

## POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO Y BIOECONÓMICO DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS DE LA AGROINDUSTRIA DEL BANANO

Hugo Romero B.<sup>1</sup>; Kathy Gadvay<sup>1</sup>; Andrés Castillo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Electro analítica y Bioenergía, Carrera Ingeniería Química, Universidad Técnica de Machala

### RESUMEN

En una primera fase de la investigación, se determinó el potencial bioeconómico de la cáscara de banano maduro que se genera durante el proceso de deshidratación industrial de esta fruta. Así mismo, se pudo cuantificar la cantidad de jarabe glucosado que se puede obtener mediante el proceso biotecnológico de hidrólisis enzimática de este residuo agroindustrial. Para la primera fase se utilizó un reactor anaerobio para determinar el volumen de CO<sub>2</sub> que se deja de emitir en el área de estudio por el aprovechamiento de la cáscara de banano maduro mediante hidrólisis enzimática. Al mismo tiempo mediante cromatografía gaseosa se cuantificó la concentración de CO<sub>2</sub> producido por la cáscara. Para la segunda fase, se preparó un biorreactor aerobio con una relación P/V de cáscara de banano maduro/agua de 60%, sometida previamente a un pretratamiento de molienda más hidróxido de sodio. La biomasa obtenida fue inoculada con conidias del hongo *Trichoderma reesei* en una concentración de 0,6 g/L, durante 6 días a temperatura ambiente y pH 4,2 – 5. Se midió la concentración de glucosa presente en el hidrolizado utilizando el método del DNS (ácido di nitrosalísílico) en un espectrofotómetro UV visible a 540 nm. Los resultados muestran que, el potencial bioeconómico de la cáscara se traduce en un volumen de 403,6 toneladas métricas CO<sub>2</sub>/año (0.73 L CO<sub>2</sub> / Kg cáscara banano madura día) con una concentración de 99,97 % de pureza que se estaría dejando de emitir al ambiente en la Provincia de El Oro por esta actividad agroindustrial. Se determinó un potencial bioeconómico de \$ 2813,2/año como incentivo en Bonos de Carbono para las empresas por la mitigación de este gas al cambio climático, que podría ser adjudicado si se aprovecharán estos residuos para su bioconversión en jarabe glucosado y, se incrementaría si se continuara con su bioconversión en bioetanol. Por otro lado, el potencial biotecnológico se traduce en la obtención de 5,91 g/L de jarabe glucosado, mediante la hidrólisis enzimática de la cáscara desechada.

**Palabras clave:** bioeconomía, potencial biotecnológico, cáscara, banano, CO<sub>2</sub>, glucosa.

## INTRODUCCION

Se considera que la denominada biomasa lignocelulósica, que incluye residuos agrícolas, forestales y sólidos urbanos, así como residuos agroindustriales, de la industria de alimentos y de otras industrias, comprende aproximadamente el 50% de la biomasa en el mundo (Sánchez & Cardona, 2005). Siendo las cascaras de frutas y vegetales los que más producen.

Los residuos lignocelulósica del banano pueden ser utilizados para la producción de bioetanol, biogás, ácidos orgánicos, entre otros.

Por otro lado, en el año 2014 la industria bananera en la Provincia de El Oro, Ecuador, generó 2'921.584,00 Toneladas métricas de biomasa lignocelulósica (tallo,seudotallo, hojas), que podrían utilizarse tanto para obtener biocombustibles de 2ª generación, biogás o electricidad. (Hinojosa, 2014)

En este contexto, la Provincia de El Oro, posee grandes extensiones de tierras agrícolas dedicadas al cultivo de banano, donde las frutas “rechazadas” que no cumplen los indicadores de calidad para su exportación son aprovechadas de diversas maneras. Uno de los destinos de esta materia prima es la empresa CONFOCO S.A. que tiene su Planta de procesamiento ubicada en la Parroquia La Peaña en el cantón Pasaje de la Provincia de El Oro, donde se obtienen entre otros productos harina (flake) y puré de banano, que genera alrededor de 315 toneladas métricas por semana de cáscara de banano maduro (Figura 1).

**Figura 1.** Cáscaras de banano maduro que se generan el proceso de deshidratación.



La producción de biogás, a través de la fermentación anaeróbica, es uno de los procesos biológicos más frecuentes usados por la naturaleza, para descomponer los materiales orgánicos. En él se encuentran gases como el metano,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$  y trazas de otros gases. El proceso es sumamente complejo en el que intervienen un elevado número de especies bacterianas, productoras o no de metano, que contribuyen de algún modo a la formación de este gas.

