

**VALORIZACIÓN DEL VÁSTAGO DE PLÁTANO (*MUSA PARADISIACA L.*) EN LA
ELABORACIÓN DE POLIHIDROXIALCANOATOS POR FERMENTACIÓN CON
RALSTONIA EUTROPHA.**

**JOHAN SEBASTIAN PIÑEROS DIAZ
CÉSAR AUGUSTO SÁNCHEZ ACHURY**

Proyecto integral de grado para optar al título de:

INGENIERO QUÍMICO

Director

DANY CARDENAS ROMAY

ING. QUÍMICO

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA

FACULTAD DE INGENIERÍAS

PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA

BOGOTÁ

2023

NOTA DE ACEPTACIÓN

Dany Cárdenas
Director de Trabajo de grado

Felipe Correo
Jurado 1

Juan Sandoval
Jurado 2

Bogotá D.C, agosto de 2023

DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente y rector del claustro

Dr. MARIO POSADA GARCÍA – PEÑA

Consejero institucional

Dr. LUIS JAIME POSADA GARCÍA – PEÑA

Vicerrectoría académica y de investigación

Dra. ALEXANDRA MEJIA GUZMAN

Vicerrector administrativo y financiero

Dr. RICARDO ALFONSO PEÑARANDA CASTRO

Secretario general

Dr. JOSE LUIS MACIAS RODRIGUEZ

Decana de la facultad de Ingenierías

Ing. NALINY PATRICIA GUERRA PRIETO

Directora del Programa de Ingeniería Química

Ing. NUBIA LILIANA BECERRA OSPINA

Las directivas del claustro de la Fundación Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente; no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	12
INTRODUCCIÓN	15
1. MARCO TEÓRICO	17
1.1 Los polímeros: Efecto colateral en el mundo	17
1.2 La plastisfera y su interacción con microorganismos	20
1.3 Plastiglomerados: El problema ambiental asociado a la producción de polímeros	22
1.4 Islas de basura en los vórtices oceánicos	23
1.5 Microplásticos, mini – microplásticos y nanoplásticos	25
1.6 Biomagnificación por microplásticos, mini – microplásticos y nanoplásticos	28
1.7 La afectación de la basura polimérica en Colombia y sus costas	34
1.8 Impacto ambiental, social, económico y político de los biopolímeros	36
1.9 Biopolímeros: La naturaleza y función de las máquinas moleculares.	39
2. ARGUMENTO DEL PROYECTO	43
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	46
4. OBJETIVOS	50
4.1 Objetivo general	50
4.2 Objetivos específicos	50
5. METODOLOGÍA	51
5.1 Evaluación del contenido de lignina inicial del vástago de plátano	52
5.2 Pretratamiento al vástago de plátano	55
5.3 Uso investigativo e industrial de la lignina removida del vástago de plátano	67

5.4	Evaluación del contenido de lignina después del pretratamiento alcalino	68
5.5	Tratamiento hidrolítico al vástago de plátano	70
5.6	Cuantificación de azúcares reductores del sustrato a través del método DNS73	
6.	RESULTADOS	78
6.1	Estudio granulométrico	78
6.2	Justificación de los resultados del estudio granulométrico	88
6.3	Diseño experimental del pretratamiento alcalino	90
6.4	Justificación de los resultados del diseño experimental	101
6.5	Caracterización química del vástago de plátano	102
6.6	Justificación de los resultados de la caracterización química del vástago de plátano	106
6.7	Cuantificación de los azúcares de la biomasa sin hidrolizar	107
6.8	Cuantificación de los azúcares de la biomasa hidrolizada	116
6.9	Justificación de los resultados de los azúcares	126
7.	RENDIMIENTOS DEL PROCESO DE DESLIGNIFICACIÓN E HIDRÓLISIS ÁCIDA	128
7.1	Rendimiento de la deslignificación	128
7.2	Justificación del resultado de rendimiento de la deslignificación	128
7.3	Rendimiento de la hidrólisis ácida	129
7.4	Justificación de los resultados del rendimiento de la hidrólisis ácida	130
8.	COMPARACIÓN Y ELECCIÓN DE LA CEPA <i>RALSTONIA EUTROPHA</i> Y OTROS MICROORGANISMOS	132
8.1	Matriz de microorganismos comparados	132
8.2	Métodos para la extracción de biopolímeros	133
8.3	Adecuación del medio celular, rendimientos de la biomasa y del producto	134

