

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

**Evaluación de la composición de las biomasas residuales de
plátano verde (*Musa spp*) y papa (*Solarum Tuberosum*)
antes y después del proceso de extracción de almidón**

Proyecto de investigación

Ricardo Daniel Flor Blanco

Ingeniería Química

Trabajo de titulación presentado como requisito
para la obtención del título de Ingeniero Químico

Quito, 15 de diciembre de 2017

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO DE CIENCIAS E INGENIERÍAS

HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN

**Evaluación de la composición de las biomasas residuales de plátano verde
(Musa spp) y papa (Solarum Tuberosum) antes y después del proceso de
extracción de almidón**

Ricardo Daniel Flor Blanco

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

Daniela Almeida, Ph.D.

Firma del profesor

Nombre del profesor, Título académico

Juan Diego Fonseca, Ph.D.

Firma del profesor

Quito, 15 de diciembre de 2017

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante:

Nombres y apellidos:

Ricardo Daniel Flor Blanco

Código:

00113097

Cédula de Identidad:

1716268162

Lugar y fecha:

Quito, 15 diciembre de 2017

Agradecimientos

A Dios por permitirme culminar una etapa más de mi vida.

A mis padres, Grace y Richard, que siempre supieron apoyarme y guiarme.

A mis abuelos Ricardo, Teresita del niño Jesús y Teresita por su inmenso amor.

A mi familia por ser una parte importante en mi vida.

A Martina Cocios por ser un apoyo incondicional en la elaboración de este proyecto.

A la Dr.-Ing. Daniela Almeida, Directora de Tesis por guiarme en este proyecto y ser siempre una guía en mi carrera estudiantil al igual que en mi vida.

Al Dr.-Ing. Juan Diego Fonseca, Co-Director de Tesis por brindarme su apoyo y consejos en la planificación y culminación de este proyecto.

Al Ing.-Daniel Carrasco por siempre tener tiempo para mis dudas y dificultades.

Al departamento de Ingeniería Química por ser la base sobre la cual se elaboró este proyecto. Por su apoyo en el día a día de la realización de este trabajo y también por formarme como profesional.

A mis amigos de la infancia y a lo largo de mi carrera estudiantil por ser la motivación diaria en mi vida.

A cada uno de ustedes gracias.

RESUMEN

La presente investigación se enfocó en la caracterización de dos residuos de biomásas nacionales con potencial para la producción de biocombustibles y biomateriales. Los residuos de biomásas caracterizadas fueron cáscara de plátano verde (*Musa spp*) y papa de descarte (*Solanum Tuberosum*) antes y después de la extracción de almidón. Se realizó un análisis proximal para determinar humedad, cenizas, grasas, proteínas y contenido de carbohidratos. La caracterización de carbohidratos específicos fueron almidón, lignina, celulosa, hemicelulosa, pectina y azúcares reductores. El objetivo de la caracterización es plantear los métodos más adecuados de cuantificación de los diferentes componentes de la biomasa para así evaluar el rendimiento de la extracción de almidón.

La cáscara de plátano verde (*Musa spp*) tuvo una composición de 77.7% p/p \pm 0.57% de humedad, materia orgánica de 12.7% p/p \pm 0.09% y cenizas del 1.5% p/p \pm 0.37% en base húmeda. El principal componente de la materia orgánica fueron los carbohidratos con 10.4% p/p \pm 0.041%. El almidón fue el mayor carbohidrato con 2.98% p/p \pm 0.66%, seguido de lignina 1.42% p/p \pm 0.009% y celulosa con 0.93% p/p \pm 0.45%. Otros compuestos importantes en el análisis proximal fueron proteína con 1.9% p/p \pm 0.23% y grasas con 0.5% p/p \pm 0.29%. Posterior a la extracción el contenido de humedad aumento al 88.6% p/p \pm 0.41%, la materia orgánica se redujo a 11.1% p/p \pm 0.07% y las cenizas se redujeron a 0.4% p/p \pm 0.13%.

La papa (*Solanum Tuberosum*) tuvo una composición de 77.7% p/p \pm 0.427% de humedad, 21.2% p/p \pm 0.006% de materia orgánica y 1.2% p/p \pm 0.17% de cenizas en base húmeda. Los carbohidratos fueron las principales fuentes de materia orgánica con 15.6% p/p \pm 0.05% y el almidón el mayor carbohidrato con 8.43% p/p \pm 0.42%. La proteína constituyó el 3.13% p/p \pm 0.50% y las grasas el 0.16% p/p \pm 0.18%. Posterior a la extracción la humedad y la materia orgánica se mantuvo igual pero las cenizas se redujeron a 0.2% p/p \pm 0.01%.

Los resultados también indican que como el proceso de extracción de almidón extrae carbohidratos, material orgánico y material inorgánico. Además se observa una disminución en la suma de los análisis de carbohidratos individuales como la celulosa, lignina, hemicelulosa y azúcares reductores en comparación a los carbohidratos totales debido al rompimiento de las cadenas de azúcares en estos compuestos a azúcares simples lo cual permitió la solubilidad de los mismos en los procesos de filtración y lavado de las muestras previo a su cuantificación.

Palabras clave: cáscara de plátano verde, papa de descarte, composición proximal, contenido de almidón, contenido de lignina, contenido de celulosa, contenido de hemicelulosa.

ABSTRACT

The present investigation focused in the characterization of two national biomass residues with potential for the production of biofuels and biomaterials. The characterized residual biomasses were green banana (*Musa spp*) peel and discarded potato (*Solanum Tuberosum*) before and after the extraction of starch. A proximal analysis was done to determine the content of humidity, ashes, fat, protein and carbohydrate content. The carbohydrates content characterizations where starch, lignin, cellulose, hemicellulose, pectin and reducing sugars. The objective of the composition characterization is to propose the appropriate methods of quantification of the different components of the biomass to evaluate the efficiency of the starch extraction.

The green banana peel (*Musa spp*) had a humidity composition of 77.7% p/p \pm 0.57%, organic material content of 12.7% p/p \pm 0.09% and ashes content of 1.5% p/p \pm 0.37% in wet base. The main component of the organic material was carbohydrates with 10.4% p/p \pm 0.041%. Starch was the major carbohydrate component with a content of 2.98% p/p \pm 0.66%, followed by lignin 1.42% p/p \pm 0.009% and cellulose with 0.93% p/p \pm 0.45%. Other important components of the proximal analysis were protein 1.9% p/p \pm 0.23% and fat 0.5% p/p \pm 0.29%. After the extraction of starch the humidity content increased to 88.6% p/p \pm 0.41%. The organic material was reduced to 11.1% p/p \pm 0.07% and the ash content reduced to 0.4% p/p \pm 0.13%.

The discard potato (*Solanum Tuberosum*) had a humidity composition of 77.7% p/p \pm 0.427%, organic material content of 21.2% p/p \pm 0.006% and ash content of 1.2% p/p \pm 0.17%. The main organic material components were carbohydrates with 15.6% p/p \pm 0.05% and starch the major carbohydrate with 8.43% p/p \pm 0.42%. The protein composition was 3.13% p/p \pm 0.50% and the fat content of 0.16% p/p \pm 0.18%. After the extraction of starch, the humidity and organic material remained the same. Only the ashes were reduced to 0.2% p/p \pm 0.01%.

The results indicate that during the extraction process of starch, carbohydrates, organic material and inorganic material are also removed. It can also be observed a reduction in the sum of carbohydrates when summing individual carbohydrate analysis like cellulose, lignin, hemicellulose and reducing sugars in comparison to total carbohydrates. This discrepancy is due to the breaking of complex sugar chains in simple sugars, which allowed the solubility of these components in the process of filtration and washing of the samples before their quantification.

Key words: green banana peel, discarded potato, proximal composition, starch content, lignin content, cellulose content, hemicellulose content.

TABLA DE CONTENIDO

Indice de Tablas	9
1. Introducción.....	11
1.1 Antecedentes y justificación	11
1.2 Objetivos	13
1.2.1 Objetivo general	14
1.2.2 Objetivos Específicos	14
2. Fundamentos Teóricos.....	15
2.1 Problemática del uso de productos de origen fósil	15
2.2 Concepto de biorefinería	16
2.3 Aprovechamiento de biomasa para la producción de materiales renovables	19
polibutirato (PBAT) (Cheng, 2014).....	20
2.4 Aprovechamiento de biomasa para producción de biocombustibles	20
2.5 Ecuador como país con alto potencial para industria agropecuaria	24
2.5.1 Producción de bioetanol como biocombustible en Ecuador.....	24
2.5.2 Producción de biomateriales a partir de biomasa en Ecuador	26
2.5.3 Biomasa residual obtenida de plátano verde (Musa SPP).....	27
2.5.4 Biomasa residual obtenida de papa (Solanum Tuberosum).....	28
2.6 Caracterización de biomasa	30
2.6.1 Humedad	30
2.6.2 Cenizas	30
2.6.3 Grasa	31
2.6.4 Proteína	31
2.6.5 Almidón.....	32
2.6.6 Fibra	35
2.6.7 Material Lignocelulósico	35
Celulosa	36
Lignina	37
Hemicelulosa	38
2.6.8 Pectina	39
2.6.9 Azúcares totales y azúcares reductores	41

2.7	Extracción de almidón.....	43
3.	Métodos Experimentales.....	44
3.1	Determinación de humedad.....	44
3.2	Determinación de cenizas.....	45
3.3	Determinación de grasa.....	45
3.4	Determinación de proteína.....	46
3.5	Determinación de azúcares totales.....	48
3.6	Determinación de almidón.....	48
3.7	Determinación de fibra cruda.....	50
3.8	Determinación de lignina.....	52
3.9	Determinación de celulosa.....	52
3.10	Determinación de hemicelulosa.....	53
3.11	Determinación de pectina.....	54
3.12	Determinación de azúcares reductores.....	55
4.	Resultados y Discusión.....	57
4.1	Contenido de humedad, cenizas y materia orgánica.....	57
4.2	Análisis proximal de materia orgánica.....	59
4.2.1	Grasa.....	62
4.2.2	Proteína.....	63
4.2.3	Carbohidratos.....	64
4.3	Composición específica de los carbohidratos.....	65
4.3.1	Almidón.....	69
4.3.2	Fibra.....	69
4.3.3	Lignina.....	70
4.3.4	Celulosa.....	71
4.3.5	Hemicelulosa.....	72
4.3.6	Pectina.....	73
4.3.7	Azúcares reductores.....	74
4.4	Composición de las biomásas antes y después de la extracción de almidón.....	75
5.	Conclusiones y Recomendaciones.....	79
6.	Referencias Bibliográficas.....	81

INDICE DE TABLAS

Tabla 2-1. Ventajas y desventajas de los combustibles de primera y segunda generación.....	23
Tabla 2-2. Producción agrícola anual en el Ecuador (Ministerio Coordinador de Producción, Empleo y Competitividad, 2016).....	26
Tabla 2-3. Producción de Plátano verde por provincia en el Ecuador en orden descendente en cantidad de producción anual.....	28
Tabla 2-4. Producción de Papa por provincia en el Ecuador	29
Tabla 2-5. Comparación de las propiedades de Amilosa y Amilopectina.....	33
Tabla 4-1. Promedios y desviaciones estándar de las caracterizaciones de plátano verde (<i>Musa spp</i>) y papa (<i>Solanum Tuberosum</i>) en base húmeda	67
Tabla 4-2. Composición total de cáscara de plátano verde (<i>Musa spp</i>) en base húmeda y base seca	76
Tabla 4-3. Composición total de papa de descarte (<i>Solanum Tuberosum</i>) en base húmeda y base seca	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2-1. Etapas de procesos dentro de una biorefinería.....	17
Figura 2-2. Diferentes procesos de transformación de biomasa en una biorefinería	19
Figura 2-3. Suministro de gasolinas a nivel nacional en 2015 y su proyección para el 2017 (Ministerio Coordinador de Producción, Empleo y Competitividad, 2016).....	25
Figura 2-4. Estructura de ácidos grasos	31
Figura 2-5. Estructura lineal de amilosa con extremos reductores unidos por enlaces α -1,4	34
Figura 2-6. Estructura molecular de amilopectina (Aristizabal & Mejía, 2007).....	34
Figura 2-7. Estructura de celulosa a partir de glucosas mediante enlaces glucosídicos β (1,4) (Norwegian University of Science and Technology-NTNU, 2005).....	36
Figura 2-8. Interacción de puentes de hidrógeno entre cadenas de celulosa (Calvo & etal., 1995)....	37
Figura 2-9. Estructura química de lignina de madera blanda (Norwegian University of Science and Technology-NTNU, 2005).....	38
Figura 2-11. Estructura de hemicelulosa con enlaces β -1,4 (Scott, 2011).....	39
Figura 2-12. Estructura de la pectina Homogalacturonano (De Vries, 1983)	40
Figura 2-13. Estructura esquemática de diferentes tipos de pectina (Hilz, 2007).....	41
Figura 2-14. Estructura lineal y cíclica de la glucosa (Voet & etal., 2013)	42
Figura 2-15. Estructura de aldosa y cetona (Voet & etal., 2013).....	42
Figura 2-16. Estructura de Maltosa.....	42
Figura 2-17. Etapas de la extracción de almidón de biomosas.....	43
Figura 4-1. Composición de la cáscara del plátano verde antes y después de la extracción de almidón	58
Figura 4-2. Composición proximal de la cáscara de papa antes y después de la extracción de almidón	59
Figura 4-3. Composición de materia orgánica de cáscara de plátano verde en base seca antes y después de la extracción de almidón.....	61
Figura 4-4. Composición de materia orgánica de papa de descarte en base seca antes y después de la extracción de almidón	61
Figura 4-5. Contenido de grasa antes y después de la extracción de almidón.....	62
Figura 4-6. Contenido de proteína antes y después de la extracción de almidón	64
Figura 4-7. Contenido de azúcares totales antes y después de la extracción de almidón	65
Figura 4-8. Composición de carbohidratos en la cáscara de plátano verde	68
Figura 4-9. Composición de carbohidratos en la papa de descarte	68

1. Introducción

1.1 Antecedentes y justificación

El siglo 21 tiene que enfrentar los problemas del crecimiento poblacional y el incremento industrial mundial. En la actualidad 150 millones de personas se desplazan de zonas rurales a zonas urbanas que para el 2050 concentrarán más de 7 billones de personas. Esto representará el 80% de la población mundial (Donath, 2014). En consecuencia el 75% de las emisiones de dióxido de carbono mundial serán generadas en las zonas urbanas de acuerdo al Departamento de Asuntos Económicos y Sociales (DESA) de las Naciones Unidas (Donath, 2014). Por esta razón se necesita invertir en tecnologías que cambien la forma en la que viven y trabajan las personas al igual que su acceso a energía, transporte y manejo de residuos. El crecimiento industrial genera también efectos en el medio ambiente, principalmente por ser los combustibles fósiles la principal fuente de energía y productos químicos. Los problemas relacionados a los recursos fósiles son su impacto ambiental negativo, lento proceso de regeneración e inestabilidad en su precio. Los precios del barril de petróleo han sido muy volátiles los últimos años y las proyecciones en el precio varían entre \$32.82/b y \$85.36/b para diciembre del 2018 (Amadeo, 2017). Un cambio en la oferta mundial podría direccionar el precio hacia los \$85.36/b como sucedió en esta última década. Estas razones han generado un importante interés en la biomasa mundial.

La biomasa se ha reconocido como potencial fuente para abastecer parte de la demanda energética y no energética mundial debido a su disponibilidad y su reducido impacto en el medioambiente. El interés por la biomasa se debe a que la biomasa es el material con mayor disponibilidad sobre la tierra rico en carbono adicional a los fósiles. Además de su disponibilidad, las emisiones de carbono son neutras en los productos derivados de biomasa debido al ciclo natural de carbono. Aprovechando la biomasa se puede mitigar el cambio climático y también disminuir la dependencia en recursos fósiles (Guerrero, 2015).

Las aplicaciones de biomasa son amplias. La principal aplicación es la energética mediante la transformación de azúcares y aceites a combustibles como el bioetanol o el biodiesel. Actualmente la biomasa cubre el 14% de la demanda mundial de energía, pero es utilizado en procesos ineficientes donde no se aprovechan todos sus compuestos (Kummamuru, 2016). Otra aplicación importante de biomasa es la producción de materiales renovables como los bioplásticos; reemplazos directos a los plásticos derivados del petróleo. Cada una de las aplicaciones requiere de compuestos específicos como azúcares, almidones, celulosa, entre otros; los cuales se encuentran en diferentes proporciones en diversas fuentes.

Ecuador es un país agrícola en el cual se tienen 9 cultivos principales. Entre los cultivos más importantes se encuentran el plátano verde (*Musa spp*). Este fruto de la familia de las Musáceas, especie *Musa Paradisiaca*, es de interés mundial por su alto contenido de almidón y material lignocelulósico (Instituto Nacional de Preinversión , 2014). La producción anual del plátano verde en Ecuador es de 430 mil toneladas (Instituto Nacional de Preinversión , 2014). Otro de los principales cultivos son los cultivos de ciclo corto. Uno de los principales cultivos de ciclo corto es la papa (*Solanum Tuberosum*). Este tubérculo de la especie de planta herbácea, perteneciente al género *Solanum*, es uno de los tubérculos con mayor contenido de almidón en el mundo (Sooner, 2005). La producción nacional de este tubérculo es de aproximadamente 9.4 millones de toneladas (Devaux, 2011). Debido a sus altos contenidos de carbohidratos y disponibilidad en Ecuador estas dos biomásas son propicias a ser estudiadas y evaluadas como fuentes de carbohidratos para la producción de combustibles o materiales renovables.

El programa *Bio-wastes to resources* (BioW2R) forma parte de las líneas de investigación del *Instituto de Desarrollo de Energías y Materiales Alternativos* (IDEMA) de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ), en el cual se estudian diferentes biomásas y sus residuos para encontrar nuevas aplicaciones de las mismas como materias primas o fuentes de energía. El objetivo en el IDEMA es

investigar diferentes tipos de biomasa y residuos para a partir de ellos desarrollar nuevas tecnologías para su utilización como fuentes alternativas de energía, biomateriales o precursores químicos para su posterior aplicación en procesos productivos.

El programa *BioW2R* investiga la producción de combustibles alternativos y biopolímeros a partir de biomasa residual. El objetivo es la utilización de residuos con alto contenido de celulosa, hemicelulosa, lignina y almidón como materias primas secundarias para la generación de productos de valor agregado. De esta manera, se busca aprovechar el carbono orgánico residual que forma parte del ciclo natural del carbono de la Tierra, contribuyendo de manera mínima a los gases de efecto invernadero (Guerrero, 2015). La meta es eliminar el desperdicio de biomasa que pueda ser modificada para obtener algún provecho industrial al mismo tiempo que se reduce el consumo de materia proveniente de los fósiles.

Dentro del programa *BioW2R* un área de alta relevancia es la caracterización de la biomasa residual. Al utilizar residuos agroindustriales como materia prima, la variabilidad en la composición de compuestos orgánicos es alta. La variación proviene de la disponibilidad de residuos provenientes de biomasa en función de la temporada, el grado de madurez de compuestos ricos en azúcares, y la mezcla de las biomasa, entre otros factores. Sin embargo, las tendencias y relaciones se mantienen para ciertos tipos de biomasa y al conocer la composición se puede definir su mejor procesamiento.

1.2 Objetivos

La caracterización de biomasa tiene que ser realizada de manera minuciosa y precisa, ya que este paso determina el uso final de la biomasa. Se deben desarrollar métodos para caracterizar la mayor cantidad de constituyentes específicos de las diferentes biomasa. Estas caracterizaciones deben contener parámetros proximales como son el contenido de humedad, cenizas, proteína, fibra,

grasas, entre otras. También se desea conocer las composiciones específicas como carbohidratos, incluyendo celulosa, lignina, almidón y otros azúcares simples. Estos métodos de caracterización deben ser replicables, y de ser posible realizarse de acuerdo a normas estandarizadas.

En concordancia a lo expuesto anteriormente, se han definido los siguientes objetivos para este estudio:

1.2.1 *Objetivo general*

- Caracterizar dos biomásas residuales antes y después de la extracción de almidón para conocer su composición y determinar la eficiencia de la extracción de almidón.

1.2.2 *Objetivos Específicos*

- Determinar los métodos apropiados para la caracterización de biomasa residual.
- Comparar los resultados de la caracterización de biomásas nacionales con datos referenciales.
- Determinar la composición de los desechos de papa (*Solanum Tuberosum*) y plátano verde (*Musa spp*) antes y después de la extracción de almidón de biomasa nacional.

