

## Obtención de azúcares fermentables a partir de restos de frutas del Mercado Municipal N°1 de Coronel Oviedo.

*Obtaining fermentable sugars from fruit leftovers from Coronel Oviedo's Municipal Market No. 1*

Camila Iturbe Peralta

Ingeniera Química egresada de la Unidad Académica de Ciencias y Tecnología de la Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción Campus Guairá.

### RESUMEN

La acumulación de residuos orgánicos en el Mercado Municipal y una deficiente gestión de éstos, conllevan al desaprovechamiento energético de sus principales componentes. Esta investigación tiene como finalidad obtener un producto de valor agregado a partir de estos desechos, la metodología aplicada consistió en la recolección y estandarización de la materia prima, para la experimentación. Las variables de estudio fueron la temperatura en el pretratamiento y la hidrólisis enzimática de la biomasa, en un diseño factorial 2<sup>2</sup>. La variable de respuesta fue la concentración de azúcares medida con el refractómetro ABBÉ. El mejor tratamiento fue el sometido a autoclave a 120°C con hidrólisis enzimática, arrojando en promedio 5,5 °Brix. Las repeticiones de éste se sometieron a fermentación con una cepa de *S. Cerevisiae*. Luego de 5 días, se observó el descenso de la concentración medida en Brix, comprobándose que los azúcares degradados son fermentables, pudiéndose utilizar el sustrato en otros procesos.

*Palabras claves: residuos orgánicos, restos de frutas, hidrólisis enzimática, azúcares fermentables, fermentación alcohólica.*

### INTRODUCCIÓN

La situación actual con respecto a la Gestión Integral de Residuos Sólidos Urbanos (RSU) demuestra que la disposición final de éstos, entre otros desechos orgánicos, no es una opción sostenible. Un problema muy común en los diferentes municipios de nuestro país es el confinamiento de los desechos producidos en los mercados, en botaderos sin clasificación y ningún tratamiento previo, constituyéndose en una amenaza para el ambiente, pero así también una oportunidad biotecnológica.

Paralelo a la disminución del impacto ambiental adverso de los residuos sobre el ecosistema, se aprovechan los principales componentes de los residuos (celulosa, hemicelulosa y lignina), los cuales constituyen una fuente de carbono para producir biomasa (Sánchez et al., 2010). Esta posibilidad permite dar una alternativa de tratamiento diferente a la tradicional disposición de rellenos sanitarios.

Esta investigación tiene como propósito ampliar las alternativas de solución a la problemática que surge en el mecanismo de gestión de RSU producidos en el Mercado Municipal, para darles un valor agregado mediante la hi-

drólisis del material lignocelulósico de los restos de frutas, del cual se espera obtener azúcares fermentables, insumo necesario en otras cadenas de producción.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología de la investigación fue de tipo experimental con enfoque cuantitativo. Como se estudiaron 2 factores de variabilidad en 2 niveles, el arreglo experimental adecuado fue un diseño 2<sup>2</sup>, cuya variable de respuesta correspondía a la concentración de azúcares medidos en °Brix. Este tipo de diseño consta de 4 tratamientos y se realizaron 3 repeticiones, totalizando 12 corridas o ensayos. Ver cuadro 1.

Ensayo	Factores			
	A	B	Temperatura de Pretratamiento	Hidrólisis enzimática
1.1	-	-	110°C	Ausencia
1.2	+	-	120°C	Ausencia
1.3	-	+	110°C	Presencia
2.1	+	+	120°C	Presencia
2.2	-	-	110°C	Ausencia
2.3	+	-	120°C	Presencia
3.1	-	+	110°C	Presencia
3.2	+	+	120°C	Ausencia
3.3	-	-	110°C	Ausencia
4.1	+	-	120°C	Presencia
4.2	-	+	110°C	Presencia
4.3	+	+	120°C	

**Cuadro 1** Arreglo factorial para el diseño 2<sup>2</sup>

Fuentes: Elaboración propia

La experimentación, que se dividió en 3 etapas, se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Católica Campus Guairá, mientras que la materia prima fue recolectada in situ del sector de frutas del Mercado Municipal N°1 de Coronel Oviedo.