8.4 Justificación de los rendimientos del bioproceso	137
9. POTENCIAL ECONÓMICO Y VALORIZACIÓN	139
10. CONCLUSIONES	141
BIBLIOGRAFÍA	142
ANEXOS	155

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 <i>Contaminación polimérica en la fauna marina y en los suelos terrestres</i>	18
Figura 2 <i>Desplazamiento y recorrido de la basura polimérica en los océanos</i>	19
Figura 3 <i>Presencia de estafilococos en residuos poliméricos</i>	21
Figura 4 <i>Biofilms bacterianos: Interacción sobre las superficies colonizadas</i>	22
Figura 5 <i>Formación de rocas sintéticas de polímeros (plastiglomerados)</i>	23
Figura 6 <i>Los cinco vórtices considerados islas basura</i>	25
Figura 7 <i>Microplásticos, mini – microplásticos y nanoplásticos</i>	26
Figura 8 <i>Gráfica de estudios que soportan la ingesta de microplásticos, mini – microplásticos y nanoplásticos en animales</i>	29
Figura 9 <i>Foca gris enredada en una red de pesca verde</i>	30
Figura 10 <i>Ingesta de polímeros residuales por parte de un pelícano rosado y focas</i>	32
Figura 11 <i>Asfixia y muerte por plásticos y microplásticos</i>	33
Figura 12 <i>Toxicidad y eventual daño en los tejidos</i>	34
Figura 13 <i>Clasificación de los biopolímeros</i>	37
Figura 14 <i>PDET en cifras</i>	48
Figura 15 <i>Indicadores bibliométricos</i>	52
Figura 16 <i>Muestra de lignina en la balanza (antes del pretratamiento con NaOH)</i>	54
Figura 17 <i>Trozos de vástago de plátano (Musa Paradisiaca L.)</i>	56
Figura 18 <i>Partes de la planta de plátano (Musa Paradisiaca L.)</i>	57
Figura 19 <i>Fragmentación por corte del vástago de plátano (Musa Paradisiaca L.)</i>	58
Figura 20 <i>Material de biomasa en el horno</i>	59
Figura 21 <i>Biomasa del vástago pulverizado</i>	60
Figura 22 <i>Preparación de las soluciones alcalinas junto con la biomasa retenida de la malla 70</i>	64
Figura 23 <i>Calentamiento de las seis soluciones en plancha Soxhlet</i>	65
Figura 24 <i>Soluciones de reacción en la mesa agitadora orbital</i>	66
Figura 25 <i>Filtración de las muestras</i>	66
Figura 26 <i>Muestra de lignina en la balanza luego del pretratamiento con NaOH</i>	69

Figura 27 <i>Preparación de los 50 mL de H₂SO₄ con las concentraciones 0,1N, 0,5N y 1N</i>	71
Figura 28 <i>Incubadora Unimax 1010 con las muestras utilizadas en la hidrólisis ácida</i>	72
Figura 29 <i>Obtención de compuestos hidrolíticos</i>	73
Figura 30 <i>Preparación del reactivo DNS para la cuantificación de azúcares reductores</i>	75
Figura 31 <i>Preparación de la solución patrón de glucosa y las concentraciones de 1 g/L, 3 g/L, 5 g/L y 8 g/L</i>	76
Figura 32 <i>Baño termostático de las muestras en los tubos de tapa rosca</i>	77
Figura 33 <i>Coeficiente de uniformidad y tamaño efectivo</i>	84
Figura 34 <i>Análisis diferencial</i>	87
Figura 35 <i>Análisis acumulativo</i>	88
Figura 36 <i>Diseño geométrico “arreglo factorial”</i>	91
Figura 37 <i>Diagrama de Pareto</i>	98
Figura 38 <i>Efectos del factor A y B</i>	99
Figura 39 <i>Interacción de las réplicas de pH</i>	100
Figura 40 <i>Residuos de la distribución de las frecuencias</i>	101
Figura 41 <i>Curva patrón de glucosa (ensayo sin hidrolizar)</i>	110
Figura 42 <i>Curva patrón de glucosa diluida ¼ (ensayo sin hidrolizar)</i>	111
Figura 43 <i>Curva de distribución lineal (ensayo sin hidrolizar)</i>	115
Figura 44 <i>Curva patrón de glucosa (ensayo hidrolizado)</i>	120
Figura 45 <i>Curva patrón de glucosa diluida ¼ (ensayo hidrolizado)</i>	121
Figura 46 <i>Curva de distribución lineal (ensayo hidrolizado)</i>	125