2. Fundamentos Teóricos

2.1 Problemática del uso de productos de origen fósil

Existe una dependencia importante en el consumo de combustibles fósiles y los derivados de petróleo en la economía mundial. Durante los últimos años ha crecido la preocupación mundial, tanto política como económica, por la disminución de los recursos fósiles y también por los efectos nocivos hacia el medio ambiente. Evidencia científica indica que las emisiones de gases de efecto invernadero, o GHG por sus siglas en inglés, como dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4) y óxidos nitrosos (NO_x) provenientes de la combustión de combustibles fósiles están perturbando el clima en la Tierra (Axelsson, 2011). La cuarta evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático del año 2014, conocidos acrónicamente en inglés como IPCC, señala que la creciente población mundial y la demanda per cápita de energía están generando un rápido incremento en la emisión de los gases de efecto invernadero (Intergovernmental Panel on Climate Change, 2014). Hoy en día más del 90% del carbono de los recursos fósiles es utilizado con fines energéticos (Marquardt & et al., 2010).

La principal fuente de energía para el sector de transporte a nivel mundial, al igual que de la producción de químicos, es el petróleo. La demanda de barriles de petróleo en el año 2016 fue de 97 millones con una proyección a 116 millones de barriles diarios para el año 2030. De esta demanda, aproximadamente el 60% corresponde al sector del transporte (IEA, 2007). La industria química tiene una dependencia aún mayor hacia recursos fósiles. La mayoría de los químicos básicos e intermediarios son producidos a partir de la refinación de petróleo. Alrededor de un 4% del petróleo mundial es utilizado para la manufactura de químicos y producción de plásticos (Nossim, 2009). Esto nos lleva a otro de las problemáticas más importantes en la actualidad la reducción de la contaminación proveniente de los plásticos (Cheng, 2014). El problema con los plásticos es la gran contaminación que se ha generado por su disposición inadecuada y su consecuente afectación a los

diversos ecosistemas en todo el mundo al ser no degradables por los microorganismos y ocasionando la muerte de miles de animales.

2.2 Concepto de biorefinería

El procesamiento de desechos de biomasa debe ser realiza de forma descentralizada y específica para un tipo de residuo. Existen por ejemplo los ingenios azucareros que procesan materias con alto contenido de azúcar para producir bioetanol y generan como desechos residuos con alto contenido de material lignocelulósicos (Ministerio Coordinador de Producción, Empleo y Competitividad, 2016). Estos desechos lignocelulósicos podrían ser reutilizados para la producción de bioetanol a partir de la transformación de la biomasa en azúcares simples para su posterior fermentación (Cherubini, 2010). Al no haber la infraestructura y procesos adecuados en los ingenios, esta fuente de biomasa se descarta. Las biorefinerías buscan aglomerar estos procesos intrínsecamente relacionados para completar el ciclo de producción limpio y libre de desperdicios (Pandey, 2009).

Una de las propuestas para reemplazar el uso de recursos fósiles y optimizar el uso de la biomasa es la biorefinería. Este complejo es análogo al proceso de refinación del petróleo, cuya principal materia prima es la biomasa. Según la Especificación Técnica Europea CEN/TS 14588 la biomasa se define como “todo material de origen biológico excluyendo aquellos que han sido englobados en formaciones geológicas sufriendo procesos de mineralización” entre los cuales se encuentran el gas, carbón y petróleo (Instituto Nacional de Preinversión , 2014). El objetivo principal de este concepto es aprovechar la mayor cantidad de biomasa para producir productos útiles con la menor generación de desperdicios (Cherubini, 2010). El funcionamiento de las biorefinerías se basa en el proceso sustentable de transformar biomasa en una gama de productos comerciables y energía, según la Agencia Internacional de Energía conocida como IEA por sus siglas en inglés (IEA, 2007). La biorefinería entonces abarca las tecnologías que permiten la separación de la biomasa en sus

compuestos más básicos: proteína, celulosa, lignina, almidón, entre otros; y que pueden ser biorefinados para posteriormente ser convertida en productos de valor agregado. Estos productos de valor agregado pueden ser materiales biodegradables como biopolímeros, precursores químicos como ácidos orgánicos o fuentes de energía en forma de biocombustibles como el bioetanol, biodiesel y biogás. Para utilizar completamente el material disponible en la biomasa residual una biorefinería realiza los procesos mencionados en la Figura 2-1 (Rislaid & etal., 2010).

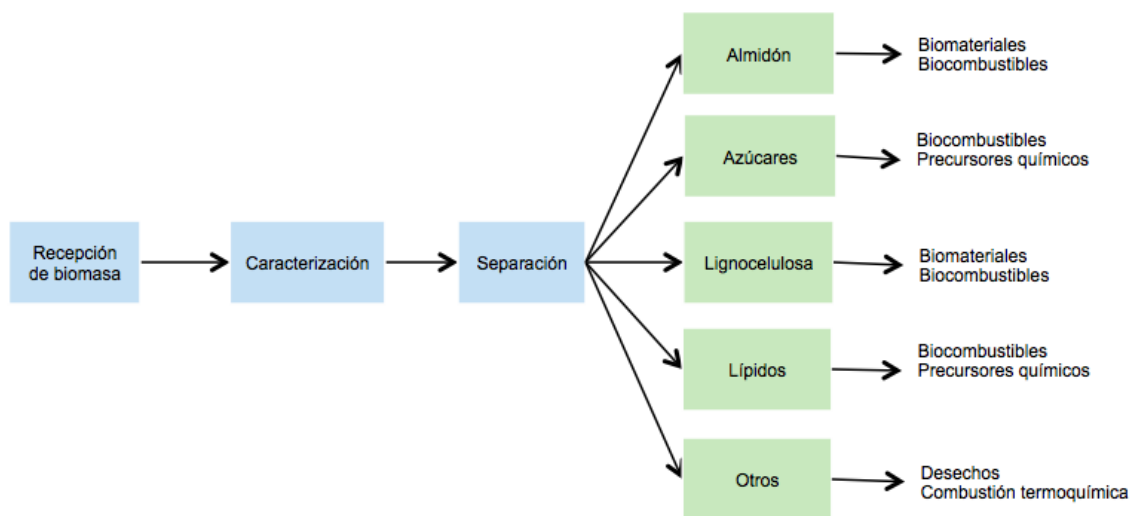


Figura 2-1. Etapas de procesos dentro de una biorefinería

Una de las etapas iniciales y más importantes dentro de una biorefinería es la optimización del procesamiento de la biomasa en función de su composición. Mediante la caracterización se determina el mejor método de procesamiento; por ejemplo un residuo de alto contenido de almidón podría ser inicialmente procesado para generar biopolímeros, y en una segunda etapa para producción de bioetanol. Por otro lado, un residuo con alto contenido de material lignocelulósico no puede proseguir ese proceso, sino que se destinaría al proceso de pre-tratamiento para convertir el material lignocelulósico en azúcares simples para la producción de bioetanol o mediante procesos térmicos. Es de vital importancia conocer los procesos y los métodos de caracterización para la consecución de una biorefinería.

Los procesos de transformación de la biomasa encajan en dos categorías, dependiendo de la composición proximal que estos posean: procesos termoquímicos, procesos químicos y bioquímicos. Los primeros se aplican a materia con bajo contenido de humedad como la biomasa lignocelulósica. Estos procesos incluyen la combustión, gasificación y pirolisis. La *combustión* es la forma más antigua de aprovechamiento de la energía de la biomasa. Mediante la combustión se puede obtener calor y aprovechar el mismo para generar vapor y electricidad mediante calderas o turbogeneradores (Instituto Nacional de Preinversión , 2014). La *gasificación* es la ruptura térmica completa de la biomasa en gas combustible, compuestos volátiles, carbón y cenizas en un reactor. Este proceso consiste de dos etapas: durante la primera los volátiles de la biomasa son vaporizados y se generan gases como CO y CO₂. En la segunda etapa el carbón gasificado reacciona con el oxígeno para generar CO y H₂, mezcla comúnmente denominada como gas de síntesis (syngas) (Pandey, 2009). La *pirolisis* es un proceso a alta temperatura en el cual la biomasa se calienta rápidamente en ausencia de oxígeno. Al descomponerse la biomasa se generan vapores, bio-oil y carbón (Instituto Nacional de Preinversión , 2014).

Los procesos químicos y bioquímicos se realizan a partir de biomasa húmeda. Dentro de estos procesos se encuentran la esterificación y transesterificación, la fermentación alcohólica o la digestión anaeróbica. La *esterificación y transesterificación* son procesos químicos en los cuales los aceites se combinan con alcohol (etanol o metanol) para producir ésteres grasos y glicerina. A su vez estos se pueden mezclar con diésel o ser usados directamente como biodiesel, un combustible de motores ya que posee la mitad del poder calórico de un fuel oil convencional (Instituto Nacional de Preinversión , 2014). La *digestión anaeróbica* es la fermentación anaeróbica de material orgánico húmedo el cual se descompone en ausencia de oxígeno para producir biogás, biol, y biosol, a través de la acción de bacterias y microorganismos. El biogás generado es aproximadamente 60% metano (CH₄) y 40% dióxido de carbono (CO₂). La *fermentación* alcohólica es un proceso biológico mediante el cual los azúcares simples de la biomasa son transformados en alcohol (etanol) mediante la acción

de microorganismos (Pandey, 2009). En la Figura 2-2 se esquematizan estos procesos y se indican los productos que se pueden obtener a partir de los mismos.

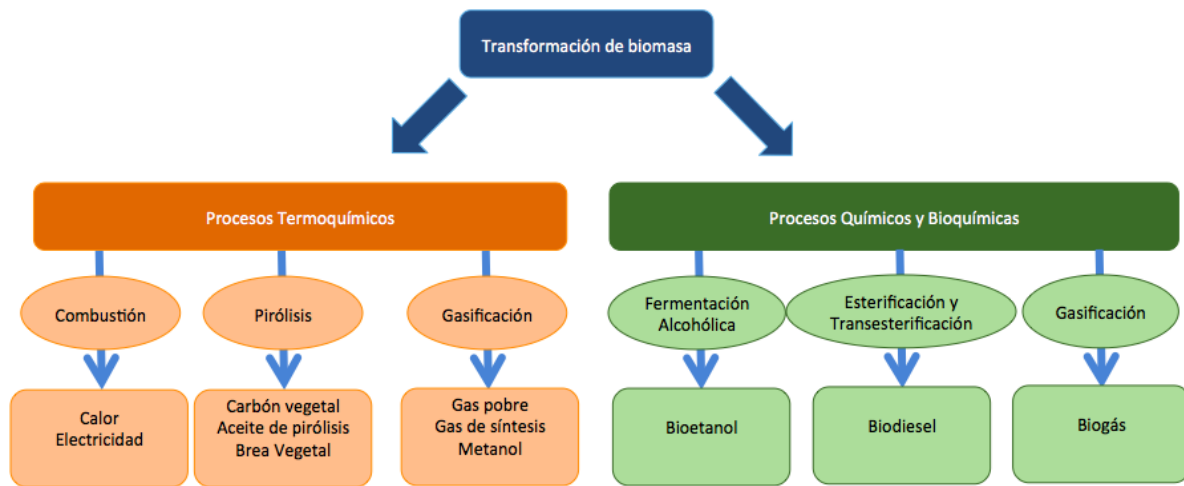


Figura 2-2. Diferentes procesos de transformación de biomasa en una biorefinería

2.3 Aprovechamiento de biomasa para la producción de materiales renovables

Una solución directa y viable para reemplazar el uso de plásticos hechos a partir de petróleo es la producción de bioplásticos; plásticos hechos a partir de fuentes renovables como la biomasa y que sean biodegradables (Gupta, 2008). Los *bioplásticos* se pueden dividir en tres categorías:

- Elaborados a partir de biomasa completa o parcialmente y que no son biodegradables o son solo parcialmente biodegradables; Por ejemplo polietileno (PE) biológico, polietileno tereftalato (PET) y biopolímeros de rendimiento técnico como el politrimetileno tereftalato (PTT) (Cheng, 2014).
- Elaborados a partir de biomasa y biodegradables por ejemplo ácido poliláctico (PLA) y polihidroxicanoato (PHA) (Cheng, 2014).
- Elaborados a partir de combustibles fósiles, pero completamente biodegradables por ejemplo polibutirato (PBAT) (Cheng, 2014).

La degradación de los bioplásticos ocurre en un menor tiempo al de los plásticos derivados de petróleo, por medio de microorganismos que los convierten en moléculas más cortas como lo son el dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄), agua (H₂O), biomasa, y algunos compuestos orgánicos (Cheng, 2014).

Debido al desarrollo actual de los bioplásticos, se han logrado obtener productos con características similares a los plásticos convencionales derivados del petróleo. Una de las mayores ventajas de la producción de bioplásticos frente a la producción de plásticos convencionales es la disminución de la huella de carbono del proceso debido a que en la manufactura de bioplásticos no utiliza combustibles fósiles como materia prima. La facilidad de degradación de los bioplásticos ha disminuido la acumulación de desechos permanentes. Se estima que se produjeron 300 millones de toneladas de bioplásticos mundialmente en el año 2012 (Portugal, 2012).

2.4 Aprovechamiento de biomasa para producción de biocombustibles

Existe una tendencia creciente en el consumo energético mundial, el cual ha generado un incremento en la producción de energía mundial. Paralelamente, la industria energética se

encuentra diversificando la producción por la necesidad de reducir el impacto medio ambiental producido por la generación de energía a partir del petróleo y carbón mineral (Guerrero, 2015). Una de las medidas de mayor impacto ha sido el uso de residuos de biomasa residual para su transformación en combustibles renovables (Cherubini, 2010).

La combustión de biomasa, a diferencia de la del petróleo no contribuye al efecto invernadero debido a que el carbono liberado es aquel que absorben y liberan continuamente las plantas durante su crecimiento, constituyendo un proceso de producción de carbono neutro. Esto sugiere que el empleo de los *biocombustibles*, combustibles derivados de biomasa como bioetanol, biodiesel y biogás entre otros, son el sustituto idóneo de los combustibles fósiles. Esta fuente de biocombustibles alternativos evita la degradación del medioambiente causado por emisiones de dióxido de carbono (Guerrero, 2015). Adicionalmente, el bioetanol y el biodiesel producidos a partir de la biomasa pueden reemplazar a los hidrocarburos en el transporte ya que estos son compatibles con la tecnología de motores disponibles ya sean a gasolina o a diésel.

El proceso de obtención de biocombustibles como el bioetanol se denomina de primera, segunda, tercera o cuarta generación, según la materia prima del cual es producido. Los *biocombustibles de primera generación* se producen a partir de cultivos específicos para estos fines con alto contenido de azúcar y almidón, y usualmente son producidos a partir de maíz, trigo y caña de azúcar. Los *biocombustibles de segunda generación* son biocombustibles producidos a partir de biomasa residual de procesos productivos o alimenticios (Santan-Maria & et al., 2013). Este proceso de producción incluye la utilización de material lignocelulósico tal como los residuos de la agricultura, industria (Santan-Maria & et al., 2013) forestal y también residuos con altos contenidos de azúcares, lípidos y otros, que pueden ser utilizados al extraer estos compuestos. Los *combustibles de tercera generación* y *biocombustibles de cuarta generación* se producen a partir de algas mediante nanotecnología (Rislaid & et al., 2010). La diferencia entre los biocombustibles de tercera y cuarta

generación es que los primeros son creados a partir del procesamiento de algas para producir bioetanol mientras que los de segundos se basan en ingeniería metabólica de microorganismos fotosintéticos (Jin & etal., 2011). Estos son los combustibles alternativos últimamente estudiados y de los cuales se sabe aún muy poco.

Anualmente el mercado de biocombustibles esta principalmente centrado en la producción de biocombustibles de primera generación. Los biocombustibles más comunes de primera generación son el bioetanol, biodiesel y biogás. En el año 2016, la producción mundial de bioetanol en el mundo alcanzo los 129 billones de litros. Estados Unidos es el mayor productor actualmente con 58.6 billones de litros por año a partir de trigo principalmente. El segundo mayor productor es Brasil con una producción de 29.4 billones de litros y su materia prima es la caña de azúcar (Kummamuru, 2016). De los 129 billones de litros producidos mundialmente, el 90% de la producción es de biocombustibles de primera generación. El 60% de bioetanol es utilizado para elaborar biocombustibles a partir de mezclas con hidrocarburos, como la gasolina, mientras que el resto se utiliza en la industria y bebidas. (Kummamuru, 2016)

Las ventajas de la producción de biocombustibles de primera generación en comparación a los de segunda generación es el alto contenido de azúcar, lo que hace más sencilla su conversión a biocombustibles y resulta en un alto rendimiento de bioetanol. Una desventaja es que se obtiene de materias primas necesarias en otros sectores como el alimenticio. Este tipo de biocombustible genera un debate ambiental, ético y político debido al uso de materia prima para producir energía o combustibles, en lugar de alimentos para la población humana o ganadera (Axelsson, 2011). Para superar estos cuestionamientos, se plantea como solución la generación de biocombustibles de segunda generación. Por otro lado los biocombustibles de segunda generación aparecen como la opción más viable en el largo plazo. Ventajas de los biocombustibles de segunda generación sobre los de primera generación incluyen la no competencia alimentaria y también resultan en un

incremento en la eficiencia de uso de suelo ya que la materia prima de los biocombustibles de segunda generación son los desechos o desperdicios de cultivos (Kim & Dale, 2004) (Santan-Maria & etal., 2013). La desventaja de los combustibles de segunda generación es que requieren de etapas de pre-tratamiento para transformar el material lignocelulósico en azúcares simples fermentables o para liberar los constituyentes de los residuos(Axelsson, 2011). Estas ventajas y desventajas se describen en la Tabla 2-1.

Tabla 2-1. Ventajas y desventajas de los combustibles de primera y segunda generación

Tipo de biocombustible	Ventajas	Desventajas
Primera generación	Fácil conversión de azúcares a alcohol Alto rendimiento de bioetanol	Competencia alimentaria Cuestionamientos éticos, ambientales y políticos
Segunda generación	No hay competencia alimentaria Incremento en la eficiencia de uso de suelo Aprovechamiento de residuos agroindustriales	Requieren pretratamientos para obtener azúcares fermentables o liberen constituyentes

El desarrollo de tecnologías para el aprovechamiento energético se ha concentrado en Europa y Estados Unidos, mientras que en Latinoamérica los mayores modelos de gestión se encuentran en Brasil y en Uruguay (Axelsson, 2011) (Instituto Nacional de Preinversión , 2014). En Ecuador, durante la última gestión gubernamental, se ha buscado diversificar la generación energética incorporando fuentes de energía alternativas, tales como presas hidroeléctricas, eólicas, plantas de generación energética a partir de la luz solar y uso de biomasa para producción de combustibles. De estas, la generación de energía a partir de combustibles renovables es el método de mayor proyección en el Ecuador (Instituto Nacional de Preinversión , 2014).

2.5 Ecuador como país con alto potencial para industria agropecuaria

Ecuador es un país agrícola exportador debido a su gran cantidad de recursos agrícolas, forestales y pecuarios. Esto gracias a su posición geográfica cerca de la línea ecuatorial gracias a la cual recibe una cantidad de luz proveniente del sol constante a lo largo del año. Debido a su posición entre los trópicos, Ecuador mantiene un clima templado en sus dos estaciones, verano e invierno el cual favorece el cultivo agroindustrial durante todo el año. El desecho de materia orgánica generado por estas industrias puede ser utilizado para generar energía limpia y renovable. Los sectores localizados con el mayor potenciales bioenergéticas son: agrícola, pecuario y forestal (Instituto Nacional de Preinversión , 2014).

2.5.1 Producción de bioetanol como biocombustible en Ecuador

En el artículo 413 de la Constitución de la república del Ecuador del 2008 se decreta que es obligación del gobierno nacional el satisfacer las necesidades energéticas de los ciudadanos con el desarrollo de tecnología ambientalmente limpias y de fuentes alternativas sin poner en riesgo la soberanía alimentaria (República del Ecuador. Constitución 2008. Art. 413)

Para satisfacer esta demanda constitucional, se ha puesto en marcha el programa *Ecopais*. El proyecto tiene como objetivo sustituir la gasolina Extra, la cual tiene la mayor demanda, por gasolina Ecopais a nivel nacional. El proyecto tiene un enfoque económico al igual que medio ambiental. Al agregar bioetanol a la gasolina Extra en reemplazo a la nafta, se reducirá la importación de nafta y se incrementará el empleo nacional. Al utilizar bioetanol en lugar de nafta, se disminuirá las emisiones de gases de efecto invernadero por los ciclos de emisión de carbono neutro explicados anteriormente. En la primera etapa de este proyecto se sustituirá la adición de nafta de alto octanaje por bioetanol con una composición inicial de 5% bioetanol y 95% de gasolina base (E5) hasta llegar a una composición de 10% bioetanol y 90% gasolina base (E10). Se espera lograr la

eliminación de la adición de nafta a la gasolina Extra para el año 2020 (Ministerio Coordinador de Producción, Empleo y Competitividad, 2016).

