes, una de las cuales se debe a la variabilidad de diferentes poblaciones y la otra se debe a la variabilidad de las observaciones<sup>51</sup>.

Este análisis se lo realiza de manera global o específica a una población o a lo que se requiere analizar, esto es común para verificar alguna concordancia entre varios resultados, es un método estadístico la cual consiste en verificar resultados de medición que son obtenidos de la investigación, también se puede realizar observaciones con diferentes valores nominales, pero con la misma magnitud que se está analizando, luego se podrá hacer una variación en un ANOVA. Al final los resultados se comparan con los resultados del error y se presentan algunas validaciones de dichos resultados<sup>52</sup>.

### **1.11. Diagrama de Pareto**

El diagrama de Pareto, es nombrado también como principio de esparcida de efectos, esta sirve para observar irregularidades en una investigación o en un proceso en las industrias, es una gráfica que permite denotar información a escala de mayor o menos relevancia, permitiendo conocer entre las causas más importantes de un problema<sup>53</sup>.

### **1.12. Efectos**

Los efectos o interacciones como son llamados, analizan los datos que se obtiene en una investigación o en un proceso, de manera que esta ayuda a mejorar su desempeño. Los efectos tienen un papel de probabilidad más complicado de apreciar, pero se dice que es mejor que el de Pareto, para saber cuáles de esos efectos son positivos o negativos<sup>49</sup>.

## CAPITULO II

### 2. METODOLGÍA

#### 2.1. Tipo de investigación

La presente investigación se desarrollará mediante análisis experimentales y analíticos.

#### 2.2. Recolección de la muestra

La materia prima utilizada fue el raquis de banano, la cual fue obtenida en la bananera de la Universidad Técnica de Machala.

#### 2.3. Ubicación de la muestra

La presente investigación fue desarrollada en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud de la Universidad Técnica de Machala (UTMACH).

#### 2.4. Materiales, reactivos y equipo

##### 2.4.1. Materiales

- Balones volumétricos (25 ml; 100 ml; 1000 ml).
- Bureta volumétrica (25 ml).
- Erlenmeyer (250 ml).
- Probetas (50 ml).
- Vasos de precipitación (25 ml; 50 ml; 100 ml; 250 ml; 600 ml; 1000 ml).
- Tubos centrífugos (15 ml de capacidad).
- Tubos centrífugos (45 ml de capacidad).
- Espátulas.
- Embudos de vidrio.
- Vidrio de reloj.
- Micro pipeta (1000  $\mu$ L)
- Pipetas graduadas.
- Pipetas aforadas.
- Papel filtro.
- Puntas para micropipetas.
- Varilla de vidrio.
- Jeringa.

- Fundas herméticas.
- Papel aluminio.
- Tubos de ensayos 10 ml.
- Soporte Universal.
- Papel filtro.
- Gradillas.
- Pera volumétrica.

#### 2.4.2. Equipos

- Estufa (MEMMERT VN6400 4051785)
- Agitador magnético
- Agitador orbital (CIMAREC)
- Balanza (SHIMADZU AUX 200)
- Desecador
- pH metro (METTLER TOLEDO)
- Incubadora MEMMERT®
- Autoclave (STEROCLAVE 25X-1)
- Cocineta
- Centrifuga DYNAC®
- Espectrofotómetro de UV-Visible (SHIMADZU UVmini-1240)

#### 2.4.3. Reactivos

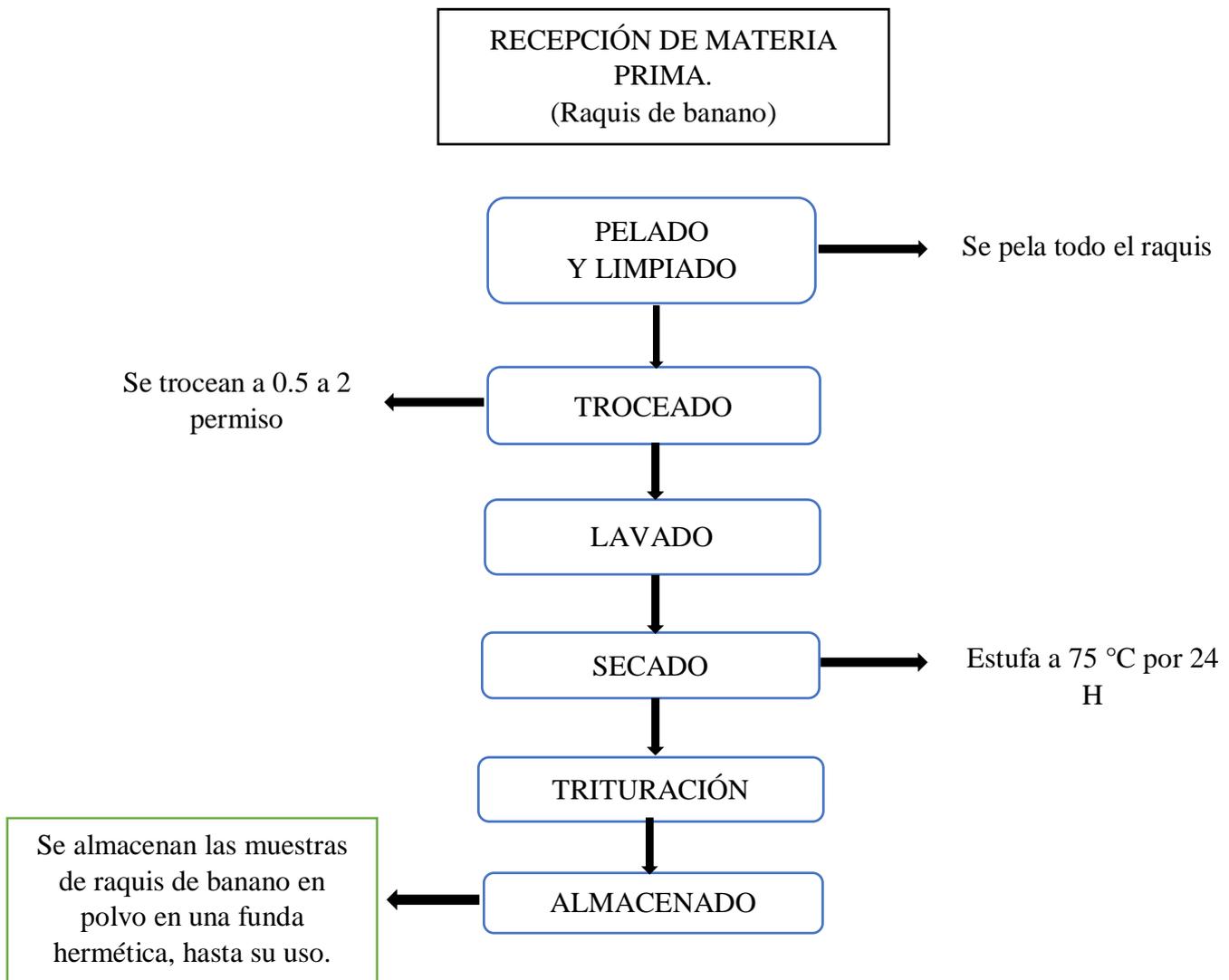
- Polietilenglicol (PEG 4000;  $C_{2n+2}H_{4n+6}O_{n+2}$ )
- Ácido Nítrico ( $HNO_3$ )
- Hidróxido de sodio (NaOH, pureza: 98,8 %)
- Citrato de Sodio ( $Na_3C_6H_5O_7$ )
- Glucosa ( $C_6H_{12}O_6$ )
- Cellulase, enzyme blend
- 3,5 ácido Dinitrosalicílico (DNS;  $C_7H_4N_2O_7$ )
- Tartrato de sodio y potasio ( $NaKC_4H_4O_6 \cdot 4 H_2O$ )
- Agua destilada

## 2.5. Desarrollo experimental

### 2.5.1. Preparación de la muestra

Se cortaron los racimos de banano para obtener el raquis, seguidamente se lo procedió a lavar con agua destilada para la eliminación de cualquier partícula presente. Se troceó en pedazos el raquis de banano en aproximadamente 0.5 a 2 centímetros; posteriormente se lo llevó a una estufa a 75°C por 24 h, al final, se molió en un molino mecánico para disminuir el tamaño de partícula; finalmente se lo almacenó en fundas térmicas para aislar la humedad del material. En la figura 5 se puede observar el diagrama de flujo de la preparación de la muestra.

