

Biorrefinería de los residuos del plátano para la obtención de bioetanol y bioplástico

PADILLA RAFAEL¹ AND RAMÍREZ CASTILLO MARÍA LETICIA¹

¹Laboratorio de Investigación y Posgrado, Universidad Politécnica de Puebla, 3er Carril del Ejido Serrano S/N, San Mateo Cuanalá, Juan C. Bonilla, Puebla, CP 72640, Correo: rafa_pad@hotmail.com

Compiled December 1, 2017

In this paper the use of banana waste as biomass for the production of products such as bioethanol and bioplastic was proposed. As a first step a proximal analysis of the raw material was performed, resulting in the banana has a content of about 65% carbohydrate. Obtaining bioplastic was successful, achieving obtain biofilms weighing 7 grams and 0.1 millimeters per 25 grams of shell used. Two batch fermentations were carried out, one with free cells and the other with cell immobilization, over a period of 24 hours with cerevisiae yeast Saccharomyces, having a concentration of 57 g/l of reducing sugars from the substrate. Fermentation kinetics were similar for both fermentations and maximum ethanol production values 9.21 to 8.55 and free and immobilized cells, respectively. © 2017 Universidad Politécnica de Puebla

OCIS codes: (140.3490) Lasers, distributed feedback; (060.2420) Fibers, polarization-maintaining; (060.3735) Fiber Bragg gratings.

<http://dx.doi.org/10.1364/ao.XX.XXXXXX>

1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la utilización de procesos biotecnológicos para la obtención de bienes y servicios se ha convertido en una gran alternativa que ofrece soluciones a problemas provenientes de la aplicación de tecnologías tradicionales.

Un bioproducto que se está desarrollando en gran medida es el bioplástico, que consiste en plástico que en su composición total proviene de materias primas de origen renovable y además es biodegradable. Actualmente, el 65% de los bioplásticos se utiliza en envases y productos de vida corta, aunque ha aumentado su empleo en medicina, agricultura, fabricación de juguetes, electrónicos, herramientas y autopartes [1].

Algunos alimentos con alta concentración de almidón como es el caso de la papa pueden ser utilizados para la obtención del bioplástico, pero al ser la papa un alimento que se consume casi sin generar residuos o muy poco de ellos, esto plantea un problema para su utilización como materia prima.

Por el contrario, en el caso del plátano, este fruto se desecha en un 20% de su peso total correspondiente a su cáscara, se cultiva en gran parte del país lo que facilita su utilización como materia prima y por su composición, la cáscara puede ser uti-

lizada para la fabricación de bioplástico ya que contiene 12.78% de almidón [2].

El plátano también es materia prima apta para la obtención de bioetanol. Presenta un alto contenido de carbohidratos (aproximadamente 20% de su peso) aptos para procesos fermentativos encaminados a la producción de alcohol [3].

El etanol tiene innumerables aplicaciones: bebidas fermentadas para consumo humano como vinos, aguardiente, vodka, ron, brandy, etc. En la industria se emplea en gran cantidad de procesos como: disolución de la nitrocelulosa, disolvente de colorantes en las industrias alimenticias y textil; disolvente de: resinas; jabón, aceites, ceras, etc.; y oxidación en la fabricación de ácido acético, vinagre, acetaldehído. Así también se puede mezclar con la gasolina, para mejorar sus propiedades, se recomienda una mezcla en proporción del 10 al 25%, ya que se logra un índice de octano entre 70 y 75, mayor que el de la gasolina sin mezclar [4].

En este trabajo se evaluó la capacidad de producción de etanol de los azúcares contenidos en la pulpa de plátano utilizando sistemas de cultivo lote y como microorganismo la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Se compararon resultados con un inóculo líquido y otro con inmovilización celular.

2. METODOLOGÍA

A. Caracterización del plátano

Se trabajó con la especie de plátano tabasco, se determinó la humedad de la cáscara y pulpa por secado y después la materia seca se trituró hasta lograr un tamaño de partícula de 0.1 mm. Posteriormente se realizaron los análisis de: humedad, cenizas, extracto etéreo, fibra cruda, azúcares reductores y totales, y proteína en base a las normas mexicanas (NMX).

A.1. Uso de la cáscara para obtención de bioplástico

Se pesó 75 g de cáscara de plátano y se hizo la inmersión de estas en una solución al 0.1% de bisulfito de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) para después llevar a ebullición durante 30 minutos. Se retiraron las cáscaras de la solución y se secaron con gasa. Posteriormente se trituraron hasta lograr un consistencia de pasta. Se tomaron tres muestras de pasta de cáscara de 25 g cada una y se mezclaron con 3 ml de HCl 0.1 M, 3 ml de N_AOH a 0.1 M y 2 ml de glicerol [5].