Para el 2017 se tiene una producción de 17'525,000 millones de litros de bioetanol a nivel nacional. Los principales productores se encuentran en la provincia de Guayas y generan bioetanol de primera generación a partir de caña de azúcar. De las 135 mil hectáreas destinadas al cultivo de caña de azúcar, 80 mil hectáreas están destinadas para la producción de azúcar y los 55 mil restantes para jugo de caña, panelas y alcohol etílico. Para finales del año 2017 se tiene una producción de 310 millones de galones de gasolina Ecopais, la producción de 59 millones de litros de etanol, y la distribución de esta gasolina en 434 gasolineras a nivel nacional reemplazando en un 8.15% la gasolina Extra.

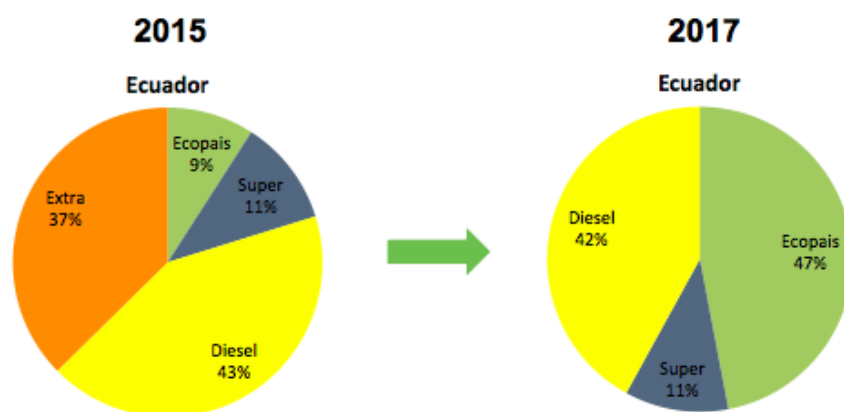


Figura 2-3. Suministro de gasolinas a nivel nacional en 2015 y su proyección para el 2017 (Ministerio Coordinador de Producción, Empleo y Competitividad, 2016)

Cuando se alcance la meta de reemplazar la gasolina Extra por gasolina Ecopais, las plantas productoras de bioetanol de primera generación producirán desechos lignocelulósicos; estos desechos contienen aún material rico en lignocelulosa que se desperdiciaría. Para obtener la energía

aún disponible en esta biomasa se debe evaluar la producción posterior de bioetanol de segunda generación para maximizar el uso de la biomasa. Es necesario entonces la creación de una biorefinería para este fin.

2.5.2 Producción de biomateriales a partir de biomasa en Ecuador

Con respecto a la agricultura, el Ecuador produce principalmente 9 productos de los cuales el más conocido y disponible mundialmente es la banana. En términos de producción total, los productos de cultivo de ciclo corto son los más producidos nacionalmente con una producción anual de 9.4 millones de toneladas. Estos cultivos son papas y hortalizas, entre otras (Instituto Nacional de Preinversión , 2014) (Ministerio Coordinador de Producción, Empleo y Competitividad, 2016). Los datos estadísticos de producción se encuentran en la Tabla 2-2. En este proyecto se va a investigar la posibilidad de utilizar los residuos del plátano verde y la papa de descarte para la obtención del bioetanol.

Tabla 2-2. Producción agrícola anual en el Ecuador (Ministerio Coordinador de Producción, Empleo y Competitividad, 2016)

Producto	Producción [ton/año]	Residuos [ton/año]	Residuos en relación a producción anual [%]
Arroz	2'101,948	1'564,241	74.4
Banano	7'410,823	4'891,143	66.0
Cacao	2'014,727	324,822	16.1
Café	81,342	15,010	18.5
Caña de azúcar	4'904,507	784,721	16.0
Cultivo de Ciclo Corto	9'407,330	100,597	1.1
Maíz Duro	776,121	349,254	45.0
Palma Africana	6'841,709	2'670,143	39.0
Plátano Verde	430,749	284,981	66.2

2.5.3 Biomasa residual obtenida de plátano verde (*Musa SPP*)

El *Plátano verde Musa spp* es originario del Sudeste Asiático. La producción mundial anual asciende a los 106.7 millones de toneladas hasta el año 2013 y constituye el cultivo de mayor producción mundial. La recolección de la producción deja cuatro tipos de residuos: raquis, pseudo tallo, hojas y bananas de descarte. De cada tonelada de plátano recolectado, se generan tres toneladas de pseudo tallo, 150 kg de raquis y 480 kg de hojas en materia húmeda. Estos residuos suelen ser dejados sobre las plantaciones como abono o pajote, pero en ocasiones se termina convirtiendo en foco de infecciones o también descartado como basura hacia basureros (Guerrero, 2015). Los principales países productores se encuentran en Sudamérica, América Central y Asia (Instituto Nacional de Preinversión , 2014).

La producción de plátano verde es una de las agroindustrias de mayor importancia dentro del Ecuador, con una producción anual de 430 mil toneladas. Consecuentemente la industria del plátano genera 285 mil de toneladas de desechos por año, los mismos que contienen celulosa, hemicelulosa, lignina, almidón, y pectina (Miranda & Cuellar, 2012) (Mtui & Nakamura, 2005). La mayor concentración de producción y desperdicios se ubican en la provincia de Manabí la cual produce 230 mil toneladas de plátano y un desperdicio de 143 mil toneladas. La producción de este cultivo en las provincias del Ecuador se encuentran en la Tabla 2-3.

Tabla 2-3. Producción de Plátano verde por provincia en el Ecuador en orden descendente en cantidad de producción anual

Provincia	Superficie (km ²)	Producción Absoluta (ton/año)	Residuos (ton/año)	Energía bruta (TJ/año)
Manabí	17,880	223,611	147,583	1863
Santo Domingo de los Tsáchilas	3,770	62,725	41,398	523
Esmeraldas	15,754	33,619	22,188	280
Bolívar	3,945	24,237	15,996	202
Zamora Chinchipe	10,566	22,415	14,794	187
Morona Santiago	24,029	20,447	13,495	170
Pastaza	29,629	13,514	8,919	113
Cotopaxi	6,109	11,845	7,818	99
Sucumbíos	18,147	9,057	5,978	75
Imbabura	4,583	6,476	4,274	54
Santa Elena	3,697	1,043	688	9
Napo	12,542	911	601	8
Chimborazo	6,501	649	428	5
Azuay	8,326	157	103	1
Tungurahua	3,386	38	25	0

Actualmente, estos desechos se usan como material para abono de tierra y no tienen ningún fin como producto con valor agregado que pueda servir dentro del mercado. La cáscara del plátano verde está compuesta de aproximadamente por 12% en masa de almidón, que puede ser usado como materia prima para la creación de bioplásticos o bioetanol para la producción de energía (Yan & Shuya, 2006).

2.5.4 Biomasa residual obtenida de papa (*Solanum Tuberosum*)

El tubérculo *Solanum Tuberosum*, comúnmente conocido como papa es originaria de la Cordillera de los Andes y fue desarrollada por cultivadores precolombinos. Este tubérculo exhibe una amplia diversidad morfológica y genética. Este tubérculo se desarrollan en terrenos irregulares en un rango de altitud de 2,400 a 3,800 m.s.n.m y en condiciones de subpáramo húmedo (Sooner, 2005).

Este tubérculo sea ha convertido en un alimento esencial para la seguridad alimentaria de millones de personas alrededor del mundo. En términos de consumo humano, es el tercer cultivo alimenticio más importante del mundo después del arroz y trigo (Devaux, 2011). El consumo en el Ecuador es de 24 kg anuales per cápita. En América del Sur, su cultivo está distribuido a lo largo de América del Sur; del oeste de Venezuela al norte de Argentina y en al sur de Chile (Sooner, 2005). En la actualidad, cultivan alrededor de 500 diferentes variedades de papa de las 5,000 especies que se conocen en el mundo hasta el momento (Instituto Nacional de Estadística y Censos, 2016).

En el 2016 se cultivaron en el Ecuador 422,589 toneladas métricas de papa, principalmente en la región de la sierra. Las provincias de mayor producción de papa fueron Chimborazo, Carchi y Cotopaxi. En estas tres provincias se concentra el 62,77% de la superficie total cosechada del cultivo. Carchi tiene un aporte del 36,14% de la producción de papa total nacional, seguido de Chimborazo con 26,88% y Cotopaxi con 11,11% (Instituto Nacional de Estadística y Censos, 2016). El 74% del consumo nacional es doméstico, 17% es como semilla, y solo el 9% es utilizado industrialmente. La producción nacional se especifica en Tabla 2-4.

Tabla 2-4. Producción de Papa por provincia en el Ecuador

Provincia	Superficie (km ²)	Producción absoluta (ton/año)
Carchi	7,450	152,742
Chimborazo	7,241	113,588
Cotopaxi	3,909	46,929
Resto de provincias	11,034	109,330

Este alimento se compone aproximadamente de 80 % agua y el 20 % de materia seca. Entre el 60% y el 80% de la materia seca es almidón (Organización de las Naciones Unidas, 2008). También es un tubérculo rico en vitaminas C, B1,B3, B6 y contiene abundantes minerales tales como el potasio, fósforo, folato, riovflavina, entre otros (Organización de las Naciones Unidas, 2008). Sin embargo la calidad y cantidad de las sustancias nutritivas de la papa depende del método de preparación, ya sea

hervido, al vapor, al horno, fritas, asadas, en puré, etc. Su valor nutritivo también varía por la especie de papa y las condiciones del campo donde se la cultivó (Organización de las Naciones Unidas, 2008).

2.6 Caracterización de biomasa

La caracterización de la biomasa se puede realizar mediante un análisis proximal. Los análisis proximales son necesarios para conocer las propiedades de un producto y consiste en la caracterización de humedad, cenizas, grasa, proteína, fibra y azúcares (Cuenca, 2013). Además de los análisis proximales se caracteriza los diferentes carbohidratos como almidón, celulosa, pectina y lignina.

2.6.1 Humedad

Los tejidos vegetales contienen humedad en dos formas generales: en agua libre y en agua ligada. El agua libre o absorbida es la forma predominante, que se libera con gran facilidad. El agua ligada se halla combinada o absorbida. Se encuentra en los alimentos como agua de cristalización (en los hidratos), o ligada a las proteínas y a las moléculas de sacáridos la cual es absorbida sobre la superficie de las partículas coloidales (Pandey, 2009).

2.6.2 Cenizas

Las cenizas son el residuo inorgánico que se puede determinar después de incinerar el material. Las cenizas obtenidas no tienen necesariamente la misma composición que la materia mineral presente en el producto original, ya que pueden haber pérdidas por volatilización o alguna interacción entre los constituyentes (Norwegian University of Science and Technology-NTNU, 2005). El valor de las cenizas puede considerarse como una medida general de la calidad de propiedades organolépticas y nutricionales. Fundamentalmente, son minerales como las sales inorgánicas de calcio, magnesio y

potasio, que quedan después de quemar la materia orgánica (Miranda & Cuellar, 2012) (Miranda & Cuellar, 2012).

2.6.3 Grasa

Los lípidos biológicos constituyen un grupo químicamente diverso de compuestos cuya característica común y definitoria es su insolubilidad en agua. Las funciones biológicas de los lípidos son igualmente diversas; se caracterizan por contener en su estructura dobles enlaces en las posiciones 3 y 9 de la cadena de carbonos, partiendo del metilo (CH₃-) terminal como se muestra en la Figura 2-4. Estos ácidos grasos pueden tener una estructura denominada *trans* o *cis*. Los lípidos de membranas tienen implicaciones importantes para la acción de varios reguladores de crecimiento de las plantas. En los vegetales los lípidos se encuentran en las membranas celulares como glicolípidos y fosfolípidos, y como triacilglicéridos; los últimos como sustancias de reserva, en cuerpos oleosos (esferosomas) en las semillas. Aproximadamente 300 ácidos grasos diferentes se han identificado en plantas. En las membranas de los cloroplastos y en los plástidos de los tejidos no fotosintéticos los glicolípidos son los componentes que se encuentran en mayor abundancia (Voet & etal., 2013).

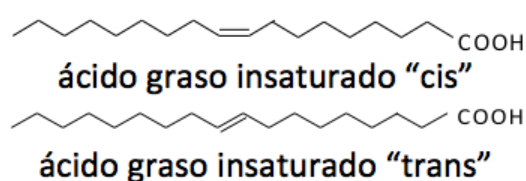


Figura 2-4. Estructura de ácidos grasos

2.6.4 Proteína

Las proteínas son macromoléculas compuestas por una o más cadenas de amino ácidos. Las cadenas de amino ácidos que contengan más de 30 amino ácidos se las conoce como cadenas polipéptidas. Los amino ácidos se unen mediante enlaces péptidos los cuales son la unión de un carbono de un

grupo carbonilo y un nitrógeno de un grupo amino (Calvo & etal., 1995). Las proteínas difieren unas de otras principalmente en la secuencia de los amino ácidos el cual esta dictado por la secuencia nucleótido de sus genes el cual resulta en el doblamiento de la proteína y una estructura tridimensional específica que determina su función.

Las proteínas tienen varias funciones en las plantas. Estos compuestos pueden funcionar como catalizadores de reacciones químicas, transporte a través de membranas, funciones estructurales intracelulares, entre otras. Comparadas a los animales, las plantas tienen una menor cantidad de proteína debido a la gran cantidad de celulosa que compone su estructura.

2.6.5 Almidón

El almidón es un carbohidrato polimérico producido por la mayoría de las plantas. Su rol en las plantas es el de almacenar energía. El almidón está formado por cadenas de unidades de glucosa en dos compuestos diferentes: amilosa y amilopectina que se vuelven solubles en agua al calentarse. La proporción de estos compuestos en la biomasa difieren dependiendo de la fuente. Estas macromoléculas se caracterizan por su alto grado de polimerización o ramificación, el cual dicta su comportamiento frente a procesos de degradación. Las propiedades físicas, químicas y funcionales del almidón van a estar determinadas por el grado de polimerización, esto es cuantas unidades repetitivas se encuentran en el polímero. Por ejemplo, el tamaño de los gránulos de almidón muestra una relación con la proporción de amilosa/amilopectina (Aristizabal & Mejía, 2007). Las diferencias entre la amilosa y amilopectina se describen en la Tabla 2-5.

Tabla 2-5. Comparación de las propiedades de Amilosa y Amilopectina

Propiedades	Amilosa	Amilopectina
Estructura	Lineal	Ramificada
Longitud promedio de la cadena	200-1,000	20-25
Peso molecular	40,000 hasta 1'000,000	200,000 hasta 100'000,000
Grado de polimerización	Aprox. 1,000	10,000-100,000
En solución	Hélice extendida o enrollada	Esfera irregular
Estabilidad en soluciones acuosas	Retrógrada	Estable
Acomplejamiento	Con facilidad	Con dificultad
Retrogradación	Rápida	Muy lenta
Gel	Firme e irreversible	Suave e irreversible
Formación de complejos	Favorable	Desfavorable
Patrón de rayos X	Cristalino	Amorfo
Digestibilidad de la B-amilasa	Casi completa	Cerca de 50 %
Reacción con yodo	19-20 %	5-9 %
Color con la solución de yodo	Azul profundo	Violeta
Longitud de onda máxima (nm)	Aprox. 660	530-550

La amilosa es un polímero lineal formado por 200 a 1,000 unidades de glucosa enlazados mediante uniones glucosídicas α -1,4, en forma de cadenas no ramificadas y tienen una forma de espiral como se ve en la Figura 2-5. En un extremo de la macromolécula la unidad de glucosa contiene el hidroxilo de carbono libre por el cual se llama el extremo reductor. El hidroxilo es un grupo funcional formado por un átomo de oxígeno y otro de hidrógeno. En el extremo opuesto, llamado extremo no reductor, el hidroxilo de carbono forma parte del enlace glucosídico. Al contener una alta abundancia de hidroxilos los polímeros tienen propiedades hidrofílicas. Sin embargo, debido a su linealidad los polímeros tienden a agruparse muy estrechamente mediante uniones de puentes de hidrógeno y aun cuando son solubles en agua, tienden a precipitar.

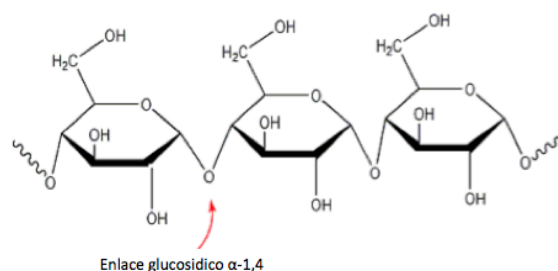


Figura 2-5. Estructura lineal de amilosa con extremos reductores unidos por enlaces α -1,4

Por otro lado la Amilopectina Este es un polímero ramificado formado por cadenas lineales constituidas de 15 a 35 moléculas de glucosas unidas por enlaces α -1,4. Estas cadenas están unidas entre ellas por enlaces α -1,6 que forman puntos de ramificación y forman la macromolécula con 100,000 moléculas de glucosa (Hilz, 2007). Debido a su gran tamaño, la amilopectina tiene una movilidad reducida y una reducida capacidad de orientación para formar enlaces de hidrogeno. Por esta razón las soluciones de amilopectina se caracterizan por su claridad y estabilidad (Aristizabal & Mejía, 2007). En la Figura 2-6 se muestra la estructura de la amilopectina, la cual está conformada por cadenas ramificadas de monómeros de glucosa.

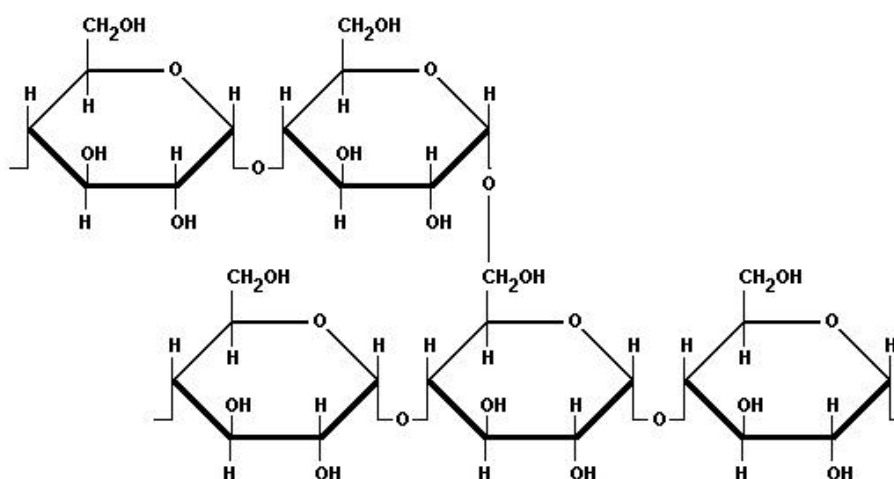


Figura 2-6. Estructura molecular de amilopectina (Aristizabal & Mejía, 2007)

2.6.6 *Fibra*

La fibra es un carbohidrato polisacárido. Este término aglomera varios compuestos y sirve como un estimador de carbohidratos estructurales y otros compuestos químicos. La función principal de las fibras en las plantas es estructural. La fibra total está compuesta de fibra soluble y fibra insoluble. La fibra insoluble está formada de carbohidratos como celulosa y hemicelulosa y también de compuestos aromáticos como lignina. La fibra soluble son los compuestos solubles en agua como la pectina y partes solubles de celulosa, hemicelulosa, holocelulosa y ceras (Castro & Palencia, 2006). Las fibras provenientes del interior de las paredes de la semilla y de la fruta están compuestas especialmente de celulosa y hemicelulosa por un 60% – 80% p/p, lignina de 5% - 20% p/p, y un bajo porcentaje de pectina y cera (Portugal, 2012).

2.6.7 *Material Lignocelulósico*

La lignocelulosa se refiere a la biomasa de plantas que está compuesta en un 40% y 60% p/p por celulosa, 20% y 40% p/p de hemicelulosa, 5% y 20% p/p de lignina y un menor porcentaje de otros materiales entre ellos grasa, fenoles, taninos etc (Axelsson, 2011) (Mtui G. , 2009). La biomasa lignocelulósica representa el mayor reservorio renovable de potenciales carbohidratos fermentables en la tierra (Mtui & Nakamura, 2005). Existe una barrera en la producción y recuperación de materiales a partir de desechos lignocelulósicos debido a la resistencia a la degradación por el reticulado entre los polisacáridos (celulosa y hemicelulosa) y la lignina mediante enlaces éster y éter (Yan & Shuya, 2006) (Xiao, Bolton, & Pan, 2007). La celulosa, hemicelulosa y la lignina forman estructuras llamadas microfibras que definen la estabilidad estructural de la pared celular en las plantas.

La biomasa lignocelulósica ha sido reconocida como una potencial fuente de azúcares mixtos de fermentación para la producción de combustible de etanol. Las paredes celulares de la biomasa

lignocelulósica pueden ser convertidos en soluciones de azúcares mixtos con residuos ricos en lignocelulosa sólida utilizando pre-tratamientos químicos y sacarificación enzimática (DOE US, 2006).