**figura 5** Diagrama de flujo del proceso del raquis de banano. Polvo



**Fuente.** Elaboración propia

### 2.5.2. Preparación de la reacción dinitrosalicílica DNS

Se procedió a pesar en una balanza analítica los reactivos mencionados a continuación, 3 g de 3,5 dinitrosalicílico (DNS), 150 g de tartrato de Na-K y 8 g de NaOH. Se procedió a disolver el NaOH en 200 ml de agua destilada, luego se añadió el tartrato de Na-K paulatinamente hasta su disolución. Se le agrega agua destilada hasta que complete los 400 ml y al final se añade el ácido 3,5 dinitrosalicílico. Esta solución se dejó en agitación toda la noche y se enrasó con agua destilada hasta completar un volumen total de 500 ml<sup>54</sup>.

### 2.5.3. Preparación de patrón de glucosa

Se procedió a calcular la solución patrón para obtener una concentración de 1000 ppm (mg. L<sup>-1</sup>), para ello se pesó 0.102 gr de glucosa al 98% y se disolvió en 100 mL de agua, el cual servirá como solución patrón para preparar disoluciones de la misma.

Se prepararon disoluciones de glucosa en diferentes concentraciones: 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm y 1000 ppm.

### 2.5.4. Elaboración de la curva de calibración de glucosa.

Los experimentos se realizaron en tubos de ensayo de 10 ml, al cual se le añadieron una alícuota de 0.5 ml de muestra (disolución de glucosa) y 0.5 ml del reactivo preparado DNS del apartado 2.5.2. Luego, fueron colocados en baño de agua a una temperatura de 100 °C durante 5 min. Se enfrió las muestras hasta temperatura ambiente y, se agregaron 5 ml de agua destilada. Al final se homogenizó y se leyó en el espectrofotómetro de UV-VIS a una longitud de onda de 540 nm<sup>55</sup>.

## 2.6. Diseño experimental

Para llevar a cabo la parte experimental de la hidrólisis enzimática, se realizó un diseño factorial de 2<sup>2</sup>. Los factores y niveles se describen en la tabla 2.

**Tabla 2.** Diseño y experimentales

FACTORES	NIVELES	
A: PEG (g)	0,1	0,16
B: Enzima (FPU)	30	50

Fuente:<sup>56</sup>.

Las concentraciones de PEG 4000, fueron de 0.1 y 0.16 gramos<sup>43</sup>.; por otra parte, para la enzima se trabajó con concentración de 30 y 50 FPU<sup>57</sup>. Una vez establecidos los parámetros o factores a variar, se procedió a elaborar una tabla de experimentos, la cual se detalla en la tabla 3.

**Tabla 3** Tabla de experimentos

Experimento	Longitud de onda	Sustrato (%) p/v	Enzima (FPU)	Enzima ( $\mu$ L)	pH	Temperatura ( $^{\circ}$ C)	PEG (g)
A			30	1600	4.8	40	0,1
B	540 um	5	50	2650			0,1
C			30	1600			0,16
D			50	2650			0,16

**Fuente:** Elaboración propia

Todos los experimentos del diseño experimental se realizaron por duplicado, además, para la hidrólisis enzimática se trabajó con solución buffer de citrato de sodio a un pH de 4.8, temperatura de trabajo de 40  $^{\circ}$ C y, las demás condiciones son las establecidas en la tabla 3.

## 2.7. Hidrólisis enzimática

### 2.7.1. Pretratamientos

Para eliminar la lignina y otros contaminantes que se puedan encontrar en el raquis de banano, se realizó un tratamiento químico con NaOH y autolavado antes de la hidrólisis enzimática<sup>58</sup>. Para ello, se colocó 10 gr de raquis de banano en 200 mL de 1.5% de NaOH, teniendo de esta manera 5% p/v de sustrato (raquis de banano). Luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Transcurrido ese tiempo, las muestras tuvieron un pH de 12,4; para disminuir el pH, se lavaron las muestras y se filtraron. Por último, se llevaron las muestras a un auto clavado a una temperatura de 100 $^{\circ}$ C durante 20 min para la depuración de microorganismos.

### 2.7.2. Preparación de buffer de citrato de sodio

El buffer de citrato de sodio, permite regular el pH y mantener las condiciones óptimas de la biomasa<sup>59</sup>. La preparación de esta solución consta de 2 reactivos, citrato de sodio  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  con ácido cítrico  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ , para mantener a un pH de 4,8. Primero se hicieron los cálculos para 1 litro de buffer, se pesó 21,51 g de citrato de sodio y se disolvió en 500 ml de agua destilada, aproximadamente. A la par se disolvió 4,80 g de ácido cítrico en 20 ml de agua destilada. Finalmente, se mezclaron ambas soluciones y se aforó en, un balón volumétrico de 1000 ml<sup>60</sup>.

### 2.7.3. Preparación de enzima Celulasa

Para la hidrolisis se utilizaron 2 concentraciones diferentes de enzima *Ceellulase enzyme blend* ; 30FPU Y 50 FPU<sup>57</sup>. En 188 FPU existe 1 mL de la enzima empleada (cita pendiente), Con esta relación se pudo preparar las concentraciones de enzima.

- **30 FPU**

$$\begin{array}{ccc} 1 \text{ mL} & \rightarrow & 188 \text{ FPU} \\ x & & 30 \text{ FPU} \end{array}$$

$$x = 0.160 \text{ mL} \times \frac{1000 \mu\text{L}}{\text{ml}} = 160 \mu\text{L}$$

- **50 FPU**

$$\begin{array}{ccc} 1 \text{ mL} & \rightarrow & 188 \text{ FPU} \\ x & & 50 \text{ FPU} \end{array}$$

$$x = 0,265 \text{ mL} \times \frac{1000 \mu\text{L}}{1 \text{ mL}} = 265 \mu\text{L}$$

### 2.7.4. Preparación de polietilenglicol (PEG) 4000

Para la hidrolisis fueron empleadas dos concentraciones diferentes del polietilenglicol (PEG); 0.5 g y 0.8 g<sup>61</sup>. Se prepararon las concentraciones con respecto a los cálculos obtenidos.

- **PEG 0.5 gr**

$$\begin{array}{l} 0.5 \text{ gr} \quad \rightarrow \quad 1000 \text{ mL} \\ x \quad \quad \quad 200 \text{ mL} \\ x = 0.1 \text{ gr PEG} \end{array}$$