La composición química del biogás indica que el componente más abundante es el metano ( $\text{CH}_4$ ); este es el primer hidrocarburo de la serie de los alcanos y un gas de efecto invernadero. La mezcla de  $\text{CH}_4$  con el aire es combustible y arde con llama azul.

La preocupación medioambiental se da porque la mayoría de los residuos agroindustriales contienen compuestos fenólicos y otros compuestos con potencial tóxico; que pueden causar el deterioro del medioambiente cuando los residuos se descargan a la naturaleza.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Determinación del potencial bioeconómico de la cáscara de banano maduro**

#### **Reactor para almacenar el $\text{CO}_2$ generado por cáscara de banano maduro.**

Se adaptó un tanque de 20 L de plástico (Figura 2) que generalmente se lo utiliza para el almacenamiento de agua purificada. El tanque disponía de una entrada y una válvula de salida. En la entrada ubicada en la parte superior se colocó una tubería PVC de 3/4" y 60 cm de largo, para facilitar el ingreso del sustrato hacia el fondo del tanque. La válvula de salida existente estaba en la parte inferior del tanque para permitir la salida del biol generado.

**Figura 2.** Tanque plástico para almacenar el  $\text{CO}_2$  generado por la cáscara de banano maduro.



### **Monitoreo del volumen de CO<sub>2</sub> generado por la cáscara de banano madura.**

Tres veces al día se midió el volumen de CO<sub>2</sub> generado por la cáscara de banano madura, para lo cual se utilizó una bolsa de propileno (Figura 3) como sistema de muestreo.

**Figura 3.** Dispositivo de propileno utilizado para medir el volumen de CO<sub>2</sub> generado por la cáscara de banano maduro.



### **Determinación de la concentración de CO<sub>2</sub> generado en el reactor por los residuos de cáscara de banano maduro.**

El análisis del CO<sub>2</sub> generado fue realizado in situ, mediante un Cromatógrafo de Gases marca FULI (Figura 4), equipado con detectores de ionización de llama (FID) y conductividad térmica (TCD) y una columna capilar (Supel-Q PLOT 30 m X 0,32 mm X40 um). Se usó hidrógeno como gas portador, el horno estuvo a una temperatura de 250 °C, el inyector a 250 °C y el detector de ionización de llama a 350 °C. Se construyó una curva de calibración con CO<sub>2</sub> como estándar de referencia. Todas las lecturas se hicieron por duplicado.

**Figura 4.** Cromatógrafo de gases utilizado para medir de la concentración de CO<sub>2</sub> generado en el reactor por los residuos de cáscara de banano maduro.



### **Conversión de litros de CO<sub>2</sub> a toneladas de CO<sub>2</sub> que se dejan de emitir**

Para determinar las toneladas métricas de CO<sub>2</sub> generadas por los residuos de cáscara de banano madura, se utilizó la densidad de este gas que tiene un valor de 1,96 g/L.

### **Determinación del potencial biotecnológico de la cáscara de banano maduro**

Mediante procesos biotecnológicos como hidrólisis enzimática y fermentación alcohólica, la cáscara de banano madura puede ser bioconvertida en glucosa y bioetanol respectivamente, siendo este último un biocombustible de segunda generación. Para aumentar el rendimiento y la cinética de bioconversión de residuos lignocelulósicos en biocombustibles es necesario incorporar etapas de pretratamiento durante este proceso biotecnológico.

### **Pretratamiento de molienda + hidróxido para la hidrólisis enzimática**

Esta forma de degradación se realizó mediante molienda de la cáscara de banano adicionando hidróxido de sodio al 1% hasta alcanzar un pH de 11. Se dejó la biomasa celulósica en reposo durante un día. Posteriormente a ello, se agregó ácido cítrico hasta alcanzar un pH de 5, que es el pH adecuado para que el hongo tenga una adaptación óptima para el proceso de hidrólisis enzimática.