Celulosa

La celulosa es el compuesto más abundante en el planeta y en la naturaleza [6]. Este compuesto cumple un rol estructural en las paredes de las plantas. Su fórmula química es $(C_6H_{10}O_5)_n$ y es insoluble en agua. En las plantas la celulosa está unida a hemicelulosa, ligninas, compuesto de la familia de pectinas, taninos, entre otras moléculas de carácter fenólico (Portugal, 2012).

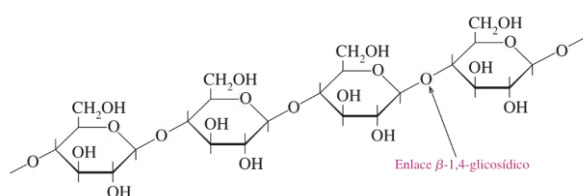


Figura 2-7. Estructura de celulosa a partir de glucosas mediante enlaces glucosídicos β (1,4) (Norwegian University of Science and Technology-NTNU, 2005)

La celulosa es un polímero lineal de alto peso molecular formado por celobiosa, un disacárido constituido por dos β -glucosas unidas por un enlace glucosídicos β (1-4) como se representa en la Figura 2-7 o también de tipo éter entre los carbonos 1 y 5 llegando a polimerizar entre 200-10,000 unidades (Rubin, 2008). La forma más estable de este compuesto es de la silla con grupos $-CH_2OH$, $-OH$ y enlaces glucosídicos en posición ecuatorial con los hidrógenos en posición axial. Debido a la orientación de los $-OH$ en los extremos, la celulosa puede formar puentes de hidrógeno intermoleculares e intramoleculares. Estas interacciones forman una macromolécula que contiene entre 40 y 100 cadenas de celulosa individuales poco ramificadas donde existen zonas de estructura cristalina y amorfas (Calvo & et al., 1995). La estructura de la celulosa se muestra en la Figura 2-8. El resultado es un compuesto fibroso resistente de color blanco.

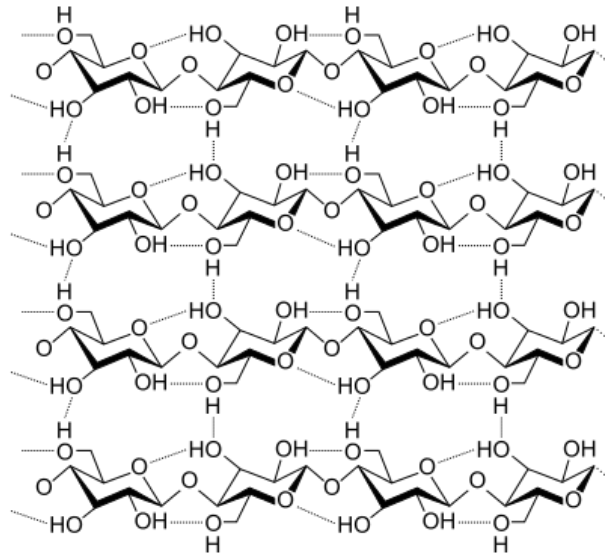


Figura 2-8. Interacción de puentes de hidrógeno entre cadenas de celulosa (Calvo & et al., 1995)

Lignina

Después de la celulosa el segundo polímero más abundante en la pared celular es la lignina, la misma que compone entre el 15% y 30% p/p del material lignocelulósico seco (Axelsson, 2011). La lignina cumple un rol fundamental en la estructura del cuerpo de la planta. Logra este rol al reticular polisacáridos, fortaleciendo la pared celular y protegiendo la matriz celulosa-hemicelulosa (Gupta, 2008). Esto permite a la planta resistir la humedad y degradación por ataques biológicos y microbianos (DOE US, 2006).

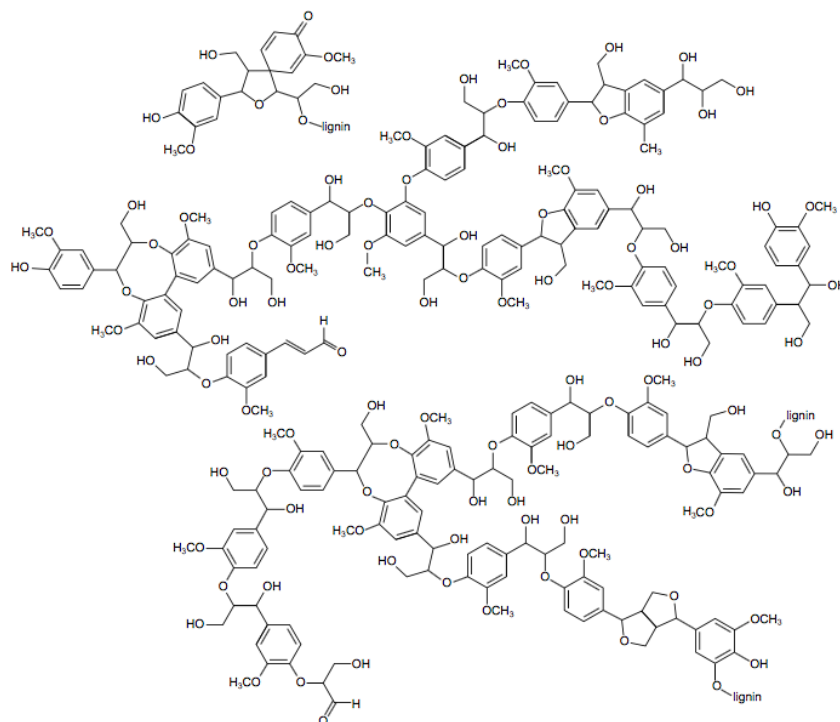


Figura 2-9. Estructura química de lignina de madera blanda (Norwegian University of Science and Technology-NTNU, 2005)

La lignina tiene una estructura compleja y cambia con el tipo de procedencia de la biomasa. Este es compuesto aromático tridimensional complejo altamente entrecruzado con peso molecular entre 3,000 y 11,000 g/mol (Pellinen & Salkinoja-Salonen, 1985) (Asikkala & et al., 2012). Su estructura es amorfa como se ve en la Figura 2-9 y es insoluble en agua. Este polímero aromático está compuesto principalmente por fenilpropenilo (C9) ramificado aleatoriamente. Estas unidades se conectan a través de uniones carbono-carbono y carbono-oxígeno. Estas últimas uniones tipo éter son las más comunes.

Hemicelulosa

La hemicelulosa es el tercer compuesto más abundante en la pared celular. Este compuesto constituye del 20% al 40% p/p de la biomasa por peso de la pared celular y sirve como unión entre la

lignina y la celulosa. No existen enlaces químicos entre la hemicelulosa y la celulosa; su adhesión mutua es fortalecida por los puentes de hidrógeno y las fuerzas de Van der Waals (Frederick, 2008).

La hemicelulosa forma cadenas ramificadas de menor grado de polimerización que la celulosa y no tienen zonas cristalinas (Frederick, 2008). La hemicelulosa está formada por polímeros de unidades de anhidro-azúcares unidas por enlaces glucosídicos $\beta(1-4)$ como se ve en la Figura 2-10. Los anhidro-azúcares son éteres intramoleculares formados por azúcares cuyos grupos hidroxilos han perdido agua. Los principales azúcares que constituyen la hemicelulosa son de la serie D: xilosa, galactosa, manosa, glucosa y ácido galacturónico, y la serie L: arabinosa, ramnosa y fructosa (Portugal, 2012). La hemicelulosa es una mezcla de glucosa, galactosa, xilosa, arabinosa, manosa, y ácidos urónicos, formando parte de la fibra insoluble que se encuentra en el salvado y granos enteros de diferentes cereales.

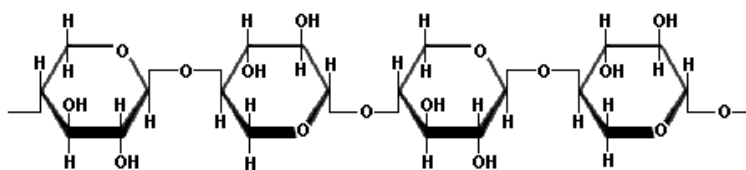


Figura 2-10. Estructura de hemicelulosa con enlaces $\beta(1,4)$ (Scott, 2011)

2.6.8 Pectina

Las pectinas es uno de los mayores compuestos de la planta celular. Las pectinas son una familia de polisacáridos complejos que se encuentran en la pared celular primaria y es soluble en agua. Estos compuestos pueden ser constituidos de 17 diferentes monosacáridos (Vorgen & et al., 2009). Esta familia de polisacáridos contribuyen con procesos fisiológicos complejos como el crecimiento celular y diferenciación celular para determinar la integridad y rigidez del tejido celular de plantas, frutas y vegetales (Vorgen & et al., 2009). La pectina también tiene un importante rol en los mecanismos de defensa de las plantas contra patógenos y heridas físicas (Vorgen & et al., 2009). Por su ubicación en

la pared celular y su carácter aniónico, se considera que las pectinas están involucradas en la regulación del transporte iónico, la porosidad de las paredes celulares y por consiguiente en la permeabilidad de enzimas a través de las paredes. Adicionalmente determina la capacidad de retención de agua de las plantas.

Las pectinas se consideran polímeros lineales constituidos principalmente por ácido D-galacturónico (GalA) unidos por uniones glicosídicas α -1,4 como se ve en la Figura 2-11. La cantidad de ácidos del grupo urónico varía y puede estar presente en otras formas como ésteres de metóxilo. Esta región de la pectina se considera lisa. Las pectinas también tienen como cadenas laterales azúcares neutrales como rhamnosa (Rha), arabinosa, galactosa y xilosa (Hilz, 2007). La composición de azúcares neutrales y ácidos urónicos varía de acuerdo al tipo de pectina.

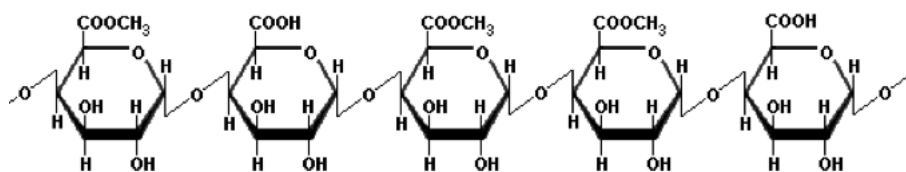


Figura 2-11. Estructura de la pectina Homogalacturonano (De Vries, 1983)

El tipo de pectina más común en las células de plantas es el Homogalacturonano. Este compuesto representa aproximadamente el 60% de toda la pectina. La columna vertebral de este compuesto es el ácido GalA unido por enlaces α -1,4. Este compuesto tiene una longitud estimada de 72-100 GalA. Otros tipos de pectina son la Rhamnogalacturonano I y II, Xylogalacturona, Arabinogalactano I y II entre otras (De Vries, 1983). Se ejemplifica su estructura en la Figura 2-12.

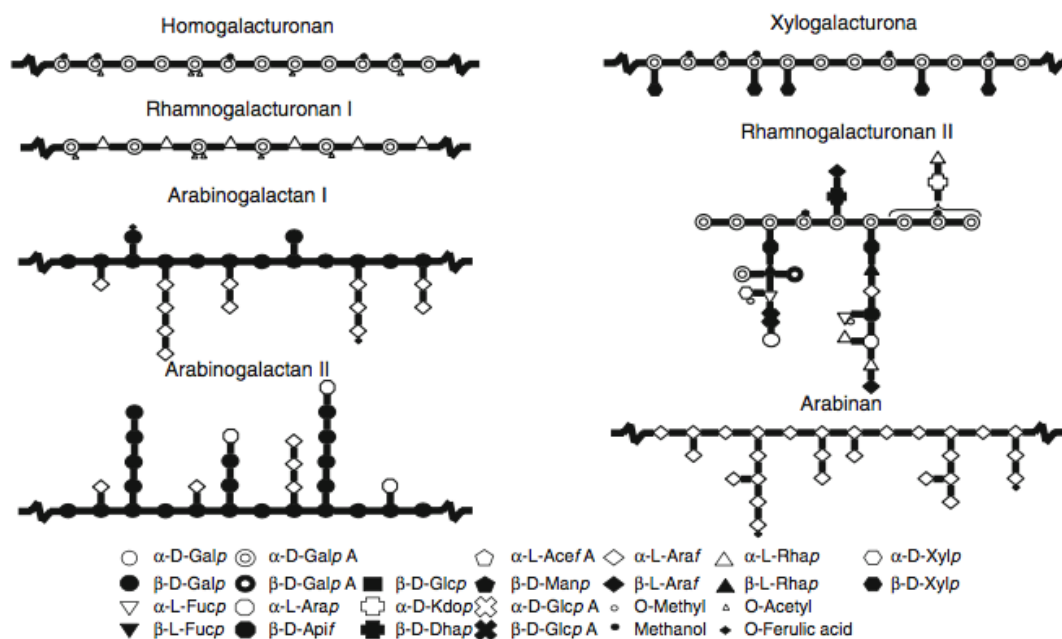


Figura 2-12. Estructura esquemática de diferentes tipos de pectina (Hilz, 2007)

2.6.9 Azúcares totales y azúcares reductores

Los carbohidratos son compuestos cuya composición atómica está limitada a carbono, hidrógeno y oxígeno. Estos compuestos tienen una variedad de funciones biológicas entre estas el almacenamiento de energía, brinda la estructura celular, entre otras. Estos carbohidratos son también conocidos como azúcares o sacáridos. Los azúcares más simples se denominan monosacáridos por ser una sola molécula $(CH_2O)_n$. El más conocido monosacárido es la glucosa que tiene una estructura lineal y cíclica, siendo la cíclica la forma más estable de este compuesto. Estas estructuras de la glucosa se pueden apreciar en la Figura 2-13. Los polímeros cortos se denominan disacáridos, trisacáridos etc, dependiendo del número de moléculas que lo constituyan. Cuando son polímeros grandes los azúcares se denominan polisacáridos. Existen dos tipos de azúcares: aldosas y cetonas. Las aldosas son azúcares cuyo grupo carbonilo es un aldehído y las cetonas son azúcares

cuyo grupo carbonilo es una cetona (Voet & etal., 2013). Estos dos tipos de compuestos se encuentran en la Figura 2-14.

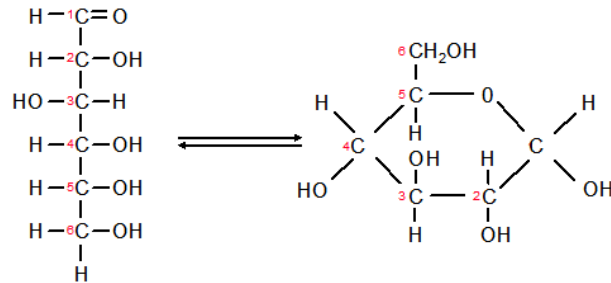


Figura 2-13. Estructura lineal y cíclica de la glucosa (Voet & etal., 2013)

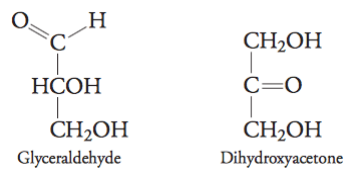


Figura 2-14. Estructura de aldosa y cetona (Voet & etal., 2013)

Un azúcar reductor es cualquier azúcar capaz de actuar como un agente reductor. Todos los monosacáridos son azúcares reductores debido a que tienen un grupo aldehído o grupo cetona libre. Los azúcares reductores además de tener grupos funcionales libres también están en la forma de cadena abierta en vez de cíclica. El extremo reductor de un disacárido es el monosacárido con un carbono libre es decir el extremo que no está involucrado en un enlace glicosídico (Voet & etal., 2013). Se describen estos puntos en la Figura 2-15.

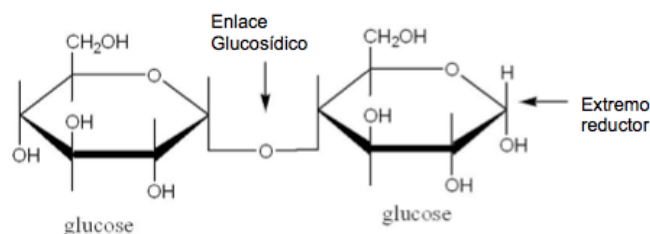


Figura 2-15. Estructura de Maltosa

2.7 Extracción de almidón

La extracción de almidón es un proceso mediante el cual se separa el almidón presente en la biomasa para su posterior aprovechamiento y transformación. La extracción de almidón se hace en estado húmedo de la materia. El método se basa en la ruptura total de las paredes celulares para la liberación del almidón y su separación de la biomasa utilizando un medio líquido. Usualmente el medio utilizado es agua aunque también se utilizan medios ácidos debido a que la solubilidad del almidón en este medio es mayor a la solubilidad en agua. Se utiliza un ácido débil como el ácido cítrico para mantener las propiedades físico-químicas del almidón y evitar su hidrólisis (Alarcon & Dufort, 1998). Se esquematiza este proceso en la Figura 2-16.

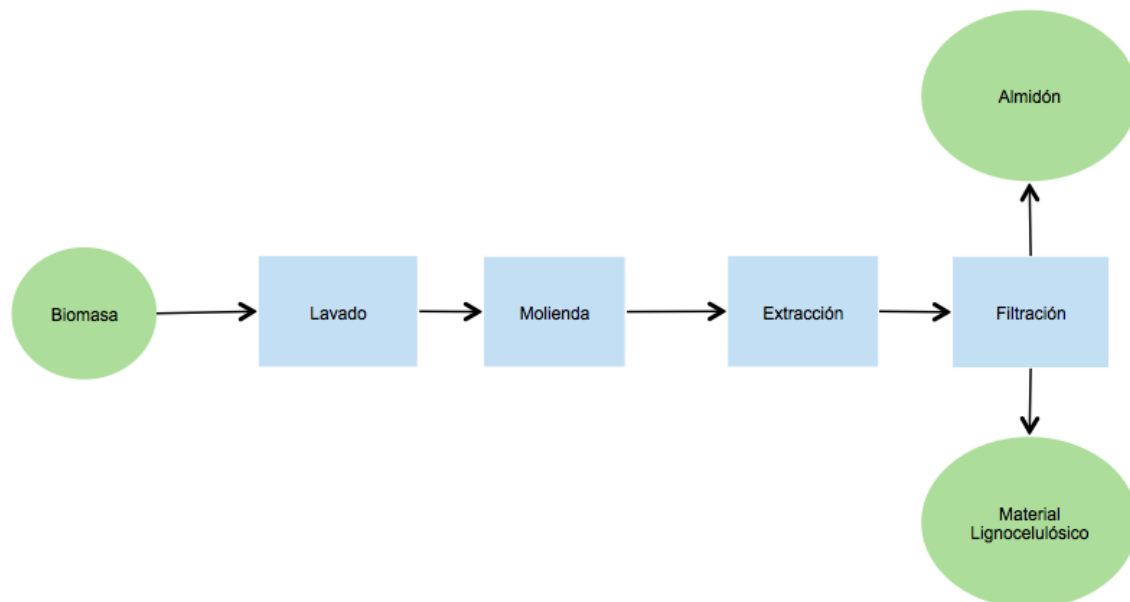


Figura 2-16. Etapas de la extracción de almidón de biomasa

3. Métodos Experimentales

La caracterización de la biomasa antes y después de la extracción de almidón se realiza por triplicado. Los métodos utilizados se basan en los métodos del Manual de procedimientos y seguridad del IDEMA (Instituto de Desarrollo de Energías y Materiales Alternativos , 2016) que son adaptaciones del libro Métodos oficiales de análisis de la AOAC Internacional (AOAC, 2012).

3.1 Determinación de humedad

El porcentaje de humedad se determina por el método gravimétrico de acuerdo a la método oficial AOAC 934.01 (AOAC, 2012) para la cual se pesa 1 g de muestra triturada se pesa en crisoles libres de grasa y humedad y pesados previamente. La muestra se somete a un proceso de secado a 105°C para evaporar el agua libre, hasta alcanzar peso constante. Una vez seca, la muestra se vuelve a pesar y el contenido de humedad se determina como:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{M_f - M_i}{M_i} \times 100 \quad (1)$$

Dónde:

M_f : Masa del crisol con la muestra seca [g]

M_i : Masa muestra inicial [g]

M_c : Masa de crisol seco y vacío [g]

3.2 Determinación de cenizas

El contenido de cenizas se determina por el método gravimétrico de acuerdo al método oficial de análisis de la AOAC 942.05 (AOAC, 2012) en el cual se pesa 1 g de muestra triturada es pesada en crisoles disecados y pesados previamente. A continuación, la muestra se coloca en una estufa a 105 °C para evaporar el agua libre por al menos 12 horas, y luego se calcina en una mufla a 550 °C por 5 horas para eliminar la materia orgánica. Se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se vuelve a pesar la muestra calcinada. El contenido de cenizas se determina con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{M_f - M_c}{M_i - M_c} \times 100 \% \quad (2)$$

Dónde:

M_f : Peso del crisol con la muestra calcinada [g]

M_i : Peso del crisol con la muestra inicial [g]

M_c : Peso del crisol seco y vacío [g]

3.3 Determinación de grasa

La cantidad de grasa presente en una muestra se determinó por el método de Randall. Este análisis es una versión derivada del método Soxhlet de acuerdo a la norma AOAC 2003.05 y 2003.06 (AOAC, 1997). La extracción se realizó con solvente orgánico en el equipo Extractor de Solvente, VLEP Scientifia SER 148. Se prepara un cartucho de celulosa, en el que se pesa la muestra seca. El cartucho con la muestra se inserta en el tubo extractor, el cual se conecta al balón extractor por la parte superior y este tubo al condensador. El balón contiene 200 ml de hexano como solvente, y se coloca sobre una manta de calentamiento de forma que el solvente se volatilice y se lleve a cabo el proceso

de extracción. Esto se realiza por un período de 8 horas, luego de lo cual el solvente es recuperado. Para ello, se retira el cartucho del tubo extractor y se recupera todo el solvente libre de la muestra en el balón (VLEP Scientifica, 2016).