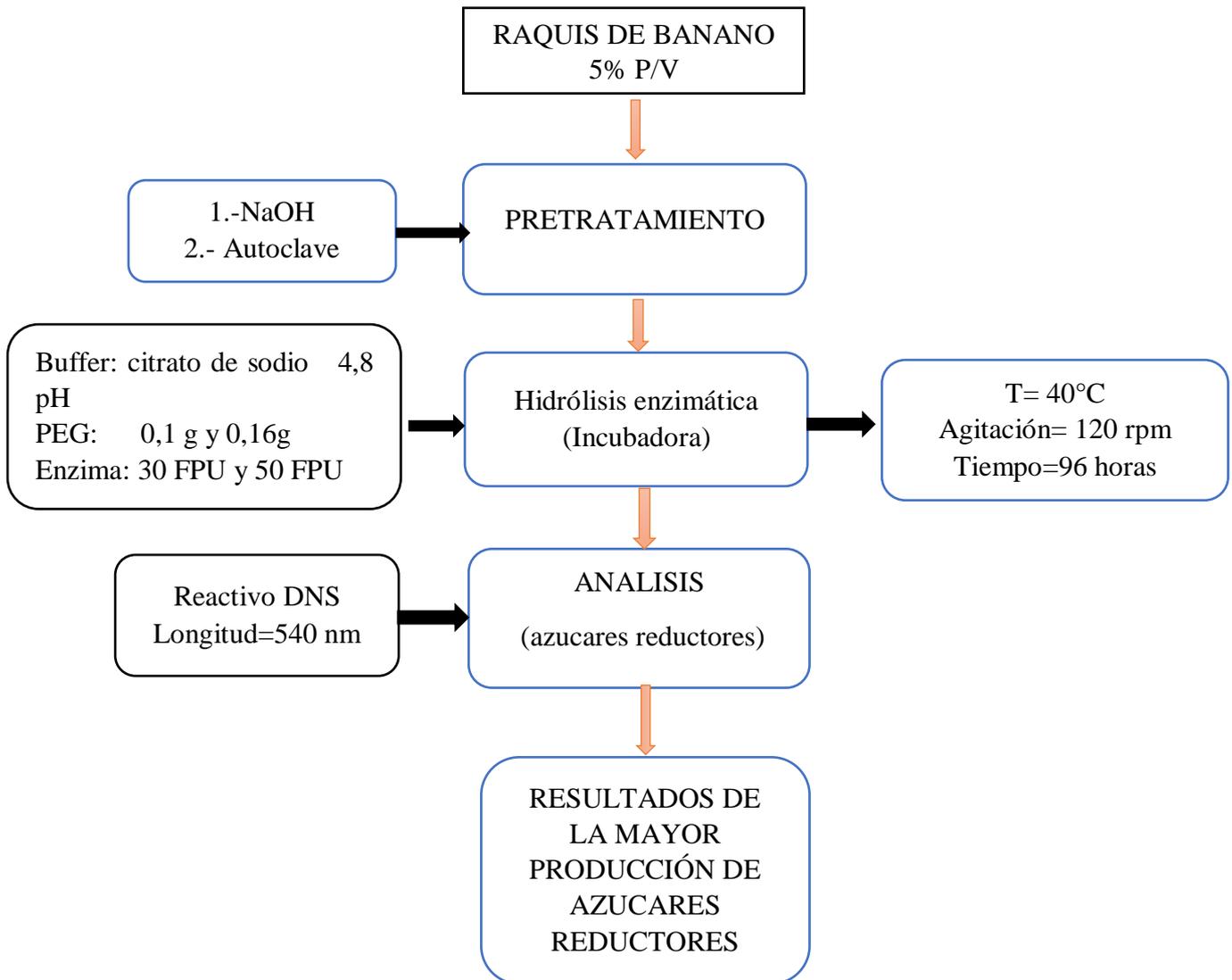
- **PEG 0.8 gr**

$$\begin{array}{l} 0.8 \text{ gr} \quad \rightarrow \quad 1000 \text{ mL} \\ x \quad \quad \quad 200 \text{ mL} \\ x = 0.16 \text{ gr PEG} \end{array}$$

#### 2.7.5. Experimentos de hidrólisis enzimática en presencia de PEG 4000

Se empleó sustrato (raquis de banano) 5% p/v en buffer de citrato de sodio de pH 4,8 y temperatura de 40 °C. A cada muestra se añadió 10 gr de raquis, 200 ml de buffer, enzima *Cellulase, enzyme blend* y PEG, de acuerdo al diseño factorial descrito en la tabla 2, teniendo las muestras A, B, C y D y, se trabajó por duplicado. La hidrólisis enzimática se llevó a cabo durante un tiempo de 96 horas. Para ello, se tomaron 2 alícuotas diarias de cada muestra, por la mañana y por la tarde. Finalmente, para la lectura de azúcares reductores se empleó la metodología del apartado 2.5.2. En la figura 6, se observa el diagrama del procedo de hidrólisis enzimática.

**Figura 6.** Diagrama de hidrolisis enzimática del banano



**Fuente:** Elaboración propia

## CAPITULO III

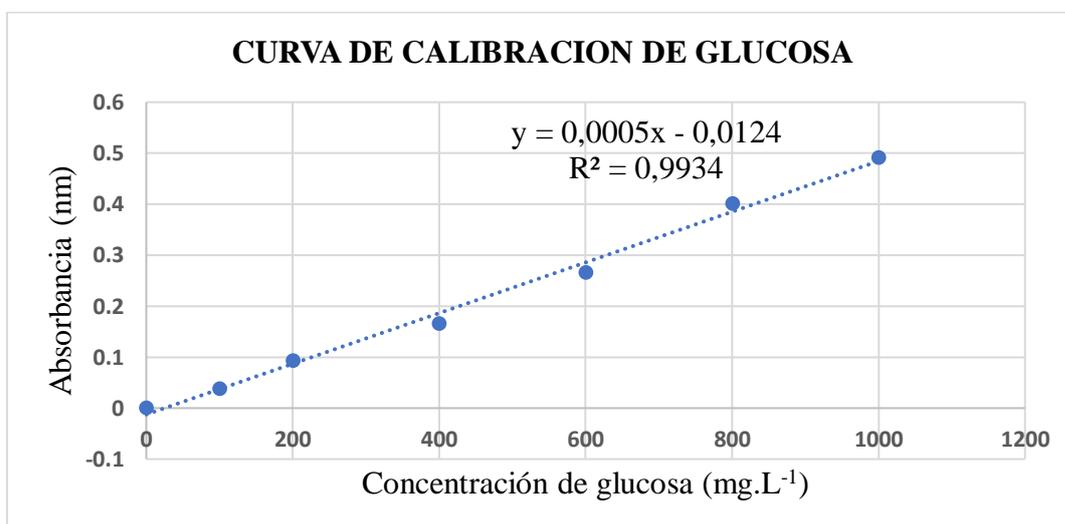
### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Curva de calibración de glucosa

Para la curva de calibración de glucosa, se utilizó el método de DNS para leer la cantidad de glucosa en cada disolución.

Las lecturas tomadas se las realizó en el espectrofotómetro de UV-VIS a una longitud de onda de 540 nm, se realizaron 5 curvas de calibración en diferentes días para obtener una curva promedio como se puede observar en la figura 7.

**Figura 7.** Curva de calibración con solución patrón para las muestras de raquis



**Fuente:** *Elaboración propia*

Se obtuvo una ecuación de la recta  $y = 0,0005x - 0,0124$ , con un coeficiente de correlación  $R^2 = 0,9934$ . En la cual,  $y$  representa a la absorbancia (nm) de la glucosa, los 0,0005 son la pendiente de la recta ( $m$ ),  $x$  es la concentración de glucosa (mg.L<sup>-1</sup>) y -0,0124 es el intercepto ( $b$ ) en el eje de las Y. Con esta ecuación de la recta, se medirán las concentraciones de glucosa que se obtendrán en la hidrólisis enzimática.

Empleando un software estadístico *Design Expert* se obtuvieron los resultados que se detallan en la tabla 4.

**Tabla 4.** Ajuste estadístico

<b>Desviación estándar</b>	39.04	<b>R<sup>2</sup></b>	0.9964
<b>Media</b>	6605.88	<b>Ajuste R<sup>2</sup></b>	0.9936
<b>C.V%</b>	0.5909	<b>Predicho R<sup>2</sup></b>	0.9854
		<b>Precisión</b>	399.447

**Fuente:** Elaboración propia

### 3.2 Hidrolisis enzimática

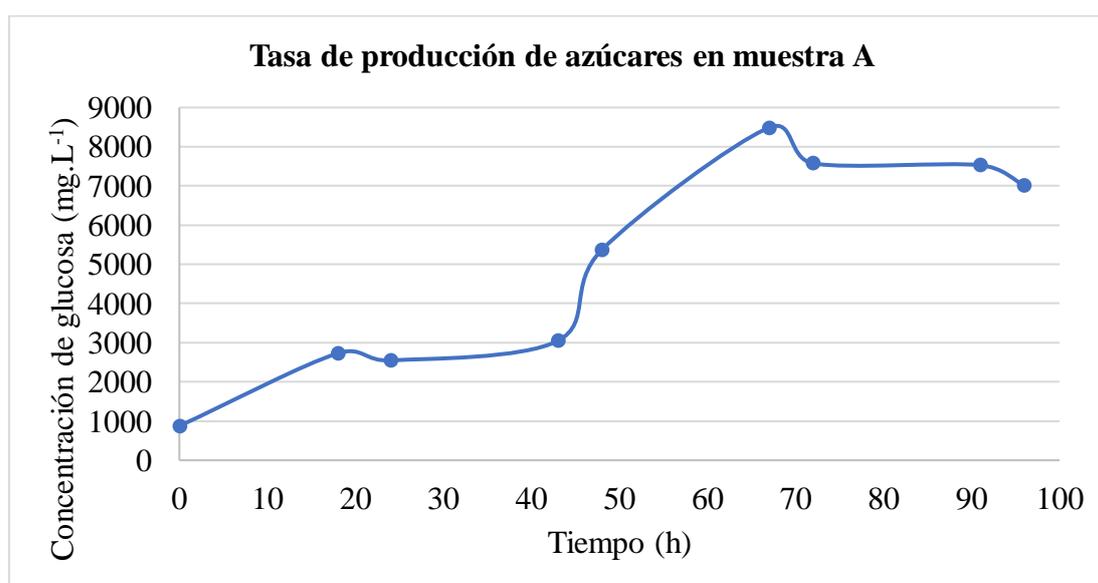
El estudio de la hidrolisis enzimática hace énfasis a la demanda de energía no renovable y sobre todo al aprovechamiento del residuo lignocelulosas, este método más la adición del PEG tienen una mejor eficiencia<sup>62</sup>. Se la emplea para hidrolizar residuos agrícolas para minimizar la contaminación.