El método consiste en hidrolizar mediante enzimas (celulasas) la celulosa presente en la cáscara de banano para transformarla en glucosa, mediante la utilización del hongo de género *Trichoderma* especie viride como agente productor de estas enzimas. (Romero, Ayala, & Lapo, 2015)

Una vez realizado el pretratamiento se acondicionaron los bioreactores de 4 L de capacidad a temperatura ambiente (28- 30 ° C) por 6 días, determinándose el contenido de glucosa cada día. Para lo cual se tuvo que filtrar previamente 5 ml de muestra. En este sentido, de acuerdo a la manifestado por Romero H. y col se adecuó una relación P/V de residuo lignocelulósico/agua de 60 %, con un volumen total de 2 Lt de sustrato (biomasa) que fue hidrolizada enzimáticamente con el hongo *Trichoderma reesei* a una concentración de 0,6 g/L (p/v), realizando una agitación manual previa para distribuir homogéneamente las enzimas celulasas producidas para la bioconversión de la celulosa en glucosa.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Cuantificación del volumen de CO<sub>2</sub> producido por los residuos de cáscara de banano maduro.

Después de 9 días de cuantificar el volumen de CO<sub>2</sub> producido por 5 Kg de cáscara de banano maduro, se obtuvo un volumen total acumulado de 33 L de gas. Con este valor se realizó el cálculo de Toneladas métricas (Tm) de CO<sub>2</sub>/Tm de cáscara, y los Litros (L) de CO<sub>2</sub> /kg cáscara día, de la siguiente manera:

$$d = m / V$$

Donde:

d= densidad

m= masa

V= volumen

$$d \text{ CO}_2 = 1.96 \text{ g L}^{-1}$$

Despejando  $m = d \cdot V = 1.96 \text{ g L}^{-1} \times 33 \text{ L de CO}_2 \text{ obtenido} = 64,7 \text{ gramos de CO}_2$   
 $\times 1 \text{ Tonelada } 1000000 \text{ gramos} = 6,5 \times 10^{-5} \text{ Tm de CO}_2$

$$6,5 \times 10^{-5} \text{ Ton CO}_2 \text{ 5Kg cáscara} \times 1000 \text{Kg } 1 \text{ Tonelada} = \\ = 0.013 \text{ Tm CO}_2 \text{ Tm Cáscara}$$

De la misma manera:

$$33 \text{ L CO}_2 / (5\text{Kg cáscara} \times 9\text{días}) = 0.73 \text{ L CO}_2/\text{Kg cáscara día}$$

A continuación en la Tabla 2 se presenta el potencial de cáscara de banano maduro para generar CO<sub>2</sub> al ser dispuesto en botaderos a cielo abierto, e incentivo de bonos de carbono que podría obtenerse debido a su mitigación por el aprovechamiento de este residuo mediante la obtención de jarabe glucosado mediante hidrólisis enzimática.

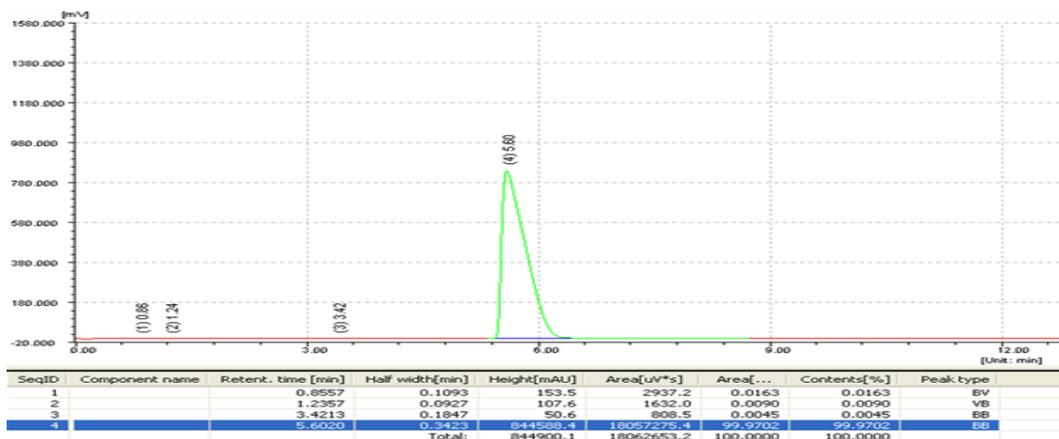
**Tabla 1.** Potencial bioeconómico de cáscara de banano maduro para generar CO<sub>2</sub> y posible incentivo de bonos de carbono por su mitigación mediante la obtención de jarabe glucosado.