### Etapa 1

Esta etapa consistió en el acondicionamiento de la materia prima, (que consistía en cáscara y restos de fibra y pulpa de frutas, en mayor proporción bananas y naranjas) que fue recolectada y lavada para remover la tierra y cuerpos extraños adheridos a ella. Se pesaron en total 6 kilogramos de frutas, se redujo el tamaño y se desinfectaron los residuos con una solución de hipoclorito de sodio al 0,076% v/v, antes de iniciar la operación de secado que duró 24 horas y se realizó a 70 °C, temperatura promedio según varios autores (Alejandro Santillan & Camposano Rodríguez, 2021; Cajo & Vásquez, 2017; Camelo Alba, 2007)

Para estandarizar el tamaño de partícula de la materia prima se utilizó un tamiz con malla de 1mm y del resultado de estas operaciones se realizaron análisis fisicoquímicos de los principales componentes del material (humedad, cenizas, contenido de lignina, celulosa, hemicelulosa y proteína) en el laboratorio de Cetapar de la Fundación Nikkei, mientras que la parte restante fue resguardada en bolsas herméticas para las próximas etapas de la experimentación. En la figura 1 se observan las operaciones de esta etapa.



**Figura 1.** Flujo de procesos de la etapa 1

Fuente: Elaboración propia

### **Etapa 2**

Esta etapa resultó crucial puesto que en ésta entran en acción las variables de estudio. Se preparó una solución al 10% p/v, utilizando como soluto el material proveniente de la etapa 1 y como solvente, agua. Las mismas fueron dispuestas en frascos de ámbar con tapa, para su pretratamiento térmico en autoclave en 2 temperaturas distintas, 110°C como nivel bajo del factor y 120°C como nivel alto. Siguiendo el arreglo experimental, se separaron las soluciones que debían ser hidrolizadas, se controló el pH del mismo (que debía estar en el rango de 5-5,5) y se agregaron 0,03 gramos de celulasa, (material biológico proveído por JCM IMPORT EXPORT S.A) se homogeneizó con agitador magnético por 2 minutos y se dejaron en reposo las soluciones en estufa a 50°C, condiciones óptimas de operación según el proveedor. Se tuvo como variable de control en esta etapa al tiempo, ya que éste fue constante para ambas operaciones, 15 minutos para el pretratamiento y 2 horas para la hidrólisis. Transcurrido el tiempo, se desactivaron las enzimas sometiéndolas a baño maría durante 30 minutos a 85°C. Se enfriaron las soluciones hasta los 15°C para realizar la lectura con el refractómetro de ABBÉ. En la figura 2 se observa el esquema de esta etapa.



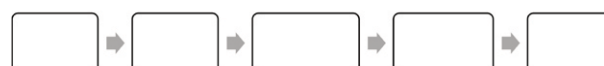
**Figura 2 Flujo de proceso de la etapa 2**

Fuente: Elaboración propia

### **Etapa 3**

El tratamiento 4 correspondiente a los niveles altos de los factores estudiados (120°C en el pretratamiento con hidrólisis) es el que arrojó mayor respuesta en relación a los demás, con un promedio de 5,5°Brix. Se utilizaron sus 3 repeticiones para fermentar el hidrolizado y constatar que parte de esos sólidos solubles medidos con el refractómetro son azúcares digeribles en la fermentación.

Primeramente se desinfectaron los materiales a utilizar en esta etapa con alcohol al 70% para garantizar que no se formen colonias de microorganismos que interfirieran en el proceso, por su parte, el pretratamiento en autoclave de la solución sirvió de esterilizador para ésta. Se controló que el pH estuviera en el rango de 3,5 – 6 antes de agregar la levadura *Sacharomyces cerevisae* activada, para fermentar las soluciones en la estufa incubadora a 29°C durante 5 días. Tanto el rango de pH, la dosis y la temperatura del proceso correspondían a las condiciones de operación óptima del microorganismo según indicaciones de la industria PARALEVA, que fue la proveedora de la misma. En la figura 3 se observa el flujograma de esta etapa.