#### 3.2.1 Tasa de producción de azúcares reductores.

##### ➤ Tasa de producción de azúcares reductores en la muestra A

En la muestra A, se utilizó 5% p/v de sustrato (raquis de banano), en 200 mL de buffer de citrato de sodio (pH = 4,8 y T = 40 °C), concentración de PEG 4000 de 0,1 gramos y enzima *Cellulasa enzyme blend* de 160 µL. En la figura 8, se observa la tasa de producción de azúcares en la muestra A.

**Figura 8.** Tasa de producción de azúcares en muestra A

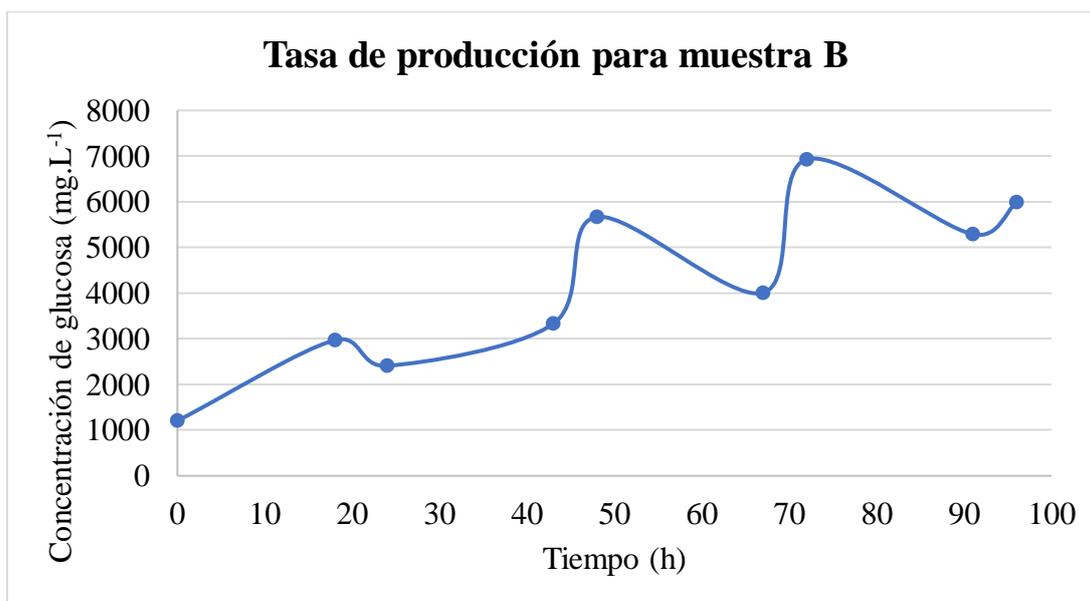


**Fuente:** Elaboración propia

### ➤ Tasa de producción de azúcares reductores en muestra B

En la muestra B, se utilizó 5% p/v de sustrato (raquis de banano), en 200 mL de buffer de citrato de sodio (pH = 4,8 y T = 40 °C), concentración de PEG 4000 de 0,1 gramos y enzima *Cellulasa enzyme blend* fue de 265  $\mu$ L. En la figura 9, se observa la tasa de producción en la muestra B.

**Figura 9.** Tasa de producción de azúcares en muestra B



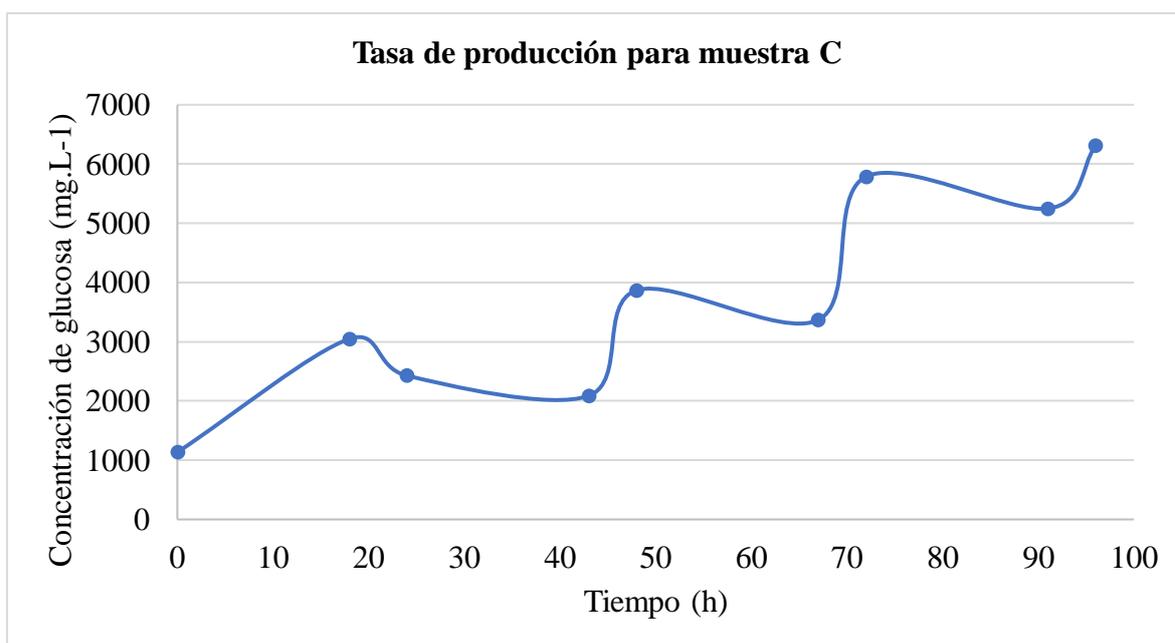
**Fuente:** Elaboración propia

Como se puede observar, en la muestra B, existe como resultado una tasa de producción en azúcares reductores a las 96 horas de 5988 mg.L<sup>-1</sup>.

### ➤ Tasa de producción en C

En la muestra C, se utilizó 5% p/v de sustrato (raquis de banano), en 200 ml de buffer de citrato de sodio (pH = 4,8 y T = 40 °C), concentración de PEG 4000 de 0,16 gramos y enzima *Cellulasa enzyme blend* fue de 160  $\mu$ L. En la figura 10, se observa la tasa de producción en la muestra C.

**Figura 10.** Tasa de producción de azúcares en muestra C



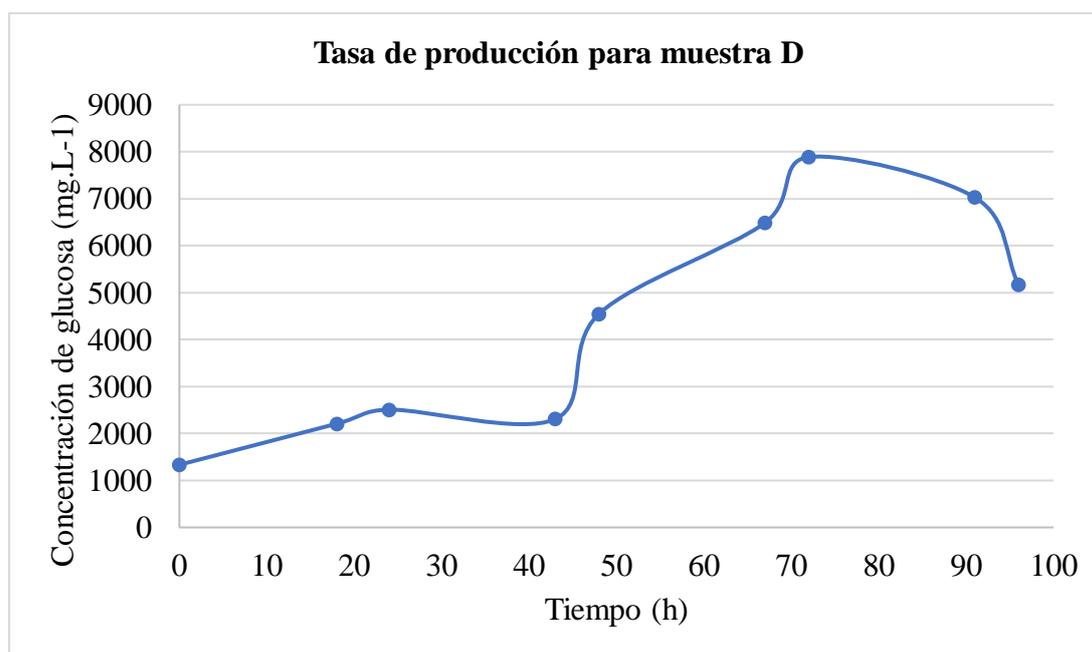
**Fuente:** Elaboración propia

Como se puede observar, en la muestra C, existe como resultado una tasa de producción en azúcares reductores a las 96 horas de 6308 mg.L<sup>-1</sup>.