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 <i>Mallas estandarizadas</i>	61
Tabla 2 <i>Cifras del vástago de plátano, del tratamiento con NaOH y H₂SO₄</i>	72
Tabla 3 <i>Cifras de la materia prima en cada una de las fases del proceso</i>	78
Tabla 4 <i>Resultados del tamizado de la materia prima</i>	81
Tabla 5 <i>Cifras de los flujos máxicos estáticos acumulados y retenidos</i>	83
Tabla 6 <i>Cifras del análisis diferencial y acumulativo</i>	86
Tabla 7 <i>Factores A y B como variables manipulables</i>	92
Tabla 8 <i>pH de los ensayos realizados en la etapa de pretratamiento con NaOH</i>	93
Tabla 9 <i>pH de los ensayos filtrados</i>	94
Tabla 10 <i>Resumen del diseño factorial</i>	96
Tabla 11 <i>Análisis de la varianza</i>	96
Tabla 12 <i>Resultados del porcentaje de humedad</i>	103
Tabla 13 <i>Resultados del material volátil</i>	104
Tabla 14 <i>Resultados de la cuantificación de cenizas</i>	105
Tabla 15 <i>Resultados del carbono fijo</i>	106
Tabla 16 <i>Cifras para la elaboración de la curva patrón de glucosa (ensayo sin hidrolizar)</i>	109
Tabla 17 <i>Absorbancia de las concentraciones de glucosa (ensayo sin hidrolizar)</i>	110
Tabla 18 <i>Absorbancia diluida al ¼ de las concentraciones de glucosa (ensayo sin hidrolizar)</i>	111
Tabla 19 <i>Absorbancia de las concentraciones de azúcares de la biomasa (ensayo sin hidrolizar)</i>	112
Tabla 20 <i>Absorbancia diluida al ¼ de las concentraciones de azúcares de la biomasa (ensayo sin hidrolizar)</i>	112
Tabla 21 <i>Concentraciones obtenidas de la regresión lineal (ensayo sin hidrolizar)</i>	114
Tabla 22 <i>Absorbancia diluida al ¼ con las concentraciones de glucosa y azúcar de la biomasa (ensayo sin hidrolizar)</i>	115
Tabla 23 <i>Concentraciones finales del ensayo sin hidrolizar</i>	116

Tabla 24 <i>Cantidades para preparar la hidrólisis ácida</i>	116
Tabla 25 <i>Absorbancia de las concentraciones de glucosa (ensayo hidrolizado)</i>	119
Tabla 26 <i>Absorbancia diluida al $\frac{1}{4}$ de las concentraciones de glucosa (ensayo hidrolizado)</i>	121
Tabla 27 <i>Absorbancia de las concentraciones de azúcares de la biomasa (ensayo hidrolizado)</i>	122
Tabla 28 <i>Absorbancia diluida al $\frac{1}{4}$ de las concentraciones de azúcares de la biomasa (ensayo hidrolizado)</i>	122
Tabla 29 <i>Concentraciones obtenidas de la regresión lineal (ensayo hidrolizado)</i>	123
Tabla 30 <i>Absorbancia diluida al $\frac{1}{4}$ con las concentraciones de glucosa y azúcar de la biomasa (ensayo hidrolizado)</i>	124
Tabla 31 <i>Concentraciones finales del ensayo hidrolizado</i>	125
Tabla 32 <i>Cantidad de azúcares extraídos de la biomasa y sus rendimientos</i>	130
Tabla 33 <i>Matriz de los microorganismos analizados</i>	132
Tabla 34 <i>Composición para la adecuación del medio de cultivo bacteriano</i>	134
Tabla 35 <i>Esquema de diferentes medios de cultivo bacteriano</i>	135
Tabla 36 <i>Costo estimado de los reactivos para la valorización del proceso sin escalar</i>	140

RESUMEN

La información exhibida en el presente documento tuvo como principal objetivo el análisis químico del vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*) y su valorización como biomasa esencial para aplicaciones de bioprospección al cuantificar los azúcares presentes que puedan ser útiles para el proceso de inoculación de microorganismos productores de poliésteres tipo polihidroxicanoatos (PHA) a escala industrial. La elección del microorganismo se efectuó a través de un análisis bibliográfico de las condiciones de temperatura, rendimiento, producción en seco de polihidroxicanoatos, las necesidades nutricionales de las cepas bacterianas, el nivel de pH y la tolerancia a compuestos que puedan ser tóxicos generados en los tratamientos de la biomasa, así como su posible metabolización en las bacterias. La información se representó en una matriz de selección compuesta de tres cepas bacterianas (*Ralstonia Eutropha*, *Pseudomonas Oleovorans* y *Paracoccus Denitrificans*).