Cáscara de Banano Maduro	CO <sub>2</sub> generado
1 Tm	0,013 Tm
300 Tm / semana	3,9 Tm/semana
15600 Tm/año	403,6 Tm/año
7 euros /Tm (valor referencial España)	\$ 2823,2/año Posible incentivo a las empresas por la mitigación de este gas al cambio climático

### Concentración del CO<sub>2</sub> producido por cáscara de banano maduro.

Después de las 8 primeras horas de haber montado el reactor con las cáscaras de banano maduro se obtuvo 1 litro de gas en el sistema de muestreo (Figura 3). El cromatograma de este gas, a un tiempo de retención de 5,6 minutos y un área de pico de 18057,27 mV.s, corresponde a un 99,97 % de concentración de CO<sub>2</sub>, tal como se puede observar en la Figura 6.

**Figura 6.** Cromatograma del CO<sub>2</sub> producido por cáscara de banano maduro después de 8 horas en el tanque de almacenamiento.



Con el valor de 0.73L CO<sub>2</sub>/Kg día generado a partir de esta cáscara, se pudo determinar que se estaría produciendo una cantidad de 262.8 m<sup>3</sup>/Tm año de este gas. A continuación la Tabla 2 muestra una comparación del potencial biotecnológico de la cáscara frente a otros residuos lignocelulósicos.

**Tabla 2.** Potencial de biogás de los diferentes residuos de frutas y vegetales

CATEGORÍA DE RESIDUOS	Tipo de residuos	m <sup>3</sup> /Tm AÑO	CO <sub>2</sub> %	CO <sub>2</sub> M <sup>3</sup> /Tm AÑO	CH <sub>4</sub> %	CH <sub>4</sub> m <sup>3</sup> /Tm	Referencia
Vegetales	espárragos, guisantes, zanahorias, etc.	135	45%	60,75	55%	74,25	(Banks, Salter, & Cheshire, 2006)
Frutas	pulpa de manzana, etc.	171	40%	68,4	60%	102,6	(Banks, Salter, & Cheshire, 2006)
Cascaras de frutas y vegetales	cáscara de naranja	147,6	50%	73,5	50%	73,5	(El-Shimi, 1992)
	Cáscara de cacao	95,4	50%	47,7	50%	47,7	(Sánchez J. , 2013)
	cáscara de haba	55,08	50%	27,54	50%	27,54	(Petersson & Mette H. Thomsen, 2007)
	cáscara de papa	35	50%	17,5	50%	17,5	(Banks, Salter, & Cheshire, 2006)
	cáscara de banano	262,8	40%	105,12	60%	157,68	(Romero H. , 2016)

Elaborada por los autores.

Según esta tabla la cáscara de banano tiene el mayor potencial de producción de biogás comparado con otros residuos de frutas y vegetales.

## **Producción de Jarabe Glucosado por cada día de hidrólisis enzimática de cáscara de banano.**

Después del sexto día se obtuvo un promedio de concentración de jarabe glucosado de 5,91 g/L (Romero, Ayala, & Lapo, 2015).

Son diversos los reportes del rendimiento de biogás, CO<sub>2</sub> y metano (Tabla 2), a partir de diferentes fuentes de residuos lignocelulósicos.

## **DISCUSIÓN**

A partir de la medición de emisiones de CO<sub>2</sub> por cáscara de banano madura mediante la determinación del volumen generado total y el análisis por cromatografía gaseosa se pudo determinar que el volumen de CO<sub>2</sub> que se estaría dejando de emitir al ambiente del lugar de estudio por los residuos de cáscara de banano maduro, debido a su aprovechamiento mediante hidrólisis enzimática es de 403,8 toneladas métricas CO<sub>2</sub>/año (0.73 L CO<sub>2</sub> / Kg cáscara banano madura día) con una concentración de 99,97 % de pureza. Esta mitigación de las emisiones de CO<sub>2</sub> cuantificadas en bonos de carbono en España que tiene un valor de 7 euros/Tm CO<sub>2</sub> dejado de emitir, permite obtener un valor de 2423,2 euros/año, que sería un incentivo a la mitigación del cambio climático por las dos empresas que presentan actividad agroindustrial en la Provincia de El Oro.