#### ➤ **Tasa de producción en D**

En la muestra D, se utilizó 5% p/v de sustrato (raquis de banano), en 200 mL de buffer de citrato de sodio (pH = 4,8 y T = 40 °C), concentración de PEG 4000 de 0,16 gramos y enzima Cellulasa enzyme blend fue de 265 uL. En la figura 11, se observa la tasa de producción en la muestra C.

**Figura 11.** Tasa de producción de azúcares en muestra D



**Fuente:** Elaboración propia

Como se puede observar, en la muestra D, existe como resultado una tasa de producción en azúcares reductores a las 96 horas de 5168 mg.L<sup>-1</sup>.

De las 4 muestras A, B, C y D, se pudo identificar o demostrar que la muestra A (enzima 30 FPU y PEG 4000 0.1 g) produjo mayor cantidad de azúcares reductores, siendo de 7008 mg.L<sup>-1</sup>. De tal manera que, la acción del PEG, al ser surfactante que incrementa la actividad enzimática, por lo que se eleva la producción de los azúcares reductores.

El análisis que se realizó en todas las muestras se produjo mediante la diferencia de concentraciones PEG 4000 y enzima con un tiempo estandarizado para todas las muestras.

En investigaciones se reflejan resultados de 598 mg.L<sup>-1</sup> de azúcares reductores, con una concentración 0,05 % de PEG, y tiempo de 72 horas; por lo que recomienda una mayor concentración de PEG <sup>63</sup>.

### 3.3 Análisis estadísticos

#### 3.1.1. Análisis ANOVA

**Tabla 5.** Análisis ANOVA

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>df</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>valor F</b>	<b>valor P</b>	
<b>Modelo</b>	1.664E+0.6	3	5.547E+0.5	364.00	< 0.0001	significant
A PEG		1	35778.13	23.48	0.0084	
B Enzima	75078.12	1	75078.12	49.27	0.0022	
AB	1.553E+0.6	1	1.553E+0.6	1019.25	< 0.0001	
<b>puro</b>						
<b>Error</b>	6095.50	4	1523.87			
<b>por Total</b>	1.664E+0.6	7				

**Fuente:** Desing expert

Con el estudio del análisis de varianza (ANOVA) que se observa en la tabla 5, se estima que si el valor de  $p$  es menor al 5% (0.05) indican que los resultados son significativos. En este caso, el factor A (concentración de PEG 4000), B (concentración de enzima) y AB (interacción entre factores A y B) son términos significativos del modelo. Los valores superiores a 0,1000 indican que los términos del modelo no son significativos.

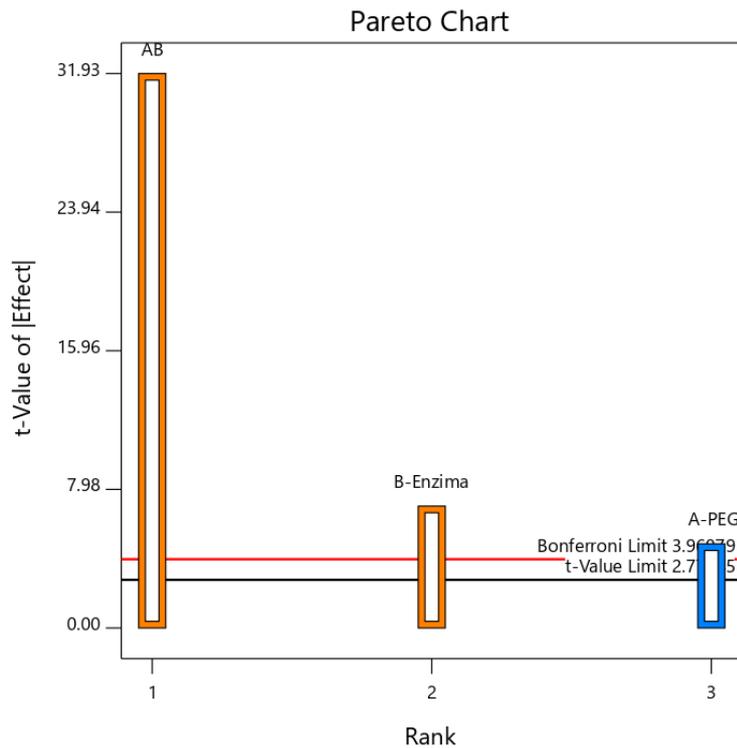
### 3.3.2. Diagrama de Pareto

En el diagrama de Pareto se ha colocado de mayor a menor los efectos en las diferentes combinaciones y factores correspondientes. Si este último sobrepasa el límite rojo indica o denota el control de factores prioritarios.

Por lo anterior expuesto, en la gráfica 1, se puede demostrar que el efecto AB, es decir, la interacción entre los factores de PEG 4000 y enzima, es el que mayor efecto significativo ocasiona sobre los experimentos de hidrólisis enzimática.

Por otra parte, el factor B (concentración de enzima) produce menor efecto en relación al factor AB, pero, mayor efecto que el factor A (concentración de PEG). En otras palabras, se puede establecer que el efecto AB es el que mayor incidencia genera en los experimentos y el efecto del factor A, es el que menor incidencia produce.

**Grafica 1.** Diagrama de Pareto



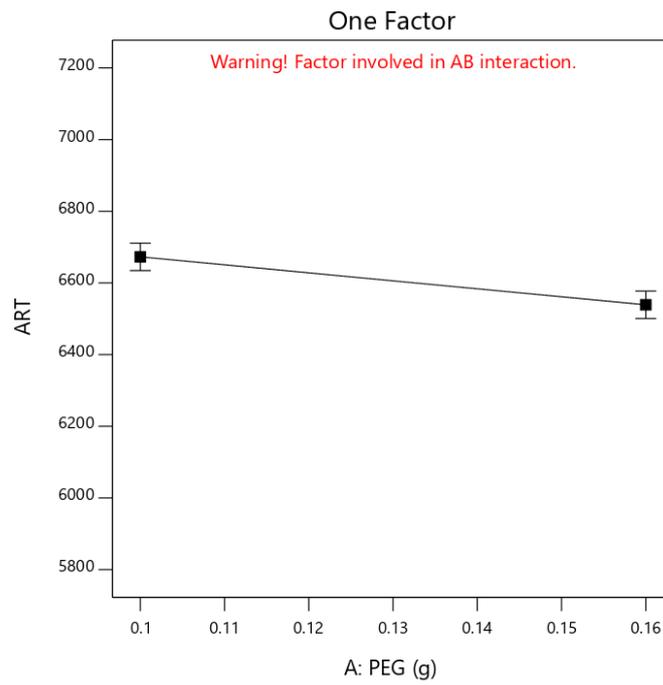
**Fuente:** Desing expert

### 3.3.1 Interacciones

Dentro de un diseño factorial, cada nivel de cada factor independiente se combina con cada nivel de los otros factores, teniendo como resultado diferentes combinaciones posibles. Cada combinación se transforma en una condición del experimento. Esto hace que el experimento sea eficiente, porque suministra información sobre el efecto de todos los factores en cuanto a la relación con el nivel de otros factores. Teniendo en cuenta que el efecto se define como un cambio en la respuesta experimental causado por un cambio en el nivel del factor.