A continuación el balón es llevado al rotavapor en el cual se somete a calentamiento indirecto al sumergirlo en agua caliente. El hexano se evapora y es recuperado al llegar a un tubo condensador. El restante de líquido en el balón representa la fracción lipídica presente en la muestra, y su peso se obtiene por diferencia entre el peso final del balón con el residuo y el peso del balón vacío.

$$\% \text{ Grasa} = \frac{M_f}{M_i} \times 100 \% \quad (3)$$

Dónde:

M_f : Peso de la fracción lipídica recuperada [g]

M_i : Peso inicial de la muestra [g]

3.4 Determinación de proteína

El contenido de proteína se determinó por el método de Kjeldahl utilizando el Digestor DK6 VLEP Scientifica y la unidad de destilación semiautomática UDK 139 los cuales se basan en el método oficial de análisis de la AOAC 960.52 (AOAC, 2012) (VLEP Scientifica, 2016). El método consiste en la determinación de nitrógeno a través de tres pasos: digestión, destilación y titulación. Durante la digestión, se descompone el nitrógeno de la muestra orgánica por ebullición en ácido sulfúrico concentrado para formar una solución de sulfato de amonio. En la destilación, se añade una base en exceso a la mezcla resultante de la destilación ácida para convertir el ion amonio NH_4^+ en amoniaco NH_3 . A continuación se somete a ebullición y se condensa el gas amoniaco en una

solución receptora. Finalmente, se titula la solución para cuantificar la cantidad de amoníaco. Se calcula la cantidad de nitrógeno presente a partir de la cantidad de iones en la solución receptora (AOAC, 2012).

Para la digestión, se usa un catalizador compuesto por 9 g de sulfato de potasio (K_2SO_4) y 1 gramo de sulfato de cobre ($CuSO_4$). Para la determinación de proteína se pesan 0.5 g de la muestra seca y 2 pastillas de catalizador de Kjeldahl en un balón de digestión de 100 ml, para luego añadir 13 ml de ácido sulfúrico al 97%. Los balones se calientan hasta que la digestión esté completa, la cual se alcanza cuando se torna de un color claro azulado. El producto de la digestión se hace reaccionar con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 40% y a continuación se calienta y se destila. El destilado se recibe sobre 25 ml de solución de ácido bórico (H_3BO_3) al 4% hasta doblar su volumen. Por último, se titula con una solución estandarizada de ácido clorhídrico (HCl) 0.01M utilizando verde de bromocresol como indicador. A partir del volumen de ácido clorhídrico utilizado para la titulación se calcula el porcentaje de proteína de acuerdo a la ecuación (AOAC, 2012):

$$\% \text{ Proteína} = \frac{V \times C_{HCl} \times MW_{N_2}}{M_i} \times f \times 100 \% \quad (4)$$

Dónde:

V: Volumen de HCl utilizado para la titulación de la muestra [ml]

C_{HCl} : Concentración del ácido clorhídrico HCl $\frac{mol}{L}$

MW_{N_2} : Peso molecular del nitrógeno $\frac{g}{mol}$

Mi: Peso inicial de la muestra [mg]

f: Factor de proteína (6.25) [-]

3.5 Determinación de azúcares totales

Los azúcares totales se determinaron utilizando el método descrito por Zhang & etal (Zhang & etal, 2017). El método consiste en pesar 5 g de muestra seca. Colocar muestra en un vaso de precipitación de 400 ml, agregar 100 ml de ácido clorhídrico al 4%, llevar a ebullición a volumen constante durante una hora con agitación. Filtrar la muestra. Llevar a cabo una dilución 1 en 50. Colocar 10 ml de mezcla de Fehling A y B en el Erlenmeyer, añadir los núcleos de ebullición, y añadir 15 ml de la disolución a analizar de la bureta. Agitar el líquido en el Erlenmeyer, calentar la malla metálica, y una vez que haya hervido el líquido durante un minuto, añadir 4 gotas de azul de metileno. Añadir la solución azucarada gota a gota, desde la bureta, hasta que exista un cambio de color de azul a rojo ladrillo. Para determinar el contenido de azúcares reductores se utiliza la siguiente formula:

$$\% \text{ Azúcares totales} = \frac{\text{Factor}}{V_T} \times 100\% \quad (5)$$

Dónde:

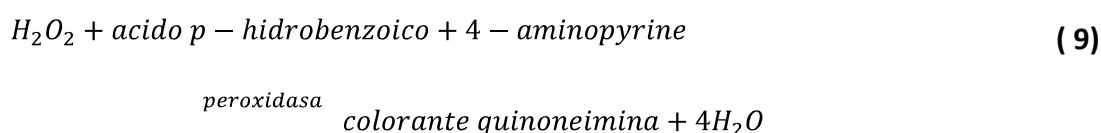
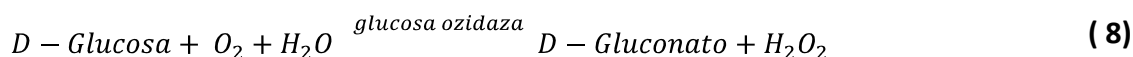
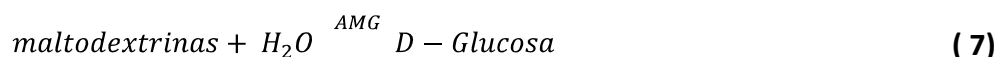
Factor: Factor de titulación para el proceso Lane y Eynon [-]

V_T : Volumen de titulación [ml]

3.6 Determinación de almidón

Para determinar el contenido de almidón se utilizó el kit enzimático de la empresa irlandesa Megazyme Internacional, *Total Starch*. El kit funciona de acuerdo al método oficial de análisis 996.11 (AOAC, 2012). La determinación de almidón es colorimétrica de absorbancia a una longitud de onda de 510nm, y un volumen de muestra de 3.1 ml. El principio bajo el cual funciona el kit es el siguiente:





Pesar 100 mg de muestra. Colocar la muestra en un tubo falcon, agregar 5 ml de etanol al 80% (v/v) e incubar a 85 °C por 5 minutos. Mezclar con la ayuda del vortex, añadir 5 ml de etanol al 80% (v/v) y centrifugar a 3000 rpm por 10 minutos. Descargar el sobrenadante, agregar 10 ml de etanol al 80% (v/v), agitar con la ayuda de un vortex y centrifugar a 3000 rpm por 10 minutos (Megazyme, 2017).

Después de descargar el sobrenadante agregar 3 ml de alfa amilasa termoestable y someter el tubo falcon a baño maría a ebullición por 6 minutos. Agitar fuertemente con un vortex a los 2, 4 y 6 minutos. Colocar el tubo en agua a 50 °C y enfriar. Una vez frio agregar 0.1 ml de amiloglucosidasa y mezclar homogéneamente con la ayuda de un vortex. Incubar el tubo falcon a 50 °C durante 30 minutos.

Transferir el contenido del tubo falcon a un balón volumétrico de 100 ml. Enjuagar el tubo falcon con agua destilada y aforar a 100 ml. Una vez homogenizada la solución centrifugar una alícuota a 3000 rpm por 10 minutos. Transferir 0.1 ml de alícuota a un tubo de ensayo de vidrio. Agregar 3 ml de reactivo GODOP, una mezcla de glucosa oxidasa más peroxidasa y 4-aminopyrina, al tubo de ensayo de vidrio e incubar a 50 °C durante 20 minutos. Leer absorbancia a 510 nm frente al blanco.

Preparación de control D-glucosa :

-0.1 ml D-Glucosa (1mg/ml)

-3.0 ml reactivo GODOP

Preparación de blanco

-0.1 ml H₂O destilada

-3.0 ml reactivo GODOP

$$\% \text{ Almidón} = \Delta A \times F \times \frac{FV}{0.1} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} \quad (10)$$

Dónde:

ΔA : absorbancia medida frente al blanco [-]

F : $\frac{100 (\mu\text{g de D-Glucosa})}{\text{absorbancia de } 100 \mu\text{g de glucosa}}$ (conversión de absorbancia a μg) [μg]

FV : Volumen final [ml]

0.1: volumen de muestra analizada [ml]

$\frac{1}{1000}$: conversión de μg a mg [-]

$\frac{100}{W}$: factor para expresar almidón como porcentaje de peso de harina [mg^{-1}]

W : masa de la muestra analizada [mg]

$\frac{162}{180}$: Factor de ajuste de D-Glucosa libre a D-glucosa anhidro [-]

3.7 Determinación de fibra cruda

La determinación de la cantidad de fibra cruda presente en una muestra se llevó a cabo mediante el método de análisis oficial de la AOAC 962.09 (AOAC, 2012). Se realizó un proceso de digestión ácida

y posteriormente alcalina con el cual se obtuvo fibra cruda y sales. Las sales se eliminaron posteriormente por calcinación (AOAC, 2012).

El procedimiento consiste en pesar de 1 a 2 g de muestra libre de grasa. Transferir una muestra libre de grasa a un vaso de precipitación. Agregar 200 ml de ácido sulfúrico al 1.25% hirviendo a la muestra. Calentar una hornilla y una vez caliente colocar el vaso de precipitación sobre la misma. Hervir exactamente por 30 minutos. Filtrar la solución caliente a través del papel de filtro. Lavar con agua hirviendo varias veces con porciones de 50 ml cada vez, hasta que el agua de lavado no tenga reacción ácida. Filtrar con succión (AOAC, 2012).

Regresar el residuo con mucho cuidado a su vaso original utilizando el frasco lavador, conteniendo 200 ml de NaOH al 1,25% hirviendo. Hervir durante 30 minutos. Retirar de la hornilla y filtrar inmediatamente sobre crisol Gooch. Lavar el residuo con agua hirviendo, hasta la eliminación del hidróxido de sodio en el filtrado. Lavar finalmente con pequeñas porciones de alcohol.

Llevar el residuo a la estufa y secar a 105°C durante 2 horas. Enfriar y pesar. Colocar en la mufla a 500-600°C hasta que el contenido sea de color blanco (aproximadamente una hora). Retirar de la mufla, enfriar y pesar.

$$\% \text{ Fibra} = \frac{M_f - M_c}{M_i} \times 100 \quad (11)$$

Dónde:

M_f : Masa de la muestra secada [g]

M_c : Masa de la muestra calcinada [g]

M_i : Masa inicial de la muestra [g]

3.8 Determinación de lignina

El contenido de lignina se determinó mediante el método oficial de análisis AOAC 973.18 (AOAC, 2012). El método consiste en pesar 1 g de muestra libre de grasa seca. Colocar muestra en un matraz, añadir 15 ml de H₂SO₄ al 72% y agitar durante 2 horas. Transferir la sustancia a un balón de 250 ml con agua destilada (125 ml), y colocar a reflujo durante 4 horas. Filtrar y lavar el residuo con agua caliente y se secar la muestra a 105 °C durante 3 horas. Pesar la muestra final. La lignina insoluble en ácido se determina de la siguiente manera (AOAC, 2012):

$$\% \text{ Lignina} = \frac{M_f}{M_i} \times 100 \quad (12)$$

Dónde:

M_f: Masa de la muestra secada [g]

M_i: Masa de la muestra seca [g]

3.9 Determinación de celulosa

El contenido de celulosa se determinó mediante el método según Dominguez. El método consiste en pesar 1 g de muestra seca. Colocar la muestra en un balón de 250 ml, agregar 15 ml de ácido acético al 80% y 1.5 ml de ácido nítrico al 68%, llevar a reflujo por 20 minutos. Filtrar la solución caliente a través del papel filtro. Lavar con agua hirviendo y con pequeñas porciones de etanol. Secar en un horno a 105°C por 24 horas y pesar. Incinerar a 540 °C por 4 horas, dejar enfriar en un desecador y después pesar (Dominguez & etal., 2012). La celulosa se calcula de la siguiente forma:

$$\% \text{ Celulosa} = \frac{M_f - M_c}{M_i} \times 100\% \quad (13)$$

Dónde:

M_c : Masa de la muestra calcinada [g]

M_f : Masa de la muestra secada [g]

M_i : Masa de la muestra inicial [g]

3.10 Determinación de hemicelulosa

Para determinar la cantidad de hemicelulosa se determinó la cantidad de azúcares reductores menos la cantidad de glucosa en la muestra. La determinación de azúcares reductores y glucosa se hace mediante el método de Lane y Eynon descritos en los Métodos oficiales de análisis de la AOAC (AOAC, 1984). La determinación indirecta de la hemicelulosa se hizo de acuerdo a Ververis. (Ververis, 2007).

$$\%w/w \text{ Hemicelulosa} = \frac{0.88}{0.93} \times (C_2 - C_1) \times \frac{V}{M} \times \alpha \times 100 \quad (14)$$

Dónde:

0.88: Coeficiente resultante de proporción del polímero y el monómero pentosa

0.93: Rendimiento de sacarificación de xileno a xilosa

C_1 : Concentración de glucosa [g/L]

C_2 : Concentración de azúcares reductores [g/L]

V : Volumen total de azúcar en solución [L]

M: Masa de la muestra [g]

α : Dilución de la muestra

3.11 Determinación de pectina

El contenido de pectina se determinó mediante el método de determinación de acuerdo a Lees (Lees, 1982). El procedimiento consiste en pesar 20 a 25 g de muestra. Agregar muestra a un vaso de precipitación de 600 ml junto con 400 ml de agua destilada. Hervir por una hora manteniendo constante el volumen de 400 ml. Colocar la mezcla en un balón volumétrico de 500 ml y enfriar a 20°C . Una vez frío aforar a 500 ml y luego filtrar (Lees, 1982).

Tomar 100 ml del filtrado con pipeta y colocarlos en un vaso de precipitación junto con 10 ml de NaOH 1M y 100 ml de agua. Mezclar homogéneamente y dejar reposar por 1 hora. Luego añadir 50 ml de ácido acético 1M y dejar reposar 5 minutos. Finalmente añadir 25 ml de CaCl₂ 1M lentamente y bajo agitación constante. Dejar reposar 1 hora.

Hervir y filtrar la solución con papel filtro previamente pesado. Lavar el papel filtro con agua caliente hasta que la reacción con AgNO₂ sea negativa. Es decir, se debe comprobar que todos los cloruros se hayan eliminado colocando AgNO₂ en las gotas que salen del filtro hasta que el agua de lavado; cuando éstas dejen de volverse blancas y sean transparentes se habrá eliminado todos los cloruros. Secar el papel filtro en la estufa a 105°C toda la noche. Al día siguiente pesar el papel filtro.

$$\% \text{ Pectina} = \frac{M_f}{M_i} \times 100\% \quad (15)$$

Dónde:

M_i : Masa de la muestra inicial [g]

M_f : Masa de la muestra seca [g]

3.12 Determinación de azúcares reductores

Para la determinación de azúcares reductores se utiliza el método de Lane y Eynon utilizando las soluciones Fehling A y Fehling B. El procedimiento se realizó de acuerdo a los métodos oficiales de análisis de la AOAC 31.036 (AOAC, 1984). Para preparar el Fehling A se pesan 69,28 g de sulfato de cobre por litro de agua en un vaso de precipitación, se mezcla hasta que se disuelva y se filtra. Para preparar el Fehling B se pesan 346 g de tartrato de sodio y potasio en un vaso de precipitación, y se pesan 100 g de NaOH por litro de agua en el mismo vaso, mezclar hasta disolver y filtrar.

Para estandarizar las soluciones, se pesan 0.5 g de glucosa y afora hasta 100 ml en un matraz. Se coloca en un Erlenmeyer 5 ml de Fehling A y 5 ml de Fehling B. Se añaden los núcleos de ebullición y se hace hervir. Después se añaden 4 gotas de azul de metileno. Se carga la bureta con solución de glucosa y se titula el Fehling hirviendo hasta el cambio de color (de azul a rojo ladrillo). Si se consumen 10 ml de la solución de glucosa, el Fehling se encuentra estandarizado; En caso contrario, se calcula el factor multiplicando el volumen de la titulación para que el resultado sea de 10 ml.

Una vez estandarizado, el método consiste en colocar 10 ml de mezcla de Fehling A y B en el Erlenmeyer, añadir los núcleos de ebullición, y añadir 15 ml de la disolución a analizar de la bureta. Agitar el líquido en el erlenmeyer, calentar la malla metálica, y una vez que haya hervido el líquido durante un minuto, añadir 4 gotas de azul de metileno. Añadir la solución azucarada gota a gota, desde la bureta, hasta que exista un cambio de color de azul a rojo ladrillo. Para determinar el contenido de azúcares reductores se utiliza la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Azúcares reductores} = \frac{\text{Factor}}{V_T} \times 100\% \quad (16)$$

Dónde:

Factor: Factor de titulación para el proceso Lane y Eynon [-]

V_T : Volumen de titulación [ml]

4. Resultados y Discusión

En este capítulo se presentan los resultados de la caracterización de la biomasa residual obtenida de las cascaras de plátano verde (*Musa spp*) y papa de descarte (*Solanum Tuberosum*) antes y después de haberla sometido a un proceso de extracción de almidón. Primero se presentan los parámetros proximales de contenido de humedad, material orgánico y cenizas como porcentajes en base de muestra original o base húmeda. Para los demás constituyentes de la biomasa se trabajará exclusivamente en base seca, esto es removiendo el contenido de humedad.

Las muestras utilizadas para realizar los siguientes análisis provienen de la misma fuente. Las cáscaras de plátano verde provienen del mismo cultivo. Las papas de igual manera son provenientes del mismo cultivo el cual se adquirió al inicio de la investigación. La biomasa fue congelada al comenzar los análisis y fue descongelada a medida que se requería de muestra. Una vez descongelada la biomasa se secaba y se mantenía libre de humedad. Las muestras de extracción de almidón eran descongeladas, posteriormente extraídas el almidón y volvían a secarse hasta estar libres de humedad.

4.1 Contenido de humedad, cenizas y materia orgánica

La humedad se determinó secando la muestra en un horno de convección a temperatura constante hasta que el peso de la muestra se mantuviera invariable. Cada ensayo se realizó por triplicado para cada biomasa. El contenido de humedad de la muestra original del plátano verde es de 85.79% p/p \pm 0.43%. Este es un valor muy cercano al valor referencial obtenido para la cáscara del genero musa 88.6% p/p (Souza & etal., 2012). La humedad determinada en la papa es de 77.68% p/p \pm 0.66%. Este valor también muy próximo al valor referencial bibliográfico 77.2% p/p según Loyola & etal (Loyola & etal., 2010). El contenido de humedad de ambas biomasas es mayor después de la extracción de almidón debido a que se realiza una extracción líquida. El contenido final de humedad

en la cáscara de plátano verde es de $88.56\% \text{ p/p} \pm 0.41\%$ mientras que el contenido final de humedad de la papa es de $77.86 \text{ p/p} \pm 0.57\%$.

Las cenizas son el contenido de material inorgánico de las muestras. El contenido de cenizas en la cáscara del plátano verde previo a la extracción de almidón es de $1.55\% \text{ p/p} \pm 0.17\%$ o $10.90\% \text{ p/p} \pm 0.17\%$ en base seca, un valor aproximado al referencial $8.9\% \text{ p/p}$ en base seca para el género *Musa* según Oberoi & etal (Oberoi & etal., 2011). La papa tiene un contenido de cenizas previo a la extracción de almidón de $1.24\% \text{ p/p} \pm 0.37\%$ o $5.55\% \text{ p/p} \pm 0.37\%$ en base seca y es similar al valor referencial de $4.3\% \text{ p/p}$ en base seca según Andrade & etal (Andrade & etal., 2009).