Se extendió la mezcla en cajas petri y se llevaron a un horno para secarse a una temperatura de 70 °C durante 12 horas hasta obtener una placa delgada de bioplástico.

Se repitió nueve veces el mismo ensayo variando en cada una la cantidad de cáscara utilizada y glicerol agregado a la mezcla, en la siguiente tabla se muestra detalladamente:

Se extendió la mezcla en cajas petri y se llevaron a un horno para secarse a una temperatura de 70°C durante 12 horas hasta obtener una placa delgada de bioplástico

Se repitió nueve veces el mismo ensayo variando en cada una la cantidad de cáscara utilizada y glicerol agregado a la mezcla, en la siguiente tabla se muestra detalladamente:

Table 1. Caracterización de la cáscara de plátano tabasco.

Cantidad de cáscara (g)	Volumen	de glicerol (ml)	
25	2	3	4
30	2	3	4
35	2	3	4

A.2. Extracción de azúcares de la pulpa de plátano

Se pesó 1 kg de pulpa y se llevó a ebullición 30 minutos con 1 L de agua para extraer sus azúcares. Después se separó el agua de la pulpa. Se trituró la pulpa y se hizo pasar el agua caliente resultante de la ebullición para seguir extrayendo los azúcares. La mezcla obtenida se centrifugó 10 minutos a 7000 rev/s para separar partículas sólidas [6].

Al mosto obtenido se le determinaron grados brix mediante un refractómetro y azúcares reductores usando el método DNS. Se realizó una hidrólisis ácida al mosto de banano con H₂SO₄ concentrado ajustando el pH hasta un valor de 2.5.

Posteriormente este hidrolizado se neutralizó con hidróxido de calcio subiendo el valor del pH a 6.5. Nuevamente se determinaron azúcares reductores para comprobar si la hidrólisis aumentaba el contenido de azúcares en el mosto de banano.

A.3. Medio de cultivo

Los medios de cultivo para los inóculos fueron preparados con sacarosa 2%, extracto de levadura 0.5%, (NH₄)₂SO₄ 0.1%, KH₂PO₄ 0.1%, MgSO₄ * 7H₂O 0.05% [7].

Para la producción de etanol se utilizó una cepa de levadura *Saccharomyces cerevisiae*, esta se propagó en 2 tubos de ensayo con 10 ml cada uno del medio de cultivo para después hacerse el escalamiento a matraz erlenmeyer con un volumen de 250 ml.

A.4. Inmovilización celular

Después de observar crecimiento de la cepa de *Sacharomyces cerevisiae* en el medio de cultivo, se procedió a realizar la inmovilización celular con alginato de sodio. Primero se prepararon dos soluciones, una de 100 ml de alginato de sodio a una concentración de 20 g/l y otra de 200 ml de cloruro de calcio a la misma concentración [8].

Se mezclan el inóculo y alginato de sodio con una relación 2:1. Se tomó con un jeringa la mezcla de alginato-inóculo y gota a gota se dejan caer en la solución de cloruro de calcio. Por último se recuperan las perlas, se lavan con agua estéril y se conservan para su posterior uso.

A.5. Fermentación

La concentración de azúcares reductores para el mosto de banano utilizado como sustrato fue de 57 g/l. Este medio fue complementado con fosfato (KH₂PO₄), nitrógeno ((NH₄)₂SO₄), ex-

tracto de levadura y MgSO₄.7H₂O como medio de fermentación óptimo para la levadura *Saccharomyces cerevisiae* [7].

La producción de etanol se llevó a cabo en reactores marca SEV con un volumen de operación de 1 L con el sustrato previamente hidrolizado y neutralizado.

Se utilizó una aireación de 1 VVM, y una agitación constante de 360 rpm [9]. Se realizaron dos fermentaciones con las mismas condiciones, una usando un inóculo con células libres de *Saccharomyces cerevisiae* y otra con las células inmovilizadas con el fin de comparar la producción de etanol en ambas.

Se tomaron muestras cada dos horas para determinar la concentración de etanol, biomasa, proteína y azúcares reductores en el medio de cultivo.

A.6. Métodos analíticos

La determinación de biomasa se realizó por el método de peso seco. La determinación de azúcares reductores en el mosto y medio de cultivo se determinaron utilizando el método de ácido 3,5- dinitrosalicílico (DNS), las absorbancias se midieron en un espectrofotómetro a 540 nm.

El contenido de etanol se determinó mediante cromatografía líquida de alta eficacia y la proteína extracelular mediante el método de Biuret usando seroalbúmina bovina.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Caracterización del plátano

Los resultados de la caracterización usando las normas mexicanas (NMX) se muestran en las siguientes tablas:

Table 2. Caracterización de la pulpa de plátano tabasco.