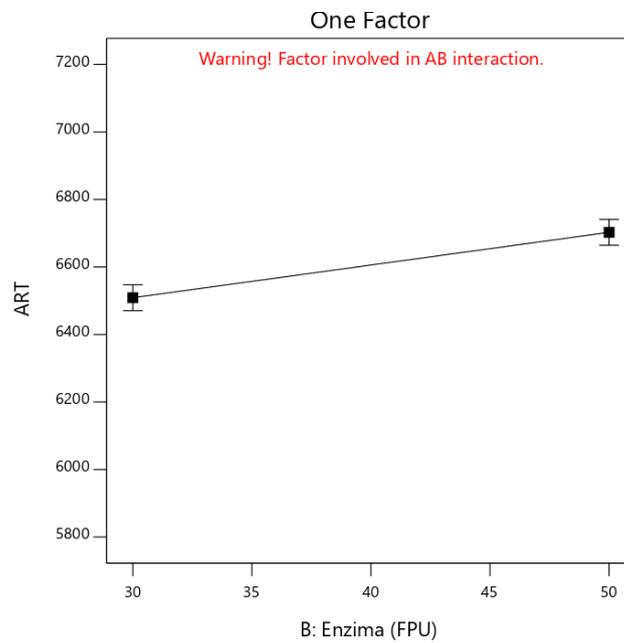
En las siguientes graficas (gráfico 2 y gráfico 3) se logra identificar que existe un efecto negativo del factor A (PEG) logrando una disminución del rendimiento y a su vez, al mantener un efecto positivo del factor B (enzima) se logra un incremento en el rendimiento.

**Grafica 2. Factor con PEG**



**Fuente:** Desing expert

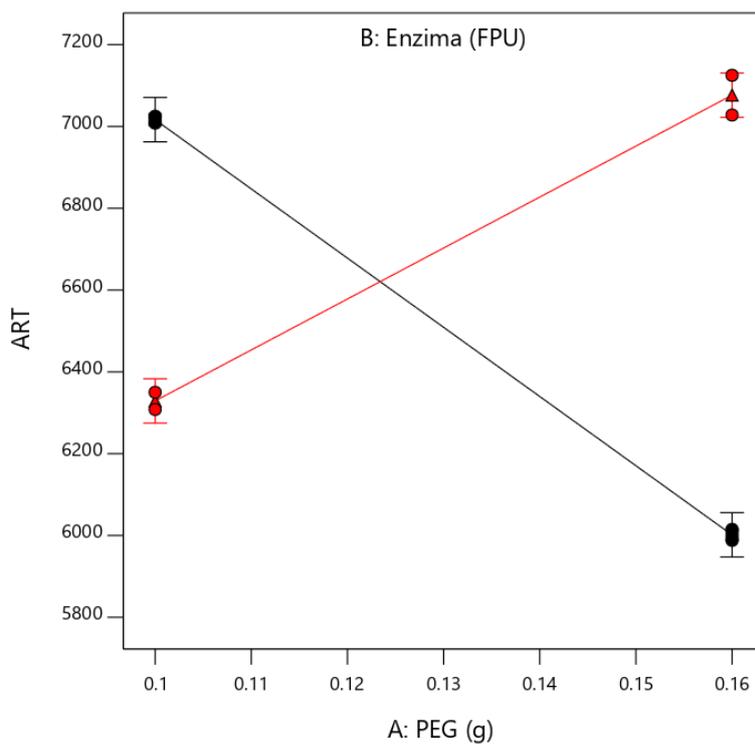
**Grafica 3. Factor con la enzima**



**Fuente:** Desing expert

Los efectos de interacción miden el efecto que tiene una combinación de factores en una respuesta. Como se puede demostrar en el gráfico 4, la interacción entre el factor AB, fue el que mayor significancia ocasionó en los experimentos de hidrólisis enzimática.

**Grafica 4.** Interacción con enzima y PEG



**Fuente:** Desing expert

## CAPITULO IV

### 4. CONCLUSIONES

- Se logró obtener raquis de banano como materia prima para la hidrólisis enzimática, empleando para todos los experimentos una concentración del 5% p/v.
- Se trabajó con un diseño factorial de  $2^2$ , el cual arrojó 4 experimentos: A, B, C y D, mismos que fueron empleados para la producción de azúcares reductores mediante hidrólisis enzimática en un tiempo de 96 horas.
- Finalmente, se pudo demostrar que la muestra A fue la que mayor producción de azúcares generó, teniendo una concentración de  $7008 \text{ mg. L}^{-1}$ . Estos resultados se pudieron contrastar con el análisis de varianza (ANOVA) y diagrama de Pareto, los cuales arrojaron como respuesta que la interacción con los 2 factores A y B (PEG 4000 y enzima) produjeron mayor cantidad de azúcares que empleando un único factor.

## **CAPITULO V**

### **5. RECOMENDACIONES**

- Realizar un diseño factorial de  $3^2$  para ampliar la gama de parámetros o factores que mayor incidencia generan en la hidrólisis enzimática.
- La enzima a utilizar debe de estar en un ambiente acondicionado, regulando el pH y temperatura para tener una óptima producción de glucosa.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) Montes, S.; Azcune, I.; Elorza, E.; Rekondo, A.; Grande, H.; Labidi, J. Fractionation of Banana Rachis Using Ionic Liquids: Sustainability and Selectivity of Choline Lactate. *Ind. Crops Prod.* **2022**, *183*, 114956. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114956>.
- (2) Aguilar, D. Determinación Del Potencial Energético de La Biomasa Residual de Cultivos de Banano En El Cantón Machala, El Oro, Ecuador. *Univ. Politec. Sales.* **2019**, 1–45.
- (3) Abril González, M. F. Optimización de La Reacción de Hidrólisis Ácida de Los Residuos de La Planta de Banano, Para Mayor Rendimiento a Glucosa. *Repos. Inst. Univ. Cuenca* **2016**, 82.
- (4) Barragán-Escandón, A.; Jara-Nieves, D.; Romero-Fajardo, I.; Zalamea-Leon, E. F.; Serrano-Guerrero, X. Barriers to Renewable Energy Expansion: Ecuador as a Case Study. *Energy Strateg. Rev.* **2022**, *43*, 100903. <https://doi.org/10.1016/j.esr.2022.100903>.
- (5) Li, H.; Wang, C.; Xiao, W.; Yang, Y.; Hu, P.; Dai, Y.; Jiang, Z. Dissecting the Effect of Polyethylene Glycol on the Enzymatic Hydrolysis of Diverse Lignocellulose. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *131*, 676–681. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.131>.
- (6) Capa Benítez, L. B.; Alaña Castillo, T. P.; Benítez Narváez, R. M. Importance of Organic Banana Production. Case: el Oro Province, Ecuador. *Rev. Univ. y Soc.* **2016**, *8* (3), 64–71.
- (7) Blasco, G.; Gómez, F. Propiedades Funcionales Del Plátano (Musa Sp). *Rev. medica la Univ. veracruzana* **2014**, *2* (February), 22–26.
- (8) Mendoza Guzman, G. S.; Torres Jungal, C. L. Cinética de Hidrólisis Enzimática del Raquis de Banano Para la Producción de Azúcares Fermentables., Universidad Tecnica De Machala, 2021.
- (9) Mohapatra, D.; Mishra, S.; Sutar, N. Banana and Its By-Product Utilisation: An Overview. *J. Sci. Ind. Res. (India)*. **2010**, *69* (5), 323–329.
- (10) Vásquez-Castillo, W.; Racines-Oliva, M.; Moncayo, P.; Viera, W.; Seraquive, M. Calidad Del Fruto y Pérdidas Poscosecha de Banano Orgánico (Musa Acuminata) En El Ecuador. *Enfoque Ute* **2019**, *10* (4), 57–66. <https://doi.org/10.29019/enfoque.v10n4.545>.
- (11) Haro Velastegui, A. J.; Borja Arevalo, A. E.; Triviño Bloisse, S. Y. Análisis Sobre El Aprovechamiento de Los Residuos Del Plátano, Como Materia Prima Para La Producción de Materiales Plásticos Biodegradables. *Dominio las ciencias* **2017**, *3*, 506–525.
- (12) Tiappi Deumaga, M. F.; Jacquet, N.; Vanderghem, C.; Aguedo, M.; Guy Thomas, H.; Gerin, P.; Deleu, M.; Richel, A. Fractionation and Structural Characterization of Hemicellulose from Steam-Exploded Banana Rachis. *Waste and Biomass Valorization* **2018**, *3*, 12–34. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0457-9>.
- (13) Deumaga Tiappi, F. M.; Villani, N.; Aguedo, M.; Jacquet, N.; Happi Guy, T.;