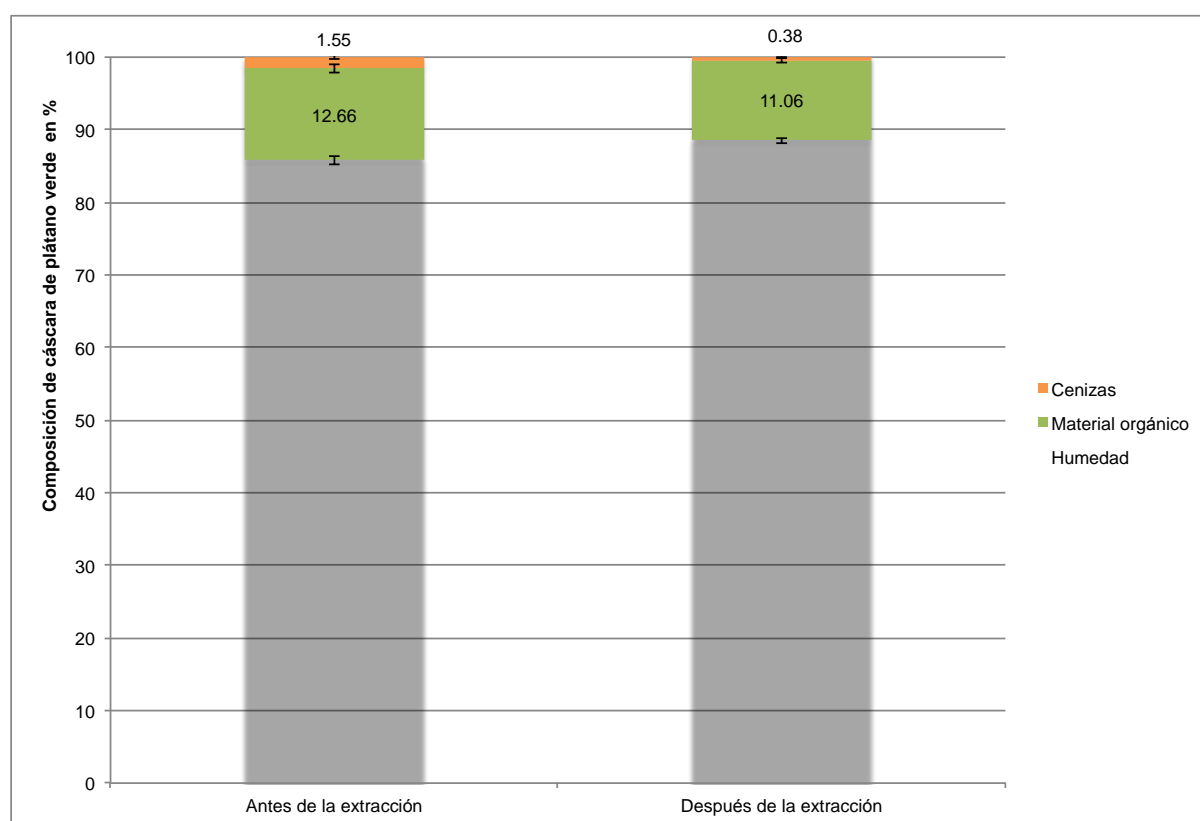


Figura 4-1. Composición de la cáscara del plátano verde antes y después de la extracción de almidón

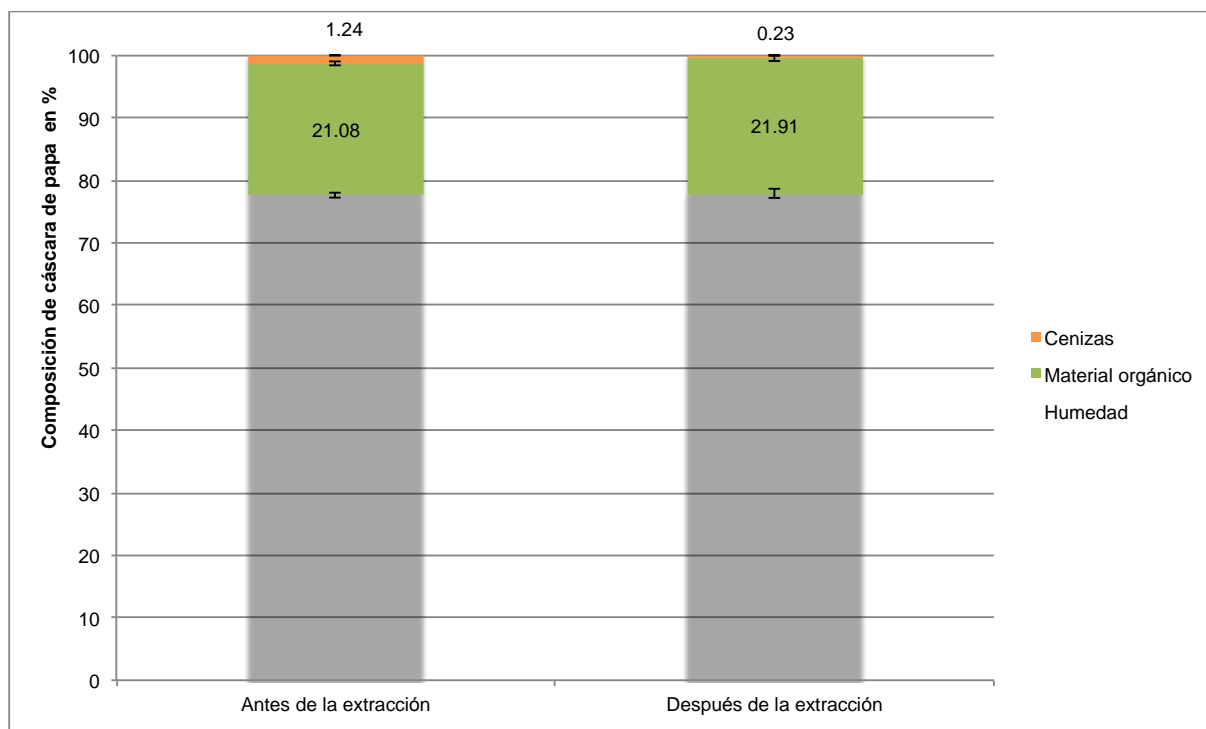


Figura 4-2. Composición proximal de la cáscara de papa antes y después de la extracción de almidón

En la Figura 4-1 y Figura 4-2 se puede observar que el contenido de cenizas del plátano verde es mayor al de la papa tanto antes como después de la extracción de almidón. En ambos casos el contenido de cenizas disminuyó con la extracción del almidón. El contenido final de cenizas de la cáscara del plátano verde es de 0.38% p/p $\pm 0.01\%$ o de 3.35% p/p $\pm 0.01\%$ en base seca mientras que el contenido de cenizas de la papa es de 0.38% p/p $\pm 0.01\%$ o de 9.23% p/p $\pm 0.01\%$ en base seca. La biomasa disponible a parte de la humedad y las cenizas es la materia orgánica. Esta materia orgánica está compuesta principalmente por carbohidratos los cuales se analizan más adelante.

4.2 Análisis proximal de materia orgánica

La materia orgánica es la biomasa que resulta después de la remoción de humedad menos el contenido de cenizas. La materia orgánica está compuesta por proteína, grasas y carbohidratos. Los carbohidratos constituyen la mayor cantidad de materia orgánica en la papa (*Solanum Tuberosum*) y

plátano verde (*Musa spp*). Es importante mencionar que durante la caracterización de la materia orgánica existieron pérdidas durante los análisis generados por ejemplo por los lavados con agua o por el método de filtración en cada uno de los procesos de filtración en la caracterización de carbohidratos o fibra. Las pérdidas representan aproximadamente 2.5% p/p por cada filtración. Los resultados de los análisis se describen la en detalle en las siguientes secciones. El resumen de los resultados se encuentran en las Figura 4-3 y Figura 4-4.

Las barras de error se encuentran graficadas en ambas figuras. Se puede observar que el contenido de carbohidratos es superior al 70% p/p $\pm 0.05\%$ en ambas biomásas. El segundo compuesto en la composición de las biomásas es la proteína con un contenido aproximado de 13.48% p/p $\pm 0.23\%$ en la cáscara de plátano verde y 14.03% p/p $\pm 0.5\%$ en la papa de descarte. El tercer compuesto en términos de composición son las cenizas con un contenido de 3.35% p/p $\pm 0.38\%$ y 5.55% p/p $\pm 0.37\%$ respectivamente. Las pérdidas registradas en cada biomasa varían pero se tienen mayores porcentajes.

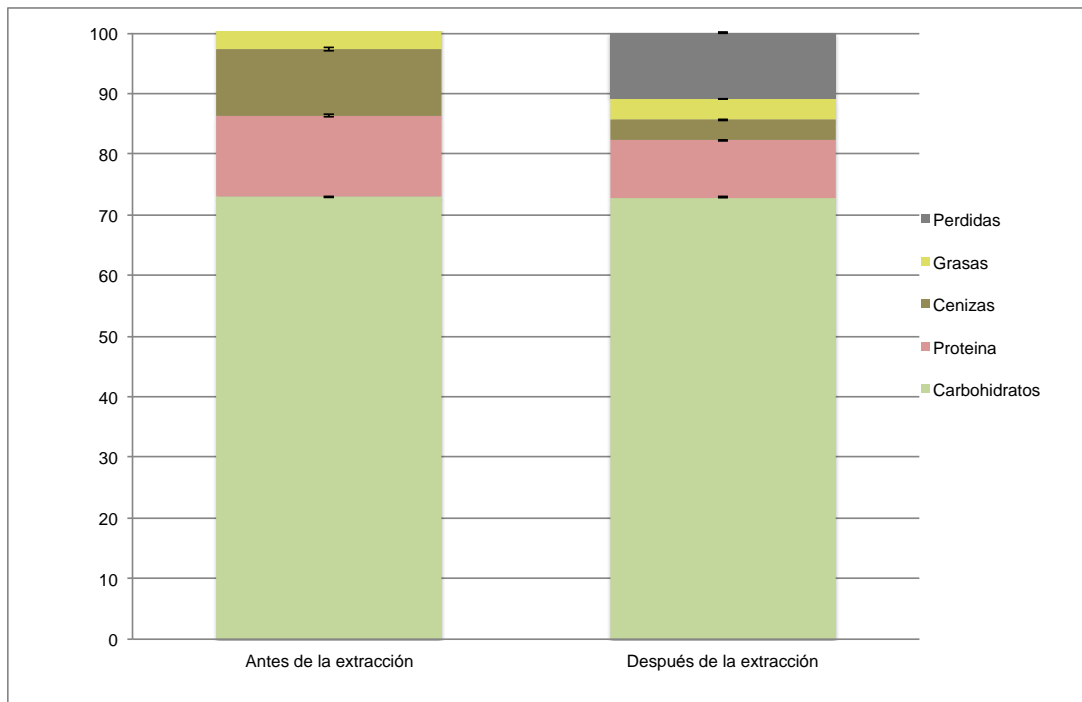


Figura 4-3. Composición de materia orgánica de cáscara de plátano verde en base seca antes y después de la extracción de almidón

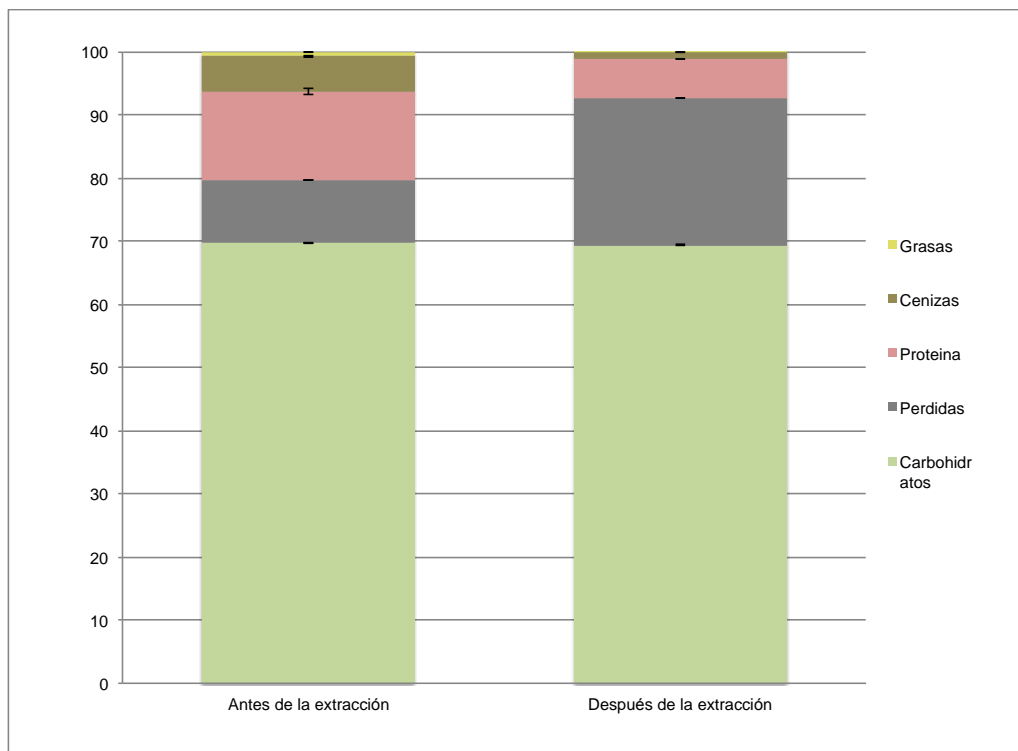


Figura 4-4. Composición de materia orgánica de papa de descarte en base seca antes y después de la extracción de almidón

4.2.1 Grasa

Mediante el método de extracción Soxhlet, se determinó que la cantidad de grasa de la cáscara del plátano verde es de 0.51% p/p \pm 0.29% o de 3.61% p/p \pm 0.29% en base seca, un valor inferior al 8.6% p/p en base seca referencial del genero *Musa* según Hammond (Hammond, 1996). La papa tiene un contenido de 0.16% p/p \pm 0.18% o de 0.70% p/p \pm 0.18% en base seca, un valor superior al referencial de 0.1% p/p de grasa en base seca según Quishpe (Quishpe, 2014).

Se observa en la Figura 4-5 que el contenido del plátano verde se mantiene igual antes y después de la extracción de almidón con un valor de 3.61% p/p \pm 0.29% a 3.51% p/p \pm 0.44% en base seca. El contenido de grasa en la papa después de la extracción de almidón se ve disminuida a 0.14% p/p \pm 0.07%; esta disminución en el contenido de grasa pudo deberse al método de extracción de almidón, donde se filtra la pulpa de papa con agua y cuyos poros permitieron el paso de grasa durante los lavados posteriores.

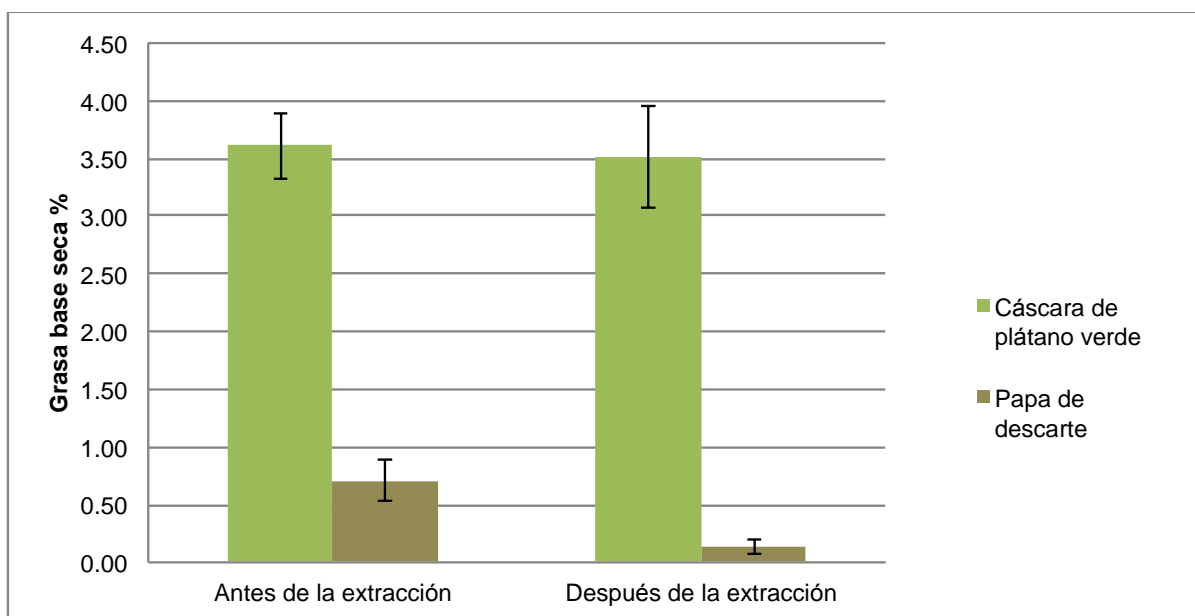


Figura 4-5. Contenido de grasa antes y después de la extracción de almidón

4.2.2 Proteína

Este análisis se lleva a cabo en un equipo Kjeldahl el cual minimiza las pérdidas de muestra durante los procesos y garantiza una adecuada reproducibilidad en cada repetición además de una buena reproducibilidad en cada ensayo.

Se analizó por Kjeldahl el contenido de proteína de la cascara del plátano verde antes de la extracción de almidón obteniendo un valor de 1.92% p/p $\pm 0.23\%$ o de 13.48% p/p $\pm 0.23\%$ en base seca con un valor de referencia de 6.2% p/p en base seca de la variedad Musa SPP según Hammond (Hammond, 1996). El contenido de proteína de la papa fue de 3.13% p/p $\pm 0.50\%$ o de 14.03% p/p $\pm 0.50\%$ en base seca en comparación a un 8.32% p/p de proteína referencial en base seca según Andrade & etal (Andrade & etal., 2009).

Después de la extracción del almidón se observó una disminución en el contenido de proteína en la cáscara de plátano verde en un 4% y en la papa una reducción del 8% aproximadamente. Se puede evidenciar estos cambios en la Figura 4-6.

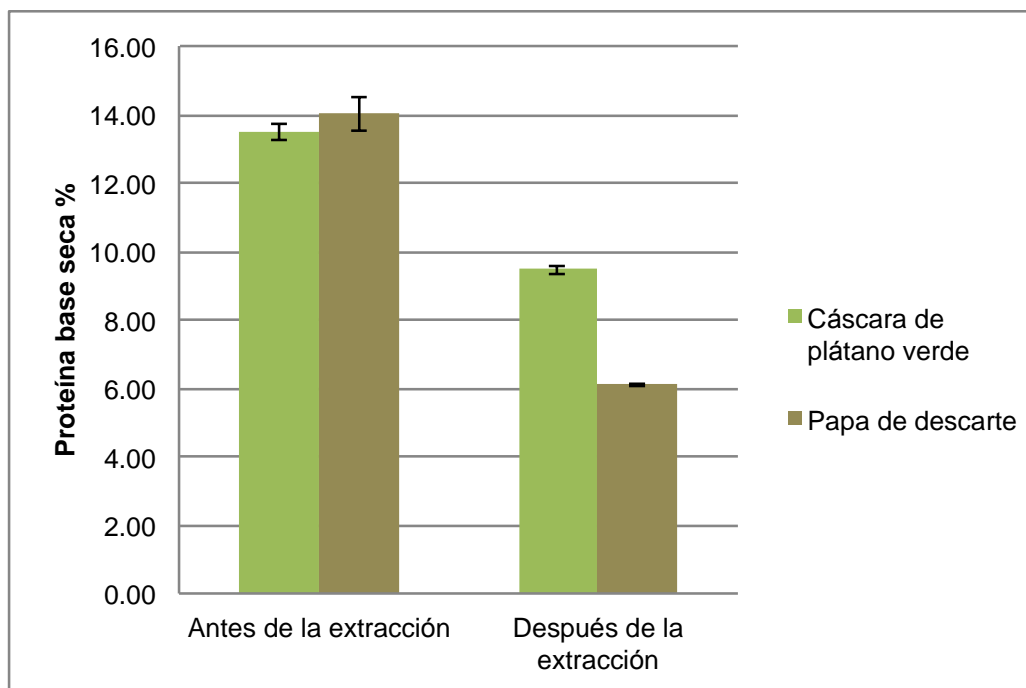


Figura 4-6. Contenido de proteína antes y después de la extracción de almidón

4.2.3 Carbohidratos

Los carbohidratos de la biomasa se determinan mediante el método de azúcares totales. La caracterización de azúcares totales en la cáscara de plátano verde fue de 10.36% p/p $\pm 0.88\%$ o de 72.92% p/p $\pm 0.88\%$ en base seca antes de la extracción de almidón. El contenido azúcares totales después de la extracción de almidón fue de 8.34 p/p $\pm 1.21\%$ o de 72.92% p/p $\pm 0.88\%$ en base seca. La cantidad de azúcares totales en la papa antes y después de la extracción de almidón fue de 15.56% p/p $\pm 1.21\%$ o de 69.71% p/p $\pm 2.21\%$ en base seca. Se tienen valores iguales para cada biomasa antes y después de la extracción y datos similares entre biomásas que tienen diferentes composiciones. El valor alto de azúcares se debe a que todos los carbohidratos como la celulosa, lignina, pectina y hemicelulosa son hidrolizados a azúcares simples y luego son cuantificados. El que los valores sean similares entre las biomásas similares se puede atribuir directamente al método de determinación de azúcares totales donde se utiliza HCl al 4% durante una hora. El hecho de que se tengan valores tan parecidos en biomásas con diferentes composiciones puede sugerir que no se

utiliza el suficiente ácido para la completa hidrólisis de los carbohidratos o que el tiempo de hidrólisis es inferior al requerido. Los resultados se pueden apreciar en la Figura 4-7.