**Figura 3. Flujo de procesos de la etapa 3**

Fuentes: Elaboración propia

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cuadro 2 se ilustra los resultados del trabajo, ordenados según el diseño experimental.

	Temperatura de Pretratamiento*	Hidrólisis Enzimática**	°Brix
Tratamiento 1	110°C	Sin	4,5
	110°C	Sin	4,8
	110°C	Sin	4,85
Tratamiento 2	120°C	Sin	5,1
	120°C	Sin	4,8
	120°C	Sin	4,8
Tratamiento 3	110 °C	Con	5,2
	110 °C	Con	5,4
	110 °C	Con	5,45
Tratamiento 4	120°C	Con	5,5
	120°C	Con	5,5
	120°C	Con	5,5

**Cuadro 2. Concentración de azúcares medidas en °Brix**

(\*) El valor  $-p$  obtenido es mayor que la significancia prefijada de 0,05 por lo que este factor no es estadísticamente significativo.

(\*\*) El valor  $-p$  obtenido es menor que la significancia prefijada de 0,05 por lo que este factor es estadísticamente significativo.

Fuentes: Elaboración propia

Entre los factores de estudio y la interacción entre ellos, el único que resultó estadísticamente significativo es el factor B correspondiente a la hidrólisis enzimática, se estima una causa para que el factor A no resulte estadísticamente significativo podría radicar en la metodología aplicada para la cuantificación de azúcares, la misma se realizó por °Brix (una propiedad física que mide la refracción de la luz), cuya tendencia no varía en grandes proporciones por el cambio de temperatura, pero sí por la relación sustrato-solvente y el agregado de otros reactivos. Es por eso que, para la valoración de la temperatura en la liberación de azúcares reductores es fundamental realizar las determinaciones químicas pertinentes.

El resultado estadísticamente significativo del factor B resultado fue esperado ya que, según varios autores, los desechos orgánicos son materiales cuya composición en su mayor parte la constituyen tejidos lignocelulósicos, y para producir compuestos de alto valor agregado a partir de ellos, necesitan someterse previamente a tratamientos de hidrólisis, de esa forma se degradan dichas paredes a glucosa, fructosa, manosa, xilosa, entre otros compuestos susceptibles de fermentación (Mejía Giraldo et al., 2007).

Además, éste se puede justificar por la especificidad de las enzimas, que en la hidrólisis desdoblan a la celulosa en unidades de D-glucosa, monómeros de azúcares susceptibles a fermentación (Alejandro Santillan & Camposano Rodríguez, 2021; Jiménez Ávila, 2015).

Como se mencionó anteriormente, se seleccionaron las repeticiones del tratamiento 4 para realizar la comparación de la concentración de azúcares antes y después de la fermentación. Con el cuadro 3 se comprueba que alrededor del 40% de los sólidos solubles medidos en °Brix con el refractómetro en la solución pretratada e hidrolizada, son azúcares susceptibles a ser digeridas por la le-

vadura en la fermentación, dato que resulta interesante en esta investigación.-

°Brix			
Tratamiento 4		Antes de la Fermentación	Después de la fermentación
	R 1	5,5	3,25
	R 2	5,5	3,10
	R 3	5,5	3,5

### Cuadro 3. Comparación de concentración de azúcares antes y después de la fermentación

Fuentes: Elaboración propia

Además se realizó una comparación entre los resultados obtenidos en este trabajo y los de otros investigadores. Ver cuadro 4.

Autor	Materia Prima	Técnica	Resultado
Chiluisa (2015)	Plátano maduro	Alfa-amilasas, amiloglucosidasa	74°Brix
Dehecho (2018)	Cáscara de piña	Celulasas al 1,5% p/v por 30 h	20,3 °Brix y 14,5 % de AR
Reddy et al. (2011)	Cáscara de mango	Pectinasa al 1% v/v durante 5 horas	40 °Brix y 20 % de AR

### Cuadro 4. Cuadro comparativo con otras investigaciones

Fuentes: Elaboración propia

Los valores obtenidos en esta investigación fueron muchos menores que la resultante de las otras investigaciones, estimándose que la liberación de azúcares, cuantificados por ° Brix, fue limitada por el bajo contenido de hemicelulosa (4%) y la mayor proporción de lignina en la muestra (15,25 %), ya que esto es causante de inhibición en la hidrólisis enzimática (Raud et al., 2015).