- Gerin, P.; Deleu, M.; Aurore, R. Chemical Composition Analysis and Structural Features of Banana Rachis Lignin Extracted by Two Organosolv Methods. *Ind. Crops Prod.* **2019**, *132*, 269–274. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.022>.
- (14) Zuluaga, R.; Putaux, J. L.; Cruz, J.; Vélez, J.; Mondragon, I.; Gañán, P. Cellulose Microfibrils from Banana Rachis : Effect of Alkaline Treatments on Structural and Morphological Features. *Carbohydr. Polym.* **2009**, *76* (1), 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.09.024>.
- (15) Hafiz Muhammad, N. I.; Kyazze, G.; Keshavarz, T. Advances in the Valorization of Lignocellulosic Materials by Biotechnology: An Overview. *Biotech application biomass* **2013**, *8* (2), 3157-3176. <https://doi.org/10.15376/biores.8.2.3157-3176>.
- (16) Vega-Baudrit, J.; Sibaja, M.; Nikolaeva, S.; Rivera, A. Síntesis Y Caracterización De Celulosa Amorfa A Partir De Triacetato De Celulosa. *Rev. Soc. Química Perú* **2014**, *80* (1), 45–50.
- (17) Phung Hai, T. A.; Sugimoto, R. Surface Functionalization of Cellulose with Hexylthiophene ) via Novel Oxidative Polymerization. *Carbohydr. Polym.* **2018**, *179*, 221–227. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.067>.
- (18) Rodríguez, I.; Piñeros, Y. Producción de Complejos Enzimáticos Celulolíticos Mediante El Cultivo de Fase Sólida de Trichoderma Sp. Sobre Los Racimos Vacíos de Palma de Aceite Como Sustrato. *Rev. la Fac. Química Farm.* **2007**, *14* (2), 35–42.
- (19) Xue, B. L.; Wen, J. L.; Xu, F.; Sun, R. C. Structural Characterization of Hemicelluloses Fractionated by Graded Ethanol Precipitation from Pinus Yunnanensis. *Carbohydr. Res.* **2012**, *352*, 159–165. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.02.004>.
- (20) Laca, A.; Laca, A.; Díaz, M. Hydrolysis: From Cellulose and Hemicellulose to Simple Sugars. *Second Third Gener. Feed.* **2019**, 213–240. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815162-4.00008-2>.
- (21) Huang, T. H.; Almeida Streitwieser, D. Estudio Comparativo de La Compostabilidad de Fundas Plásticas de PEBD, Oxo-Biodegradables y de Papel Distribuidas En El Distrito Metropolitano de Quito. *aci Av. en Ciencias e Ing.* **2015**, *7* (1). <https://doi.org/10.18272/aci.v7i1.233>.
- (22) Chávez Sifontes, M.; Domine, M. E. Lignin, Structure And Applications: Depolymerization Methods For Obtaining Aromatic Derivatives of Industrial Interest. *Av. en Ciencias e Ing.* **2013**, *4* (4), 15–46.
- (23) Zhang, L.; Larsson, A.; Moldin, A.; Edlund, U. Comparison of Lignin Distribution , Structure , and Morphology in Wheat Straw and Wood. *Ind. Crop. Prod.* **2022**, *187*, 160. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115432>.
- (24) Zhang, J.; Zhou, H.; Liu, D.; Zhao, X. Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Enzymatic Saccharification of Cellulose. *Biomasa Lignocelulósica a Biocombustibles Líquidos* **2020**, 17–65. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815936-1.00002-2>.
- (25) Tibolla, H.; Pelissari, F. M.; Martins, J. T.; Lanzoni, E. M.; Vicente, A. A.; Menegalli, F. C.; Cunha, R. L. Banana Starch Nanocomposite with Cellulose

- Nanofibers Isolated from Banana Peel by Enzymatic Treatment: In Vitro Cytotoxicity Assessment. *Carbohydr. Polym.* **2019**, *207*, 169–179. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.079>.
- (26) Singh, A.; Bajar, S.; Bishnoi, N. R. Physico-Chemical Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Cotton Stalk for Ethanol Production by *Saccharomyces Cerevisiae*. *Bioresour. Technol.* **2017**, *244*, 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.123>.
- (27) Wang, Y.; Yang, H.; Zhang, B.; Liu, X.; Bao, J. Continuous Enzymatic Saccharification and Its Rheology Profiling under High Solids Loading of Lignocellulose Biomass. *Biochem. Eng. J.* **2022**, *186*, 108543. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108543>.
- (28) Espinosa Negrín, A. M.; López González, L. M.; Casdelo Gutiérrez, N. L. Pretratamiento de Biomásas Lignocelulósicas: Breve Revisión de los Principales Métodos Utilizados. *Rev. Cent. Azúcar* **2021**, *48*, 108–119.
- (29) Chirinos, R.; Mendoza, R.; Aguilar-Gálvez, A.; Campos, D. Hidrólisis Química y Enzimática de Extracto de Yacón (*Smallanthus Sonchifolius*) para la Producción de Fructosa. *Rev. Sociedad Química del Perú* **2017**, *83* (2), 200–212. <https://doi.org/10.37761/rsqp.v83i2.198>.
- (30) Morales De La Rosa, S. Hidrólisis Ácida de Celulosa y Biomasa Lignocelulósica Asistida con Líquidos Iónicos, Universidad Autonoma De Madrid, 2015.
- (31) Piñeros Castro, N. Y. Hidrólisis de Residuos Lignocelulósicos Derivados de La Explotación de Palma de Aceite Hasta Azúcares Fermentables, Universidad nacional de Colombia, 2012.
- (32) Sarker, T. R.; Pattnaik, F.; Nanda, S.; Dalai, A. K.; Meda, V.; Naik, S. Hydrothermal Pretreatment Technologies for Lignocellulosic Biomass : A Review of Steam Explosion and Subcritical Water Hydrolysis. *Chemosphere* **2021**, *284*, 131372. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131372>.
- (33) Asif, M. B.; Hai, F. I.; Jegatheesan, V.; Price, W. E.; Nghiem, L. D.; Yamamoto, K. Chapter 8 - Applications of Membrane Bioreactors in Biotechnology Processes. *Tendencias Actuales y Desarro. Futur. en Membr.* **2019**, 223–257. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813606-5.00008-7>.
- (34) Fan, Z. Chapter 7 - Consolidated Bioprocessing for Ethanol Production. *Biorrefinerías* **2014**, 141–160. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-59498-3.00007-5>.
- (35) Salvador Pinos, C. A.; González suárez, E.; Concepción Toledo, D. N. Enzimas Comerciales por Nativas Desde la Universidad: un Intangible para el Desarrollo Local. *Univ. y Soc.* **2018**, *10* (4), 69–74.
- (36) Porter, J. L.; Rusli, R. A.; Ollis, D. L. Directed Evolution of Enzymes for Industrial Biocatalysis. *ChemBioChem* **2016**, *17* (3), 197–203. <https://doi.org/10.1002/cbic.201500280>.
- (37) Zapata, Y. M.; Galviz-Quezada, A.; Osorio-Echeverri, V. M. Cellulases Production on Paper and Sawdust Using Native *Trichoderma Asperellum*. *Univ. Sci.* **2018**, *23* (3), 419–436. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.sc23-3.cpop>.