Los resultados de 0.73 L CO<sub>2</sub> / Kg cáscara de banano maduro día presentados en este trabajo son comparables a los obtenidos por (Somashekar, 2014) que reportaron una producción de biogás diaria de 1.5 L biogas/L residuo alimenticio día, lo cual, considerando que el biogás tiene un 40 % de CO<sub>2</sub>, la conversión resulta en un aproximado de 0.56 L CO<sub>2</sub> / L residuo alimenticio día) para una mezcla de desechos de verduras. En este mismo sentido (El-Shimi, 1992) alcanzaron valores de producción de este gas efecto invernadero de 0.45 L CO<sub>2</sub>/Kg cascara naranja día (0.998 m<sup>3</sup> biogas/ m<sup>3</sup> cascara naranja día).

Adicionalmente, de acuerdo a los resultados obtenidos, se puede observar que las concentraciones de glucosa en el jarabe glucosado obtenidas en el presente estudio alcanzaron como media 5 g/L aproximadamente durante el sexto día de experimentación, los cuales son menores a los 20 g/L reportados para hidrólisis ácida de cáscara de banano al cuarto día (Monsalve., 2006). Cabe señalar que, estos investigadores utilizaron hidrólisis ácida, que por su naturaleza química genera subproductos contaminantes para el medio ambiente.

## **CONCLUSIONES.**

A partir de la medición de emisiones de CO<sub>2</sub> por cáscara de banano madura mediante el volumen generado total y el análisis por cromatografía gaseosa se pudo determinar que el volumen de CO<sub>2</sub> que se estaría dejando de emitir al ambiente del lugar de estudio por los residuos de cáscara de *Musa paradisiaca* L. (banano) madura de la empresa CONFOCO S.A., debido a su aprovechamiento mediante hidrólisis enzimática es de 201,8 toneladas métricas con una concentración de 99,97 % de pureza. Esta mitigación de las emisiones de CO<sub>2</sub> cuantificadas en bonos de carbono en España que tiene un valor de 7 euros/Tm CO<sub>2</sub> dejado de emitir, permite obtener un valor de 2423,2 euros/año, que sería un incentivo bioeconómico a la mitigación del cambio climático por la empresa antes mencionada.

Las concentraciones de glucosa en el jarabe glucosado obtenidas en el presente estudio alcanzaron como media 5 g/L aproximadamente durante el sexto día de experimentación, los cuales son menores a los 20 g/L reportados para hidrólisis ácida de cáscara de banano al cuarto día (Monsalve., 2006). Cabe señalar que, estos investigadores utilizaron hidrólisis ácida, que por su naturaleza química genera subproductos contaminantes para el medio ambiente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Banks, C., Salter, A., & Chesshire, M. (2006). *Potential of anaerobic digestion for mitigation of greenhouse gas emissions and production of renewable energy from agriculture: barriers and incentives to widespread adoption in Europe*. Amsterdam.
- El-Shimi. (1992). Biogas generation from food-processing wastes. . *Resources, Conservation and Recycling*, 315 - 317.
- Hinojosa, A. .. (04 de Septiembre de 2014). *Valorización de Biomasa Residual Agrícola para Aprovechamiento Energetico*.
- Hinojosa, A. .. (2014). *Valorización de Biomasa Residual Agrícola para Aprovechamiento Energético*.
- Monsalve. (2006). *PRODUCCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE LA CÁSCARA DE* . Medellín.
- Petersson, & Mette H. Thomsen, H. H.-N.-B. (2007). Potential bioethanol and biogas production using lignocellulosic. *Science Directe (biomass and bioenergy)*, 812-817.
- Romero, H. DEGRADACIÓN FISICO QUIMICA APLICADA A LA CÁSCARA DE Musa paradisiaca L. (BANANO) MADURA PARA OBTENER JARABE GLUCOSADO MEDIANTE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA. (2016). Machala.
- Romero, H., Ayala, H., & Lapo, B. (2015). *Efecto de tres pre-tratamientos de cáscara de banano para la obtención de jarabe glucosado mediante hidrólisis enzimática*. Machala.
- Sánchez, J. (2013). *EVALUACIÓN ENERGÉTICA DE CÁSCARAS DE CACAO NACIONAL Y CCN-51*. Cuenca.
- Sánchez, O., & Cardona, C. (2005). *Producción biotecnológica de alcohol carburante I: obtención a partir de diferentes materias primas*. Medellín.
- Somashekar. (2014). *Potencial Of biogas production from food waste in a international Journal of Geology, Agriculture and Environmental Sciences*,1.