Se realizó un pretratamiento fisicoquímico al vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*) con hidróxido de sodio (NaOH) y luego se sometió a vibración en una mesa agitadora orbital a partir de la metodología propuesta por Saratale, G. D., et al.; en el estudio “Development of ultrasound aided chemical pretreatment methods to enrich saccharification of wheat waste biomass for polyhydroxybutyrate production and its characterization” [1]. La finalidad del pretratamiento consistió en eliminar la lignina que protege a la celulosa y hemicelulosa para el proceso hidrolítico y garantizar la deslignificación de la biomasa e incrementar los rendimientos en azúcares reductores. Los resultados en los vasos de precipitado mostraron un rango de neutralidad necesario para crecimiento bacteriano de pH 6,49, 7,09 y 7,19 para las concentraciones del diámetro de partícula equivalente $\pm 0,4$ mm (0,5 % p/v, 2% p/v y 3 % p/v). De igual modo, se calculó el rendimiento de deslignificación del vástago de plátano; el cual, fue aceptable al puntuar en 80,01 % respecto a la lignina removida en el pretratamiento alcalino.

Posterior al pretratamiento fisicoquímico, se parametrizó cuantitativamente con el método DNS la cantidad de azúcar presente en la biomasa lignocelulósica de vástago de plátano sin hidrólisis ácida. Los datos obtenidos fueron concentraciones reales de azúcares para tres ensayos comprendidos en 6,64 g/L, 18,36 g/L y 29,24 g/L. Esta

cuantificación se realizó con el fin de tener la cantidad de azúcares totales presentes en el vástago de plátano antes de la hidrólisis.

Luego, se empleó un tratamiento con H_2SO_4 (hidrólisis ácida) a la biomasa para obtener un hidrolizado compuesto de azúcares fermentables, es decir, extraer los azúcares reductores debido al rompimiento de los enlaces (polisacáridos) que constituyen la hemicelulosa; y así, generar su conversión en azúcares de menor complejidad (monosacáridos) representando los nutrientes necesarios de un medio positivo para la supervivencia celular de los microorganismos productores de PHA, como se informa en las metodologías de los autores Brar, K. K., et al.; en el documento “Enhanced hydrolysis of hydrothermally and autohydrolytically treated sugarcane bagasse and understanding the structural changes leading to improved saccharification” [2] y el documento “Recent advances in polyhydroxyalkanoate production: Feedstocks, strains and process developments” [3] de los autores Li, M., Wilkins, M. Se dispuso de H_2SO_4 al 98 % y 36 N en cantidades de 0,69 mL, 3,47 mL y 6,94 mL especificados con concentraciones de 0,1 N, 0,5 N y 1 N, respectivamente. La cuantificación de la concentración de azúcares reductores presentes en las muestras pre tratadas con NaOH e hidrolizadas con H_2SO_4 se fundamentó en la metodología del autor Miller, G., “Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar” [4] en la cual se dispuso del ácido 3,5 – dinitrosalicílico para determinar la concentración de monosacáridos. En esta fase se implementó con éxito el proceso debido a que se alcanzó liberar concentraciones reales de azúcares en la hidrólisis equivalente a 11,324 g/L, 17,116 g/L y 24,32 g/L. Luego, se efectuó los cálculos correspondientes al rendimiento de la hidrólisis y se obtuvo tres puntuaciones de rendimientos de 170,54 %, 93,22 % y 83,17 % para las tres muestras; considerándose el rendimiento de 170,54 % fe de erratas debido a factores que intervienen negativamente en tal ensayo. Por otro lado, se constató que el azúcar presente en el vástago de plátano (*Musa Paradisica L.*) se encuentra en altas cantidades y su utilidad como sustrato para microorganismos productores de PHA es considerable. En síntesis, antes y después de haber culminado el tratamiento con H_2SO_4 , se le aplicó a la biomasa la cuantificación de azúcares con el método DNS y obtener la cantidad de azúcares que contiene sin liberarlos y liberados después de la hidrólisis; con esos valores se realizó el rendimiento de la hidrólisis ácida.