- (38) Li, J.; Liu, F.; Yu, H.; Li, Y.; Zhou, S.; Ai, Y.; Zhou, X.; Wang, Y.; Wang, L.; Peng, L.; Wang, Y. Diverse Banana Pseudostems and Rachis Are Distinctive for Edible Carbohydrates and Lignocellulose Saccharification towards High Bioethanol Production under Chemical and Liquid Hot Water Pretreatments. *Molecules* **2021**, *26* (13). <https://doi.org/10.3390/molecules26133870>.
- (39) Guerrero, A. B.; Ballesteros, I.; Ballesteros, M. The Potential of Agricultural Banana Waste for Bioethanol Production. *Fuel* **2018**, *213*, 176–185. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.10.105>.
- (40) Zubeldia, M.; Gallipoli, E.; Muñoz, A.; Gómez, M.; Pereira, J. C. Effects of Mixed Anionic and Nonionic Surfactants on Their Interfacial Properties. *Ing. uc* **2017**, *24* (2), 137–147.
- (41) Díaz-díaz, M. A.; Rivas Trasancos, L.; Martínez González, J.; Teuteló Núñez, R.; Salázar Alemán, D. Application of Zahn-Wellens Method to Determine Biodegradability of an Anti – Spill Product. *Rev. Cuba. Quim.* **2020**, *32* (2), 262–272.
- (42) Ghasemi, L.; Jafari, H. Morphological Characterization of Tungsten Trioxide Nanopowders Synthesized by Sol-Gel Modified Pechini’s Method Leila. *Mater. Res.* **2017**, *20* (6), 1713–1721. <https://doi.org/10.1590/1980-5373-mr-2017-0467>.
- (43) Ouyang, J.; Dong, Z.; Song, X.; Lee, X.; Chen, M.; Yong, Q. Improved Enzymatic Hydrolysis of Microcrystalline Cellulose ( Avicel PH101 ) by Polyethylene Glycol Addition. *Bioresour. Technol.* **2010**, *101* (17), 6685–6691. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.085>.
- (44) Razzaq, H.; Hammad Nadeem, T. M.; Sadaqat, H. A.; Sadia, B. Screening of Sunflower (*Helianthus Annus L.*) Accessions under Drought Stress Conditions, an Experimental Assay. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **2017**, *17* (3), 662–671. <https://doi.org/10.4067/s0718-95162017000300009>.
- (45) Morúa, O. C.; Cardoso, M. J. B.; da Silva, H. N.; Carrodegua, R. G.; Rodríguez, M. A.; Fook, M. V. L. Synthesis of Brushite/Polyethylene Glycol Cement for Filler in Bone Tissue Injuries. *Cerbio* **2021**, *67* (383), 289–294. <https://doi.org/10.1590/0366-69132021673833054>.
- (46) Celi, J.; Gómez, F.; Enríquez, B. Análisis de La Tensión Interfacial Entre Dos Fluidos Inmiscibles Con El Uso de Cuatro Surfactantes (Catiónico, No-Iónico), de La Arena Productora U Inferior Del Campo Pindo. *Rev. Politécnica* **2021**, *47* (2), 27–40. <https://doi.org/10.33333/rp.vol47n2.03>.
- (47) Giacomini, F.; Benedet Menegazzo, M. A.; Gomes da Silva, M.; Bortoluzzi da Silva, A.; Simões Dornella de Barros, M. A. s. Importância Da Determinação Do Ponto de Carga Zero Como Característica de Tingimento de Fibras Proteicas. *Rev. Mater.* **2017**, *22* (2). <https://doi.org/10.1590/S1517-707620170002.0159>.
- (48) Coeli Medina, C.; Sá Carvalh, M.; Dias De Lima, L. The Importance of the Research Question in the Analysis of Epidemiological Data. *CSP Cad. saúde pública* **2021**, *37* (5). <https://doi.org/10.1590/0102-311x00091921>.
- (49) Gutiérrez Pulido, H.; De la Vra Salazar, R. *Análisis y Diseño de Experimentos*, McGraw-Hil.; Bosque Alayón, R., Ed.; Santa Fe, 2008.

- (50) Figueiredo, A. S.; Killian, D.; Schulte, J.; Sticht, C.; Lindner, H. A. Whole Transcriptome Data of Primary Human NK Cells under Hypoxia and Interleukin 15 Priming: A 2×2 Factorial Design Experiment. *Data Br.* **2017**, *14*, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2017.07.018>.
- (51) Fernández Bao, S. Diseño de Experimentos: Diseño Factorial., Universitat politècnica de catalunya Barcelona Tech, 2020.
- (52) Toledo, A. M. Empleo de Anova Para Determinar la Consistencia Entre Resultados de Mediciones Únicos. *Boletín Cient. técnico inimet* **2010**, No. 2, 9–14.
- (53) Wong, K. Y.; Ng, J. H.; Chong, C. T.; Lam, S. S.; Chong, W. T. Pareto-Hierarchical Clustering Framework for Biodiesel Transesterification. *Sustain. Energy Technol. Assessments* **2021**, *45*, 101160. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2021.101160>.
- (54) Bello Gil, D.; Carrera Bocourt, E.; Diaz Marqueira, Y. Determinación de Azúcares Reductores Totales En Jugos Mezclados de Caña de Azúcar Utilizando El Método Del Ácido 3,5 Dinitrosalicílico. *Icidca* **2006**, *40* (2), 45–50.
- (55) Burgos Montañez, L. J. Cuantificación de Azúcares Reductores Del Sustrato En Residuos de Piña Con El Método Del Ácido 3,5-Dinitrosalicílico. *Quest. Investig. Específica* **2020**, *7* (1), 57–66. <https://doi.org/10.29097/23461098.308>.
- (56) Li, J.; Li, S.; Fan, C.; Yan, Z. The Mechanism of Poly ( Ethylene Glycol ) 4000 Effect on Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulose. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2012**, *89*, 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.09.019>.
- (57) Xu, X.; Zhang, D.; Wang, K.; Jia, Y.; Yang, C.; Shen, B.; Lai, C.; Yong, Q. In-Situ Lignin Modification with Polyethylene Glycol-Epoxides to Boost Enzymatic Hydrolysis of Combined-Pretreated Masson Pine. *Bioresour. Technol.* **2022**, *344*, 126315. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126315>.
- (58) Sánchez Riaño, A.; Guitierrez Morales, A.; Muñoz Hernández, J.; Rivera Barrero, C. Producción de Bioetanol a Partir de Subproductos Agroindustriales Lignocelulósicos. *Tumbaga* **2010**, 61–91.
- (59) Guo, S.; Lu, C.; Wang, K.; Wang, J.; Zhang, Z.; Liu, H.; Jing, Y.; Zhang, Q. Effect of Citrate Buffer on Hydrogen Production by Photosynthetic Bacteria. *Bioresour. Technol.* **2022**, *347*, 126636. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126636>.
- (60) Rodríguez, A. C. Obtención De Glucosa a Partir De Aserrin De Encino Pre Tratado Con Reactivos Alcalinos, Seguido Por Hidrólisis Enzimática”, Centro de Investigación en Materiales avanzados S.C, 2013.
- (61) Lin, W.; Chen, D.; Yong, Q.; Huang, C.; Huang, S. Improving Enzymatic Hydrolysis of Acid-Pretreated Bamboo Residues Using Amphiphilic Surfactant Derived from Dehydroabietic Acid. *Bioresour. Technol.* **2019**, *293*, 122055. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122055>.
- (62) Pihlajaniemi, V.; Kallioinen, A.; Sipponen, M. H.; Nyysola, A. Modeling and Optimization of Polyethylene Glycol ( PEG ) Addition for Cost-Efficient Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulose. *Biochem. Eng. J.* **2021**, *167*, 120. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107894>.

- (63) Fahmy, M.; Sohel, M. I.; Vaidya, A. A.; Jack, M. W.; Suckling, I. D. Does Sugar Yield Drive Lignocellulosic Sugar Cost ? Case Study for Enzymatic Hydrolysis of Softwood with Added Polyethylene Glycol. *Process Biochem.* **2019**, *80*, 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.02.004>.

## ANEXOS

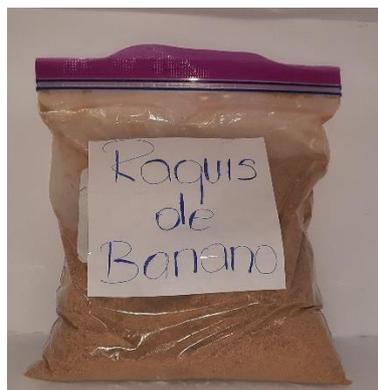
**Anexo 1.** Pelado y troceado del raquis de banano



**Anexo 2.** Secado a 75 °C en la estufa



**Anexo 3.** Raquis de banano (polvo)



#### Anexo 4. Solución patrón de glucosa



#### Anexo 5. Espectrofotómetro de UV-VIS



**Anexo 6.** Preparación de solución patrón de lectura con el DNS



**Anexo 7.** Enzima cellulase blend



**Anexo 8.** Lectura de curva de calibración



**Anexo 9. Tratamiento en la autoclave**



**Anexo 10. Tratamiento con hidróxido de sodio a 1.5%**



**Anexo 11.** Antes de la hidrolisis enzimática con PEG 4000 y enzima



**Anexo 12.** Incubadora a 40°C



**Anexo 13.** Toma de muestra de la incubadora



**Anexo 14.** Muestra para la lectura en el espectrofotómetro de UV-VIS con DNS