Componente	Valores (%)
Humedad	78.5
Cenizas	8.95
Extracto etéreo	3.30
Fibra Cruda	1.83
Proteína	0.6
Azúcares reductores	22.41
Carbohidratos totales	62.91

Table 3. Caracterización de la cáscara de plátano tabasco.

Componente	Valores (%)
Humedad	89.13
Cenizas	14.58
Extracto etéreo	0.33
Fibra Cruda	10.02
Proteína	0.53
Azúcares reductores	7.11
Carbohidratos totales	67.43

La determinación de cenizas totales, extracto etéreo, fibra cruda, proteína, azúcares reductores y carbohidratos totales se re-

alizaron en base seca después de la determinación de humedad, es por esta manera que excluyendo el valor porcentual de la humedad, el contenido de los demás componentes suman un cien por ciento.

Como se puede observar hay diferencias significativas entre la cáscara y la pulpa, mientras la pulpa presenta una gran cantidad de azúcares reductores y poca fibra, la cáscara es el caso contrario con menos azúcares y un mayor porcentaje de fibra cruda.

A.1. Obtención del bioplástico

La obtención del bioplástico fue exitosa en los nueve ensayos realizados. En la siguiente tabla se muestran los valores medidos a cada una de las películas:

Table 4. Peso y grosor de las diferentes películas.

Película	Cantidad de cáscara (g)	Volumen de glicerol (ml)	Peso (g)	Grosor (cm)
1	25	2	6.71	0.1
2	25	3	6.85	0.1
3	25	4	7.05	0.1
4	30	2	8.11	0.12
5	30	3	8.23	0.12
6	30	4	8.31	0.12
7	35	2	9.41	0.15
8	35	3	9.52	0.15
9	35	4	9.66	0.15

Como puede apreciarse en la tabla anterior el uso de una mayor cantidad de cáscara y glicerol para la fabricación del bioplástico modifica el grosor y peso de la película, en mayor medida este último.

El glicerol actuó como agente plastificante, ya que en los casos donde no se añadía este componente a la mezcla la película resultante era muy frágil.

Se observó que la calidad de la cáscara utilizada para fabricar el bioplástico influía en el acabo del material resultante, ya que se obtuvieron mejores resultados al utilizar cáscaras completamente amarillas sin pardeamiento enzimático que con las que tenían presente dicha pigmentación.

En las siguiente figuras se ilustra a detalle estas diferencias:

Con las pruebas hechas en laboratorio se demostró que las películas eran impermeables ya que no dejaron pasar agua a través de ellas, además que su vida útil justifica su uso para aplicaciones como el empaquetamiento debido a que no se degradan por sí solas rápidamente, esto gracias a que las cáscaras son tratadas previamente con bisulfito de sodio, que es una sal que sirve como conservador en alimentos.

A.2. Fermentación

Con el objeto de establecer las ventajas o desventajas de emplear células inmovilizadas para la producción de etanol se realizaron dos fermentaciones, una con células libres y otra con células inmovilizadas en alginato de sodio.

Ambas tuvieron un comportamiento similar en cuanto consumo de sustrato y aumento de la densidad óptica del medio.



Fig. 1. Bioplástico fabricado usando cáscaras amarillas y sin pardeamiento enzimático.



Fig. 2. Bioplástico fabricado usando cáscaras más madura con presencia de pigmentación debido al pardeamiento enzimático.

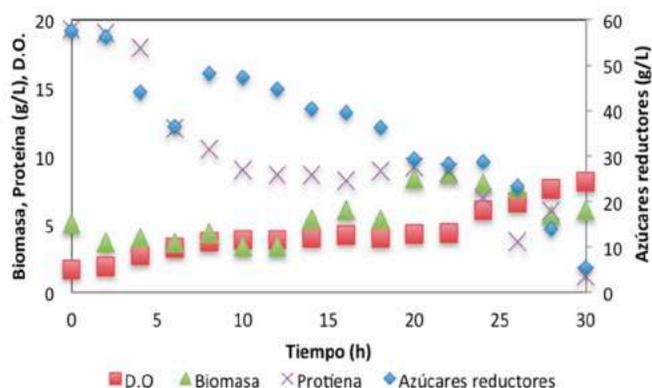


Fig. 3. Cinética de fermentación batch con células libres usando mosto de banana.