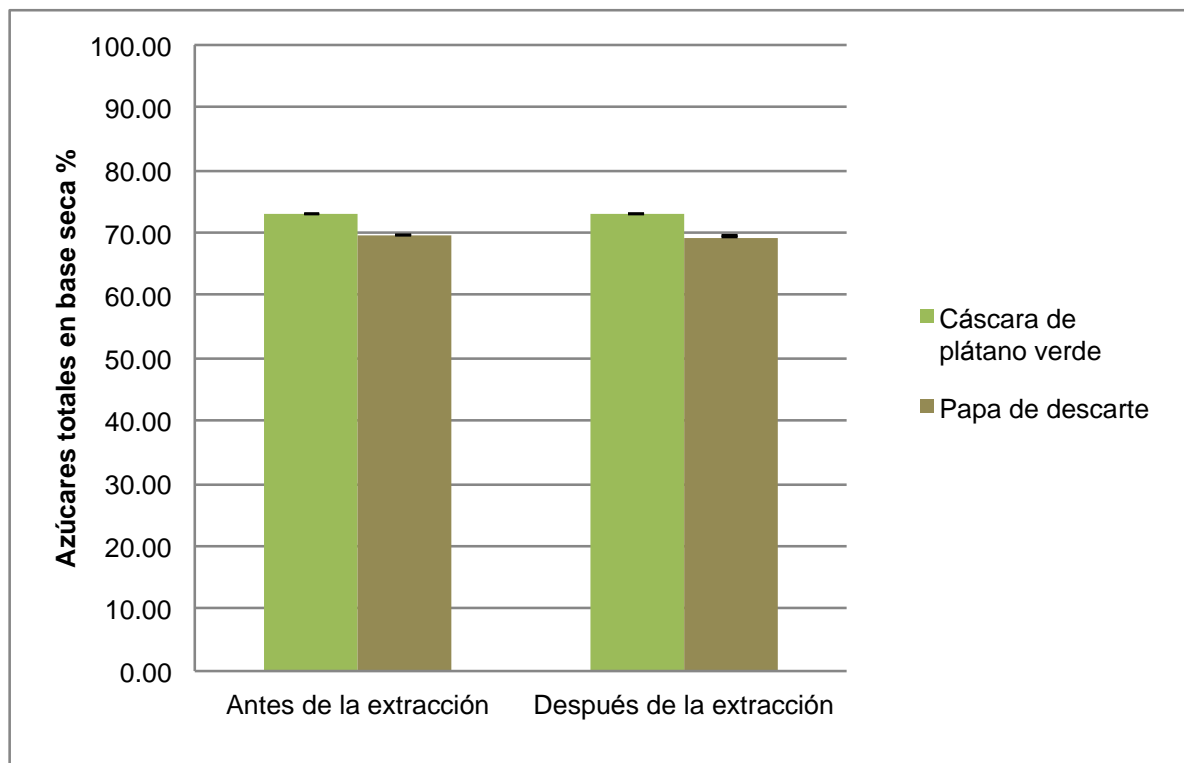


Figura 4-7. Contenido de azúcares totales antes y después de la extracción de almidón

Los carbohidratos están compuestos de otras sustancias individuales como la celulosa, pectina, lignina, azúcares reductores, hemicelulosa entre otras. Los análisis de composición de estos compuestos en específico se describen en detalle en la sección 4.3 Composición específica de los carbohidratos.

4.3 Composición específica de los carbohidratos

Los carbohidratos de las biomásas caracterizadas están compuestos principalmente por almidón. Además de almidón estas biomásas poseen un alto contenido de celulosa, lignina, hemicelulosa y otros compuestos en menor porcentaje. A continuación se detallan los carbohidratos analizados. Las

Figura 4-8 y Figura 4-9 detallan la composición de los carbohidratos del plátano verde y papa antes y después de la extracción de almidón. Se utilizó como base de cálculo el total de los carbohidratos determinados antes de la extracción de almidón. Los promedios y las desviaciones estándar de los análisis se encuentran en la Tabla 4-1.

Tabla 4-1. Promedios y desviaciones estándar de las caracterizaciones de plátano verde (*Musa spp*) y papa (*Solanum Tuberosum*) en base húmeda

Análisis	Plátano verde (<i>musa spp</i>)				Papa (<i>Solanum Tuberosum</i>)			
	Antes de extracción de almidón		Después de extracción de almidón		Antes de extracción de almidón		Después de extracción de almidón	
	Promedio	Desviación Estandar	Promedio	Desviación Estandar	Promedio	Desviación Estandar	Promedio	Desviación Estandar
Humedad	85.79	0.43	88.56	0.41	77.68	0.66	77.86	0.57
Cenizas	1.55	0.17	0.38	0.01	1.24	0.37	0.38	0.13
Grasas	0.51	0.29	0.40	0.44	0.16	0.18	0.03	0.07
Proteína	1.92	0.23	1.08	0.14	3.13	0.50	1.35	0.05
Fibra	1.17	0.23	1.66	0.21	0.39	0.18	0.55	0.15
Celulosa	0.93	0.45	2.12	0.64	0.77	0.53	1.40	0.50
Lignina	1.42	0.60	1.69	0.09	0.25	0.22	0.41	0.48
Pectina	0.35	0.01	0.14	0.11	0.03	0.03	0.04	0.03
Almidón	2.98	0.66	0.89	0.13	8.43	0.42	1.35	0.23
Azúcares Reductores	0.35	0.01	0.00	0.00	0.25	0.00	0.00	0.00
Hemicelulosa	0.95	0.08	0.00	0.00	0.67	0.08	0.00	0.00
Carbohidratos	10.36	0.88	8.34	0.93	15.56	1.21	15.36	0.86
Materia Orgánica	12.66	0.30	11.06	0.21	21.08	0.52	21.91	0.60

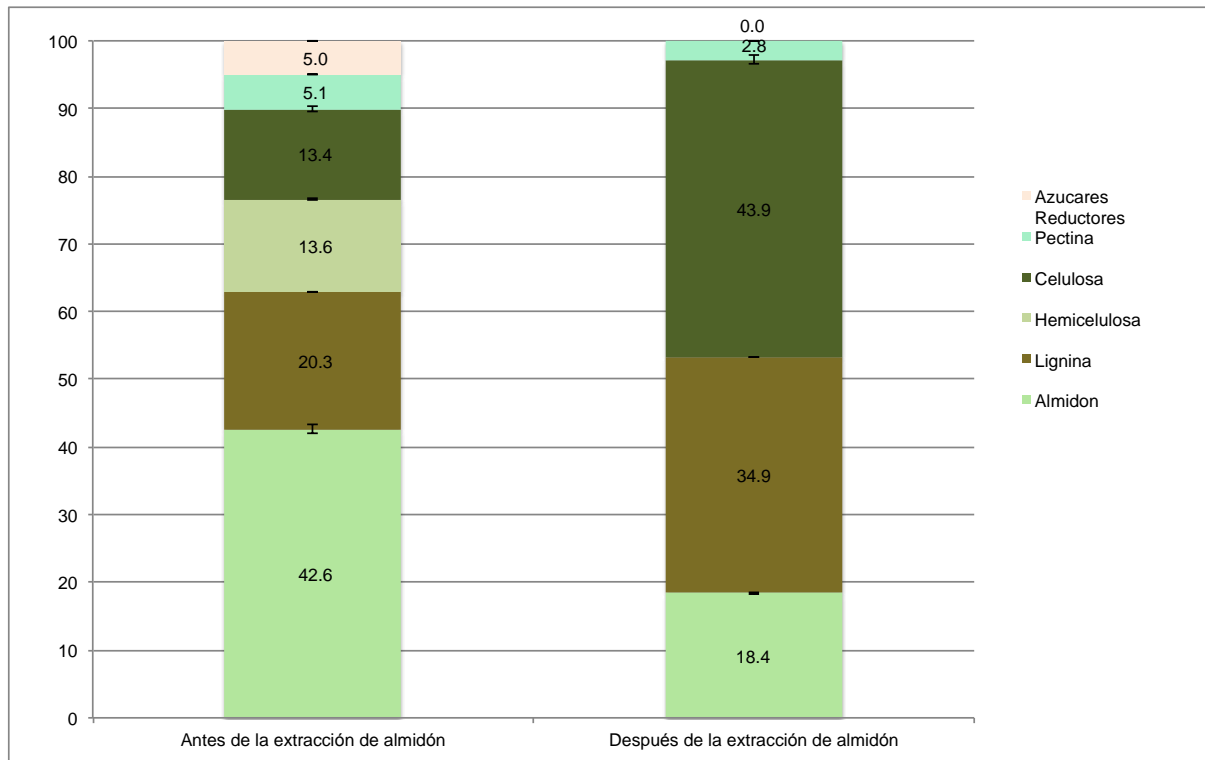


Figura 4-8. Composición de carbohidratos en la cáscara de plátano verde

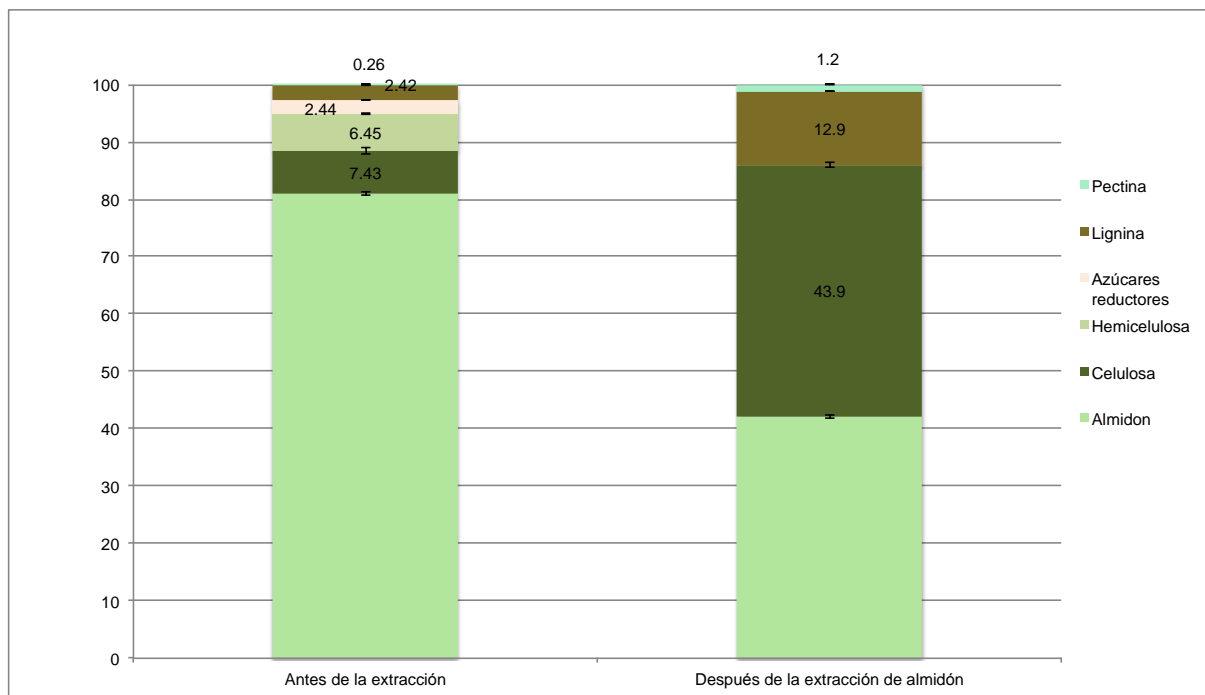


Figura 4-9. Composición de carbohidratos en la papa de descarte

El análisis de cada compuesto se presenta en las secciones siguientes.

4.3.1 Almidón

El objetivo de las caracterizaciones de las biomásas es conocer el rendimiento de la extracción de almidón. Por esta razón se caracterizó las biomásas antes y después de la extracción de almidón. Este análisis se la realizó mediante un kit enzimático de marca Megazyme siguiendo el método de caracterización de almidón de la AOAC 996.11. Este kit facilita el análisis estandarizado de las muestras y también permite la adecuada reproducibilidad entre ensayos.

El análisis de almidón determinó un contenido en la cáscara del plátano verde previa a la extracción de 2.98% p/p $\pm 0.66\%$ o 20.96% p/p $\pm 0.66\%$ en base seca en comparación al valor referencial de 36.4% p/p en base seca según Iizuka (Iizuka, 1985). La papa tuvo un contenido de 8.43% p/p $\pm 0.42\%$ o 37.77% p/p $\pm 0.42\%$ en base seca en comparación a un 18.4% p/p en base seca referencial según Andrade & et al (Andrade & et al., 2009).

En ambos casos se redujo el contenido de almidón posterior a la extracción removiendo el 63.33% p/p $\pm 0.66\%$ de almidón en la cascara del plátano verde y 83.91% p/p $\pm 0.42\%$ en la papa. El contenido final de almidón en ambos casos es entre 6% p/p y 8% p/p una cantidad similar. Este similitud del contenido final se debe a la eficiencia del método de extracción y puede ser el valor máximo de almidón residual sin extraer por biomasa.

4.3.2 Fibra

El método empleado para la cuantificación de fibra en las muestras se realizó mediante una digestión ácida con ácido sulfúrico al 1.25% y posteriormente una digestión básica con hidróxido de sodio al 1.25%. Para la cáscara de plátano verde se determinó un contenido de fibra de 1.15% p/p $\pm 0.23\%$ o de 8.25% p/p $\pm 0.23\%$ en base seca. El dato referencial para la cáscara de plátano para el

género *Musa SPP* es de 8.6% p/p en base seca según Hammond (Hammond, 1996). Este valor es ligeramente superior al obtenido experimentalmente.

Se determinó el contenido de fibra de la papa como 0.39% p/p $\pm 0.18\%$ o de 1.75% p/p $\pm 0.18\%$ en base seca. Este valor es similar al valor obtenido referencialmente de 1.39% p/p en base seca según Andrade & etal (Andrade & etal., 2009). Los valores son cercanos y la variación en su contenido de fibra puede atribuirse a las condiciones de cultivo, cantidad de lluvia y altura a la cual fue cultivado esta muestra. Posterior a la extracción de almidón se obtuvo un incremento en la cantidad de fibra en ambas biomásas. El incremento en la cantidad de la papa es de un 43% de 1.75% p/p ± 0.18 a 2.49% p/p $\pm 0.15\%$. El mayor incremento se obtuvo en la cascara de plátano verde que paso de 8.25% p/p $\pm 0.23\%$ a 14.5% p/p $\pm 0.21\%$ lo que representa un aumento del 75%.

Una pérdida considerable de muestra en este método es durante la etapa de filtración. Las etapas de filtración son dos, una después de la digestión ácida y otra después de la digestión básica. Se calculó que en cada etapa los filtros de papel se retienen 2.5% p/p de la biomasa en base seca. La biomasa del filtro no puede ser removida en su totalidad ya que la fricción prolongada sobre el papel filtro puede remover parte del mismo y alterar los valores de celulosa, uno de los compuestos determinados simultáneamente con este método, modificando el valor resultante de la fibra.

4.3.3 Lignina

El contenido de lignina insoluble en ácido en la cascara de verde previo a la extracción de almidón fue de 1.42% p/p $\pm 0.60\%$ o de 9.98% p/p $\pm 0.60\%$ en base seca. No se encuentra una referencia bibliográfica de lignina en la cascara del plátano verde *Musa SPP* sino referencias de las especies *Musa Cavendish* con un valor de 2.05% p/p en base húmeda y la especie *Musa Acuminata* con un valor de 2.18% p/p en base húmeda según Souza & etal (Souza & etal., 2012).

El contenido de lignina determinado en la papa previa a la extracción tuvo un valor de 0.25% p/p $\pm 0.22\%$ o de 1.13% p/p $\pm 0.22\%$ en base seca. No se tiene un dato referencial para el contenido de lignina en papa pero se conoce que la papa tiene entre 0.4% p/p y 1.39% p/p de fibra en base seca (Quishpe, 2014). Comparando estos valores se puede ver un alto contenido de lignina en la papa *Solarum Tuberosum*.

Posterior a la extracción de almidón se obtuvieron valores experimentales de lignina mayores a los cuantificados previo a la extracción en ambas biomásas. En la cáscara de plátano verde se incrementó el contenido de lignina de 10% p/p $\pm 0.60\%$ a 14% p/p $\pm 0.09\%$. En la papa el contenido de lignina incremento de 1.2% p/p $\pm 0.22\%$ a 1.86% p/p $\pm 0.48\%$. Estos valores representan un incremento del 48% y 65%, respectivamente, la cual es entendible ya que al extraer almidón la base de cálculo se reduce sustancialmente.

Este método también presenta una pérdida de masa durante la etapa de filtración posterior al reflujo. Durante esta etapa del proceso se llega a perder un 2.5% p/p en base seca de muestra inicial que no es cuantificado finalmente.

4.3.4 Celulosa

El contenido de celulosa en la cáscara de plátano verde antes de la extracción de almidón fue de 0.93% p/p $\pm 0.45\%$ o de 6.57% p/p $\pm 0.45\%$ en base seca. En la literatura no se encuentran valores de celulosa en la cascara de plátano verde *Musa SPP* sino de cáscara de plátano de la especie *Musa Cavendish*. Esta especie contiene contenido 2.18% p/p de celulosa en base húmeda (Oberoi & etal., 2011). En comparación, se observó un valor experimental menor en 57.4%. Otra referencia literaria es la cáscara del plátano de la especie *Musa paradisiaca* con un contenido de celulosa de 13.2% p/p

en base seca. En referencia el valor experimental también resulta inferior en un 50.2%. La cuantificación de la celulosa en la papa fue de 0.77% p/p \pm 0.64% o de 3.24% p/p \pm 0.64% en base seca. El valor referencial en base seca es de 5.4% p/p en base seca (Andrade & etal., 2009). La cuantificación experimental resulta inferior a la referencial en un 40%.

Posterior a la extracción de almidón se determinó que el contenido de celulosa aumentó en ambas biomásas. Se tuvo un incremento en el contenido de celulosa de la cáscara del plátano verde en un 282% de 6.57% p/p \pm 0.45% a 18.6% p/p \pm 0.64% y en la papa se incrementó en un 182% de 3.24% p/p \pm 0.53% a 6.24% p/p \pm 0.50%. Esto se debe a que la base de cálculo cambió. Después de la extracción de almidón que constituía el 21.0% y 37.8% en la cáscara de plátano verde y papa de descarte respectivamente, la celulosa incrementó su porcentaje en la muestra.

Durante la etapa de filtración se calculó una pérdida de muestra de aproximadamente 2.5% p/p en base seca. Esta consideración en el plátano verde aumentaría la cantidad de celulosa en la muestra en base seca a 9.1% p/p y sería un dato cercano a los referenciales. Esta variación del dato referencial sería en un 30% cuya diferencia se atribuiría directamente a las condiciones de cultivo y también al género del plátano *Musa spp.* En cuanto a la papa, este valor en base seca sería aproximadamente el valor referencial de celulosa.

4.3.5 Hemicelulosa

El contenido de hemicelulosa en la cáscara de plátano verde y papa antes de la extracción de almidón se determinó mediante la diferencia entre azúcares reductores y contenido de glucosa mediante el método de Fehlings. El valor determinado para el plátano verde fue de 0.95% p/p \pm 0.08% o de 6.71% p/p \pm 0.08%. Referencialmente se tienen un valor de 14.8% p/p de hemicelulosa en la especie *musa spp* según Monsalve & etal (Monsalve & etal., 2006) y de 8% p/p a 10% p/p en la

especie musa cavendish (Iizuka, 1985). El contenido de hemicelulosa antes de la extracción de almidón para la papa que se determinó fue de 0.67% p/p \pm 0.09% o de 3.01% p/p \pm 0.09% en base seca. El valor experimental es aproximadamente la mitad del valor referencial obtenido de 7.0% p/p en base seca según Hoff & Castro (Hoff & Castro, 1969).

El contenido de hemicelulosa obtenido posterior a la extracción es nulo en ambas biomásas. Al ser este un método indirecto, después de la extracción de almidón también se extrajeron los azúcares reductores y no se logró cuantificar el contenido de hemicelulosa.