Sin embargo, el contenido de proteína (7,83 % en base seca) y minerales (8,44 % en base seca) lo hace un material con características favorables para ser utilizado en fermentaciones microbianas. Además, es un sustrato potencial para la extracción de metabolitos fermentables para obtener etanol u otro tipo de productos por vía fermentativa, ya que posee aproximadamente 18% de celulosa en base seca.

En base a los resultados y con la metodología aplicada en esta investigación, la temperatura en el pretratamiento térmico no resulta estadísticamente significativa entre los tratamientos, es por ello que se selecciona como mejor, el nivel bajo del factor de estudio, 110°C, ya que es el que demanda menor consumo de energía.

En cambio, se pudo comprobar que la aplicación de hidrólisis enzimática si influye en la concentración de azúcares. La relación entre la eficiencia de la hidrólisis es directamente proporcional al contenido final de azúcares. Además, el proceso de sacarificación por este método presenta ventajas tecnológicas y de operación en cuanto a que la temperatura (50°C) y el pH (5,5) de la actividad de la enzima no implican dificultades técnicas y costos de operación muy elevados.

La concentración de la solución acuosa disminuyó conforme avanzó la fermentación, tal efecto verifica que los azúcares desdoblados son metabolitos fermentables.

Por lo tanto, a partir del resto de frutas es posible obtener azúcares fermentables mediante un acondicionamiento de la materia prima y posterior proceso de hidrólisis enzimática. Se debe tener en cuenta que los residuos son materiales de bajo costo y de gran disponibilidad, por tal efecto debería seguir siendo estudiado como sustrato en la producción de bioetanol, variando otros factores en investigaciones futuras.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece la colaboración y apoyo de los docentes de la Unidad Académica de CyT que estuvieron acompañando esta investigación.

## REFERENCIAS

Alejandro Santillan, J. L., & Camposano Rodríguez, Y. (2021). Efecto del pH , temperatura y celulasa en la obtención de glucosa por hidrólisis enzimática de residuos orgánicos. Universidad Nacional del Centro de Perú.

Cajo & Vásquez. (2017). Obtención de azúcares fermentables por hidrólisis enzimática a partir de los residuos de mango (*Mangífera Indica L.*) (Vol. 0, Issue 13).

Camelo Alba, A. (2007). Estudio preliminar de la hidrólisis enzimática con pretratamiento ácido de residuos orgánicos municipales para la obtención de azúcares fermentables [Universidad de los Andes]. <https://repositorio.uniandes.edu.co/handle/1992/9756>

Jiménez Ávila, M. L. (2015). Obtención de bioetanol de segunda generación a partir del pericarpio de maracuyá (*Passiflora edulis f. flavicarpa*). Universidad de Cuenca.

Mejía Giraldo, L. F., Martínez Correa, H. A., Betancourt Gutiérrez, J. E., & Castrillón Castaño, C. E. (2007). Aprovechamiento del residuo agroindustrial del mango común (*Mangifera indica L.*) en la obtención de azúcares fermentables. *Ingeniería y Ciencia - Ing.Cienc.*, 3(6), 41–62. <http://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/ingenieria/article/view/440>

Raud, M., Tutt, M., Olt, J., & Kikas, T. (2015). Effect of lignin content of lignocellulosic material on hydrolysis efficiency. 13(2), 405–412.

Sánchez, A., Gutiérrez, A., Muñoz, J., & Rivera, C. (2010). Bioethanol production from agroindustrial lignocellulosic byproducts. *Tumbaga*, 5, 61–91. <http://revistas.ut.edu.co/index.php/tumbaga/article/view/194/163>