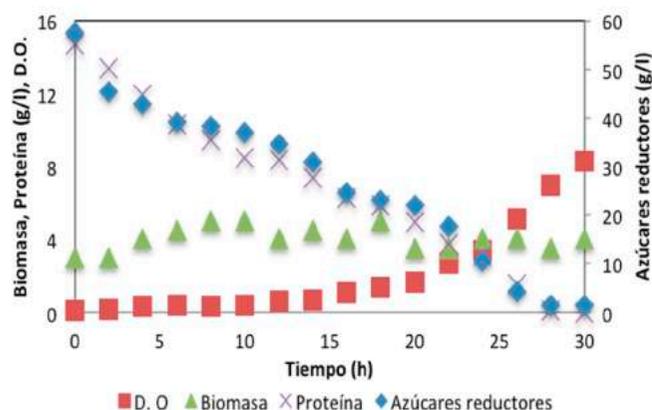


Fig. 4. Cinética de fermentación batch con células inmobilizadas usando mosto de banana.

Para la producción de biomasa, esta fue mayor para el caso en que se usó un inóculo tradicional con un valor máximo de 8.6 g/l, al contrario para el de células inmobilizadas que tuvo un valor de 5 g/l.

En ambas fermentaciones la producción de etanol fue similar, apenas mayor en el caso de las células inmobilizadas donde la máxima concentración de etanol fue de 9.21 g/l y para células libres de 8.55 g/l.

4. CONCLUSIONES

La cáscara de plátano tiene buen potencial que tiene para producir bioplástico ya que se aprovecha el almidón contenido en esta.

El estado de la cáscara al momento de utilizarse para la producción del bioplástico juega un papel clave en el acabado del material, ya que se tuvieron mejores resultados al usar cáscaras completamente amarillas. También se obtuvo un mejor bioplástico cuando el proceso de molienda de la cáscara fue mejor.

La pulpa de plátano posee un contenido de carbohidratos que representan más del 60% de esta ameritando el estudio de ésta como fuente de carbono.

El uso de inmovilización celular en *Saccharomyces cerevisiae* dio buenos resultados en la producción de etanol, llegando a ser

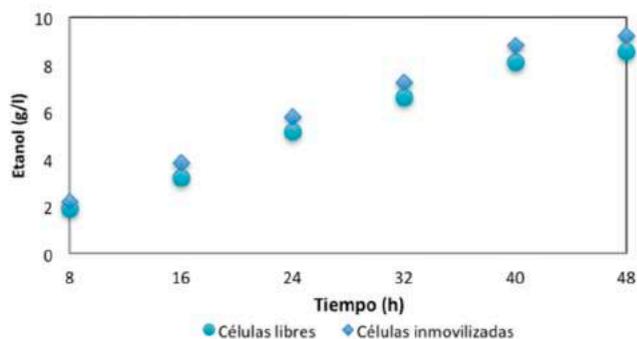


Fig. 5. Cinética de fermentación batch con células inmobilizadas usando mosto de banana.

mayor hasta en un 20% en comparación con los resultados de obtenidos con células libres

5. AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de Maestría en Ingeniería del Ing. Rafael Padilla Vargas.

A mi asesora la Dra. María Leticia Ramírez por su apoyo y disponibilidad de resolver mis dudas.

6. REFERENCIAS

REFERENCIAS

1. N. Peelman, P. Ragaert, B. De Meulenaer, D. Adons, R. Peeters, L. Cardon, F. Van Impe, and F. Devlieghere, *Trends in Food Science & Technology* **32**, 128 (2013).
2. E. Bilgin, "Going bananas-using banana peels in the production of bio-plastic as a replacement of the traditional petroleum based plastic," [urlhttps://www.googleusercontent.com/en/project](https://www.googleusercontent.com/en/project) (2014).
3. J. F. Monsalve Gil, V. I. Medina De Perez, A. A. Ruiz Colorado *et al.*, *Dyna*; Vol. 73, núm. 150 (2006); 21-27 DYNA; Vol. 73, núm. 150 (2006); 21-27 2346-2183 0012-7353 .
4. A. Romero, *Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fis. Nat.(Esp)* **104**, 331 (2010).
5. J. L. Giraldo, J. C. C. Cuarán, L. V. A. García, and L. M. F. Pardo, *Revista colombiana de investigaciones agroindustriales* **1**, 7 (2014).
6. A. M. Zapata, *Revista Tumbaga* **1** (2010).
7. A. Ruiz and A. Evelio, *Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín* (1997).
8. J. Bailey, *Biochemical engineering fundamentals*, vol. 2 (New York, United States: McGraw-Hill Book company, 1986).
9. J. Guerrero, "Uso de residuos orgánicos de frutas y verduras para la producción de etanol," Tesis de maestría en ingeniería en diseño de bioprocesos, Universidad Politécnica de Puebla, México (2014).