4.3.6 Pectina

La caracterización de pectina para el plátano verde antes de la extracción de almidón dio un valor de 0.35% p/p \pm 0.01% o de 2.54% p/p \pm 0.01% en base seca. Este resulta mayor al valor obtenido referencialmente de 0.7% p/p en base seca según Iizuka (Iizuka, 1985). Este contenido experimental de pectina mayor al referencial se atribuye al clima, geografía y a la especie de plátano verde ya que el referencial es de la especie *Musa Acuminata*. La pectina en la papa fue de 0.03% p/p \pm 0.03% o de 0.12% p/p \pm 0.03% cuyo valor es aproximado a los referenciales de nulo y 0.1% p/p en base seca según Le Tourneau (Le Tourneau, 1965).

Posterior a la extracción de almidón se determinó un valor menor de pectina para el plátano verde. Su contenido se redujo de 2.5% p/p \pm 0.01% a 1.2% p/p \pm 0.01%. En la papa el contenido de pectina incrementó de 0.12% p/p \pm 0.03% a 0.17% p/p \pm 0.03%. Este valor es pequeño y ligeramente superior a la inicial lo cual podría considerarse el mismo valor. La pectina es soluble en agua y en una extracción líquida debería disminuir como en el caso de la cáscara de verde. La razón por la que se tiene un valor aproximado puede ser por la estructura de la pectina que al ser tan grande y compleja como se explica en la sección 2.6.8 puede no ser extraída fácilmente a diferencia de la estructura de

la pectina en la cáscara del plátano verde que disminuyo su contenido pero igualmente se encuentra presente en el residuo posterior a la extracción.

4.3.7 Azúcares reductores

Los azúcares reductores determinados previo a la extracción del almidón en la cascara del plátano verde fue de 0.35% p/p ± 0.013 o de 2.47% p/p $\pm 0.013\%$ en base seca. Referencialmente se conoce que se tiene 2.4% p/p de azúcares reductores según Iizuka en base seca (Iizuka, 1985). Este valor varía con el tiempo ya que la cáscara de verde al madurarse convierte más almidón en azúcares reductores. El valor determinado de experimentalmente es cercano al teórico ya que fue un plátano verde que aún no empezaba el proceso de maduración. La papa antes de la extracción de almidón tuvo un contenido de azucares reductores de 0.25% p/p $\pm 0.004\%$ o de 1.13% p/p $\pm 0.004\%$ en base seca. Este valor es mayor al valor referencial de 0.14% p/p en base seca (Loyola & etal., 2010). El valor es mayor pero se debe considerar el efecto de la maduración, características de suelo y geografía en consideración.

Posterior a la extracción de almidón se determinó que los valores de azúcares reductores en las dos biomásas fueron nulos. Los azúcares reductores son solubles en agua y durante la extracción en agua de almidón estos fueron extraídos también.

4.1 Composición de las biomásas antes y después de la extracción de almidón

Los resultados finales de los análisis realizados a las biomásas se presentan en las Tabla 4-2 y Tabla 4-3. Los resultados se detallan previa a la extracción de almidón y posterior a la extracción. Para los datos determinados previo a la extracción de almidón se conocen referencias a las cuales se las compara.

Tabla 4-2. Composición total de cáscara de plátano verde (*Musa spp*) en base húmeda y base seca

Etapa de extracción de almidón	Previa		Valor	Referencia Autores	Posterior	
	Análisis	Base húmeda %			Base seca %	Base húmeda %
Humedad	85.79		70.1	Souza & etal, 2012	88.56	
Cenizas	1.55	10.90	8.9	Obreio & etal, 2011	0.38	3.35
Materia Orgánica	12.66	89.10			11.06	96.65
Grasas	0.51	3.609	8.60	Hammond & etal, 1996	0.40	3.51
Proteína	1.92	13.48	6.2	Hammond & etal, 1996	1.08	9.46
Carbohidratos	10.36	72.92			8.34	72.87
Almidón	2.98	20.96	36.4	lizuka & etal, 1985	0.89	7.78
Fibra	1.17	8.25	8.60	Hammond & etal, 1996	1.66	14.50
Lignina	1.42	9.98	2.20	Souza & etal, 2012	1.69	14.75
Celulosa	0.93	6.57	2.18	Obreio & etal, 2011	2.12	18.55
Hemicelulosa	0.95	6.71	14.8	Monsalve & etal, 2006	0.00	0.00
Pectina	0.35	2.49	7.00	lizuka & etal, 1985	0.14	1.20
Azúcares reductores	0.35	2.46	2.40	lizuka & etal, 1985	0.00	0.00
Total cuantificado	96.75	77.16			95.26	58.61

Tabla 4-3. Composición total de papa de descarte (*Solanum Tuberosum*) en base húmeda y base seca

Etapa de extracción de almidón	Previa		Valor	Referencia Autores	Posterior	
	Análisis	Base húmeda %			Base seca %	Base húmeda %
Humedad		77.68	77.24	Loyola & etal, 2007	77.86	
Cenizas		1.24	4.3	Andrade & etal, 2009	0.23	1.04
Materia Orgánica		21.08			21.91	98.96
Grasas		0.16	0.1	Quishpe, 2014	0.03	0.14
Proteína		3.13	8.32	Andrade & etal, 2009	1.35	6.11
Carbohidratos		15.56	20.7	GDEP 2007	15.36	69.39
Almidón		8.43	18.4	Andrade & etal, 2009	1.35	6.09
Fibra		0.39	1.39	Andrade & etal, 2009	0.55	2.49
Lignina		0.25			0.41	1.86
Celulosa		0.77	1.3	Andrade & etal, 2009	1.40	6.34
Hemicelulosa		0.67	7	Hoff & Castro, 1969	0.00	0.00
Pectina		0.027	0.1	Le Tourneu, 1965	0.04	0.17
Azúcares reductores		0.25	0.14	Loyola & etal, 2007	0.00	0.00
Total cuantificado		92.61			82.68	21.76

Los valores obtenidos de la caracterización de la composición de plátano verde dan un valor cercano al 100% en base húmeda previo a la extracción de almidón. Para la caracterización de papa se tiene un valor de 92.16%. El contenido en base seca tanto en la caracterización previo a la extracción de almidón como la cuantificación posterior a la extracción de almidón de la cáscara del plátano verde como la papa tienen un valor bajo de cuantificación. Esta incertidumbre se debe a que la materia orgánica de estas biomásas está compuesta principalmente de carbohidratos. Estos carbohidratos son solubles en agua y más aún después de tratamientos químicos en los cuales se hidrolizan los compuestos en azúcares simples como glucosa, galactosa, maltosa, entre otros. El resultado es que los azúcares simples son extraídos de la biomasa al filtrar en los análisis de fibra, celulosa, lignina, pectina, etc y por esta razón se tienen valores tan bajos de caracterización de biomasa.

El fenómeno de extracción de azúcares simples es aún más evidente en las caracterizaciones posteriores a la extracción de almidón. La caracterización en base seca de la cáscara del plátano verde tiene una cuantificación del 58.61% y el de la papa una cuantificación del 21.76%. Se puede determinar que la cuantificación es baja debido a la pérdida de azúcares simples ya que al cuantificar los carbohidratos mediante el método de azúcares totales, se obtienen valores de 70% a 72% de carbohidratos en base seca. En el caso del plátano verde, la suma de los carbohidratos y las cenizas después de la extracción de almidón da una composición de 76% en base seca, ligeramente inferior al obtenido previo a la extracción y 50% más a la cantidad cuantificada sumando las caracterizaciones individuales de lignina, pectina, celulosa, azúcares reductores, almidón y hemicelulosa. De igual manera la cuantificación de carbohidratos de la papa considerando carbohidratos y cenizas da un total de 70% en base seca frente a un 77.16% de composición previo a la extracción de almidón. El contenido es menor ya que esa diferencia se atribuye principalmente al almidón extraído. Adicionalmente, se tiene que considerar que no se logra cuantificar la hemicelulosa posterior a la extracción de almidón debido precisamente a la extracción de azúcares reductores solubles en la fase líquida durante la extracción de almidón.

5. Conclusiones y Recomendaciones

En la presente investigación se caracterizaron detalladamente las composiciones en base seca y base húmeda de la cascara del plátano verde (*Musa spp*) y papa de descarte (*Solanum Tuberosum*) antes y después de la extracción líquida de almidón. Se determinó que la extracción líquida remueve hasta un mínimo de 6% de almidón en la biomasa. Se concluye que durante la extracción líquida se extrae almidón, pero también otros compuestos de la biomasa especialmente los azúcares. La cuantificación de materia orgánica en las biomasas se ve afectada y disminuida por la degradación de los carbohidratos a azúcares simples durante los procesos de cuantificación química. Los métodos utilizados para caracterizar los carbohidratos están sujetos a estas pérdidas durante los lavados y filtrados de la biomasa.

Los métodos utilizados son adecuados para la caracterización de biomasa ya que se obtienen valores similares a los referenciales individualmente. Si se requiere caracterizar una biomasa completamente, se tiene que tener ciertas consideraciones con los métodos de lignina y celulosa. Estos procesos con digestiones ácidas o básicas con etapas de filtración tienen que ser llevadas a cabo de manera rigurosa e inclusive se recomienda la cuantificación del agua de lavado para completar el balance de materia de cada análisis. El método de fibra cruda se concluye que es una aproximación a la cuantificación de celulosa y no debe ser confundido con la cuantificación de fibra total. Para tener un valor referencial de fibra en una biomasa se recomienda desarrollar un método de cuantificación de fibra total que incluya todos los carbohidratos como lignina, pectina, azúcares reductores, hemicelulosa y celulosa. Por otro lado, se recomienda desarrollar un método de cuantificación de hemicelulosa mediante la medición de otros compuestos como la celulosa y holocelulosa con el fin de cuantificar compuestos que no sean altamente solubles en agua en procesos de extracción, evitando así la imposibilidad de cuantificación después de la extracción de azúcares reductores. Se recomienda también el uso de kits enzimáticos o equipos estandarizados

para la caracterización de carbohidratos principalmente los azúcares reductores, lignina, pectina y hemicelulosa de las diversas biomásas cuando el objetivo sea realizar una caracterización completa. Se recomienda también optimizar el proceso de extracción de almidón para remover el residuo remanente de almidón en ambas biomásas.

6. Referencias Bibliográficas

- Alarcon, F., & Dufort, D. (1998). *Almidón de yuca en Colombia*. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Alvarez, J. (2009). Regeneración osea a través de la ingeniería de tejidos: una introducción. *Revista de Estudios Transdisciplinarios*, 98-109.
- Amadeo, K. (4 de 11 de 2017). *Oil price forecast 2017-2050*. Recuperado el 5 de 12 de 2017, de The Balance: <https://www.thebalance.com/oil-price-forecast-3306219>
- Andrade, M., & etal. (2009). *Información técnica de la variedad Papa INIAP-Fripapa*. Quito.
- AOAC . (1997). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Gaithersburg, MD, USA: 16.
- AOAC. (1984). *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC: Analytical Chemists.
- AOAC. (2012). *Official Methods of Analysis of AOAC international*. Gaithersburg, North Carolina, USA: AOAC International.
- Aristizabal, T., & Mejía, D. (2007). Guía técnica para la producción y análisis de almidón de yuca. . *Boletín de servicios agrícolas de la FAO*.
- Asikkala, J., & etal. (2012). *Agricultural Food Chemistry*.
- Axelsson, J. (2011). *Separate hydrolysis and fermentation of pretreated spruce*. Omskoldsvik.
- Calvo, C., & etal. (1995). Fibra cruda y quitina en el crustáceo langostilla (*Pleuroncodes planipes*, STIMSON): Similitudes y diferencias. Red de Reistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. *Ciencias Murlnas*, 179-186.
- Castro, P., & Palencia, A. (2006). *Evaluación de la influencia de diferentes condiciones en tratamientos superficiales sobre el comportamiento de fibra de fique*. . Medellín: Universidad Pontificia Bolivariana.

- Cheng, Y. (2014). *Bioplastics and their role in achieving global sustainability*. Beijing: Beijing: Research Center for Strategic Science and Technology Issues.
- Cherubini, F. (2010). The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. *Energy Conversion and Management*, 1412-1421.
- Cuenca, M. y. (2013). *Propuesta de guía metodológica para el diseño de un sistema integrado de gestión de calidad, seguridad y ambiente caso: Industria Procesadora de Madera de Balsa, Produbal*. Quito: Universidad Politécnica Salesiana.
- De Vries, J. (1983). Structural features of apple pectin substances. .
- Devaux, A. (2011). La papa y la seguridad alimentaria, situación actual y desafíos para la innovación. *IV Congreso Nacional de la papa*. Guaranda: Centro Internacional de la Papa.
- DOE US. (2006). *Breaking the biological barriers to cellulosic ethanol: a joint research agenda U.S. Department of Energy Office of Science and office Energy Efficiency and Renewable Energy*.
- Dominguez, M., & etal. (2012). Estudio de la cinetica del pretratamiento e hidrólisis ácida del bagazo de cana de azúcar . *Revista Iberoamericana de polímeros* , 13(4), 200-211.
- Donath, M. (2014). World cities, home to most people, to add 2.5 billion more by 2050.
- Duprat, F., Gallant, D., Guilbot, A., Mercier, C., & Robin, J. (1980). Les polymeres vegetaux. *Monties*, 176-231.
- Frederick, W. J. (2008). Co-production of ethanol and cellulose fiber from southempine: A technical and economical assesment. *Biomass and bioenergy*, 32.
- Galacturonanas. (2010).
- GDEP-Global Bioenergy Partnership. (2007). *A review of the current state of bioenergy development in G8+5 countries*. Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO).
- Guerrero, A. e. (2015). GIS-Based Assesment of Banana Residual Biomass Potential for Ethanol Production and Power Generation: A case Study. *Springer, Waste and Biomass Valorization*.
- Gupta, R. (2008). Alkaline pretreatment of biomass for ethanol production and understanding the factors influencing the cellulose hydrolysis. *Aubum University*.

- Hahn-Hagerdal, B. (2006). Bio-ethanol the fuel of tomorrow from residues of today. *Trends of Biotechnology*, 549-556.
- Hammond, J. e. (1996). Alcohol from bananas. *Elsevier*, 56(1), 125-130.
- Hilz, H. (2007). Characterization of cell wall polysaccharides in billberries and black currants.
- Hoff, J., & Castro, M. (1969). Chemical composition of potato cell wall. *Journal of Agricultural and food chemsitry (ACS publications)*, 17(6), 1328-1331.
- IEA. (2007). *World energy outlook*. Paris: International Energy Agency.
- lizuka, M. e. (1985). Alcohol fermentation of green banana. *Journal of Fermentation Technology*, 5, 475-477.
- Instituto de Desarrollo de Energías y Materiales Alternativos . (2016). *Manual de procedimientos y seguridad*. Quito: Universidad San Francisco de Quito.
- Instituto Nacional de Estadística y Censos. (2016). *Encuesta de superficie y producción agropecuatis vontinus (ESPAC)*. Quito.
- Instituto Nacional de Preinversión . (2014). Atlas bioenergético del Ecuador. Quito.
- Intergovernmental Panel on Climate Change. (2014). *Cambio Climatico 2: Impactos, adaptación y vulnerabilidad*.
- Jin, I., & etal. (2011). Metabolic engineering of algae for fourth generation biofuels production. *Energy & Environmental Science*.
- Kim, S., & Dale, B. (2004). Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues. . *Biomass Bioenergy*, 26, 361-375.
- Kummamuru, B. (2016). *WBA Global Bioenergy statistics 2017*. World Bioenergy Association.
- Le Tourneau, D. (1965). Potato Composition, Carbohydrates COmponents of the Potato Tuber. *Journal of Agricultural and Food CHemistry (ACS)*, 4(6), 543-545.
- Lees, R. (1982). *Análisis de alimentos: Métodos analíticos y de Control de Calidad*. Zaragoza: Editorial Acribia.

- Loyola, N., & etal. (2010). Evaluación del contenido de almidón en papas (*Solanum Tuberosum*, Sp. *Tuberosum*, CV. Diseree) producidas en forma organica y covnencional en la provincia de Curicó, región de Maule. *IDESA*, 28(2), 41-52.
- Marquardt, W., & etal. (2010). The biorenewables opportunity toward next generation process and product systems. *AIChE*, 56, 2228-2235.
- McCabe, W., Smith, J., & Harriot, P. (2007). *Operaciones unitarias en la ingeniería química*. McGraw Hill.
- Megazyme. (2017). *Total Starch Assay Procedure*. Wicklow: Megazyme.
- Ministerio Coordinador de Producción, Empleo y Competitividad. (2016). *Proyecto Ecopais*. Quito.
- Miranda, M., & Cuellar, A. (2012). Farmacognosia y productos naturales. *Editorial Félix Varela*, 25-49.
- Monsalve, J., & etal. (2006). Producción de etanol a partir de la cascara de banano y de almidón de yuca. *Dyna*, 73(150), 21-27.
- Mtui, G. (2009). Recent advances in pretreatment of lignocellulosic waste and production of value added porducts. *African Journal of Biotechnology*, 1398-1415.
- Mtui, G., & Nakamura, Y. (2005). Bioconversion of lignocelullosic waste from selected dumping sites in Dar es Salaam. *Tanzania Biodegradation*, 493-499.
- Normas Mexicanas - Dirección general de normas. (1978). *Determinación de fibra cruda en alimentos*. México D.F.
- Normas Mexicanas-Dirección general de normas. (1978). *Determinación de fibra ruda en alimentos*. Mexico D.F.
- Norwegian University of Science and Technology-NTNU. (2005). *Biofuels from linocellulosic material- In Norweigian context 2010-Technology, potencial and cost*.
- Nossim, P. (2009). *White biotechnology: replacing the black gol?* Ghent: Fifth international conference on renewable resources and biorefineries.
- Oberoi, H., & etal. (2011). Ethanol production from banana peels using statistically optimized simultaneous saccharification adn fermentation process. *Elsevier*, 31(7), 1576-84.

- Organización de las Naciones Unidas. (2008). *El año internacional de la papa 2008: Las papas, la nutrición y la alimentación*. ROma.
- Pandey, A. (2009). *A handbook of plant-based biofuels*. Washington: Taylor & Francis.
- Pellinen, J., & Salkinoja-Salonen, M. (1985). Chromatogr. 328-329.
- Portugal, J. (2012). Fibra Vegetal. *Journal electrónico de Medicina Intercultural*.
- Quishpe, J. (2014). *Obtención y caracterización de la fibra dietética a partir de los residuos de papa (Solarum Tuberosum)*. Universidad Nacional de Huancavelica, Huancavelica.
- Revelo, D. (2014). *Estudio de la hidrólisis y la fermentación alcohólica de residuos de biomasa seca de madera de balsa, palmito y bagazo para la obtención de bioetanol*. Tesis pregrado, Univesidad San Francisco de Quito, Quito.
- Rislaid, K., & etal. (2010). State of the art in Bioethanol Production.
- Rubin, M. (2008). Genomics of cellulosic biofuels. *Nature*, 454.
- Santan-Maria, M., & etal. (2013). Assesing the feasibility of biofuel production from lignocellulosic banana waste in rural agricultural communities in Peru and Colombia. *Bioenergy Resources*, 6, 1000-1011.
- Scott, F. (2011). Process synthesis and design for lignocellulosic ethanol production. *Ingengerare*, 25, 39-48.
- Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., & Marquis, M. (2007). *Climate change 2007: the physical science bases*. IPCC. Cambridge: Cambridge University Press.
- Sooner, D. (2005). A single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. *Proceedings of the National Academy of Science*, 102.
- Souza, O., & etal. (2012). Energia alternativa de biomassa: bioetanol a partir da casca e da polpa de banana. *Revista Brasileira de Engenharia agrícola e ambiental*, 16(8), 915-921.
- Ververis, C. e. (2007). Cellulose, hemicellulose, lignin and ash content of some organic materials and their suitability for use as paper pulp supplements. *ScienceDirect*(98), 296-301.
- VLEP Scientifica. (2016). *Manual de operación*. Usmate: VLEP Scientifica.

- VLEP Scientifica. (2016). *Manual de operación*. Utmera: VLEP Scientifica.
- Voet, D., & etal. (2013). *Fundamentals of Biochemistry life at the molecular level*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Vorgen, A., & etal. (2009). Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Struct chemistry, 20*, 263-275.
- Wyman, C. (1996). *Handbook on bioethanol: Production and utilization*. Washington D.C.: Taylor & Francis .
- Xiao, C., Bolton, R., & Pan, W. (2007). Lignin from rice straw kraft pulping: Effects on soil aggregation and chemical properties. *Bioresources Technology, 1482-1488*.
- Yan, L., & Shuya, t. (2006). Ethanol fermentation from biomass resources: Current state and prospects. . *Applied Microbiology Biotechnology, 627-642*.
- Zeemna, S., Kossmann, J., & Smith, A. (2010). Starch: Its metabolism, Evolution adn Biotechnological Modification in Plants. *Annual Review of Plant Biology, 209-234*.
- Zhang, D., & etal. (19 de Mayo de 2017). A new maltose-inducible high-performance heterologous expression in Bacillus Subtilis. *Biotechnology, 1237-1244*.