Por otro lado, se efectuó experimentalmente la caracterización composicional química de la biomasa al desarrollarse un análisis estimado referente al estudio químico proximal (porcentaje de humedad, material volátil, cuantificación de cenizas y carbono fijo) que arrojó cifras para la biomasa de las mallas 30, 70 y 100. El porcentaje de humedad (17,39 %) y material volátil (53,70 %) de la malla 30, fue la biomasa que menor humedad tuvo debido a su pequeño diámetro de partícula lo que se traduce en una mayor deshumidificación y menor hidrofobicidad al ser menor el material volátil. Respecto a los resultados de la cuantificación de cenizas y carbono fijo, la biomasa de la malla 100 presentó 11,14 gramos y 7,5 % respectivamente. Lo anterior permite afirmar que menor cantidad de cenizas garantiza que la biomasa será convertida eficientemente en combustible y, el carbono fijo referencia una desvolatilización de la biomasa superior a las obtenidas en las mallas 30 y 70.

Por último, se describió teóricamente las fases biológicas de pre inoculación, inoculación y producción final del metabolito intracelular del microorganismo seleccionado (*Ralstonia Eutropha*) dictaminando si los resultados de la valorización del vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) son útiles con los requerimientos necesarios para el crecimiento y desarrollo de los microorganismos elegidos. Por otro lado, se comparó los métodos de extracción biopolimérica más sobresalientes teniendo en cuenta su impacto ambiental, extractivo y económico para su disposición al obtenerse que la ruta más razonable es aplicar métodos extractivos con surfactante debido a que cumple con los aspectos más importantes descritos en literatura tales como pureza del 98%, eficiencia equivalente al 89% y considerado como un método extractivo con bajas tasas de contaminación como bajo costo y menor consumo energético a diferencia de las extracción con solventes.

PALABRAS CLAVE: Polihidroxialcanoatos, PHA, *Musa paradisiaca L.*, vástago de plátano, hidrólisis acida, *Ralstonia Eutropha*, *Pseudomonas Oleovorans*, *Paracoccus Denitrificans*, polisacáridos, monosacáridos, NaOH, H₂SO₄, azúcares reductores.

INTRODUCCIÓN

Los plásticos existentes en la fabricación y amplia disposición en los mercados, evidencia la necesidad de los materiales poliméricos en la economía global. Su alto uso industrial se refleja en todos los segmentos comerciales que componen la interacción cotidiana de las sociedades a través de la elaboración de una amplia gama de productos, fibras, empaques, artículos, objetos, entre otros elementos de manufactura de consumo. Debido a la gran variedad de plásticos existentes, es erróneo generalizar sobre las propiedades que los caracterizan. De manera que, no todos los plásticos son materiales con la capacidad de deformarse sin llegar a romperse, así como la tendencia de ser maleables y moldearse de diversas formas.

Por otro lado, el mayor inconveniente que representan los plásticos es la dificultad para su eliminación o reciclado, debido a la creación de productos destinados a un único uso; así como aquellos artículos que contienen capas de diferentes tipos de plásticos y su separación es una labor casi imposible. “Los estimativos varían considerablemente, pero se deduce que entre 86 y 150 millones de toneladas métricas de plástico se han acumulado en los océanos desde 2015 hasta 2022, con una tendencia constantemente creciente” [5]. De modo similar, la productividad de innovación e investigación para elaborar materiales poliméricos con cualidades mejoradas exhibe la trascendencia en el metabolismo socioeconómico. “Desde 2004 a 2017, se han producido más de 8300 millones de toneladas métricas de plásticos vírgenes. Entre 1950 y 2015 se generaron más de 6300 millones de toneladas de residuos plásticos primarios y secundarios; alrededor del 9 % se ha reciclado, el 12 % se ha incinerado y el 79 % se ha acumulado en vertederos o en el medio natural” [6].

Los desafíos y necesidades que actualmente afronta el mundo respecto al uso y manejo final de los plásticos derivados del sector petroquímico inducen a desarrollar nuevas tecnologías tanto en el proceso de producción como en la cadena de comercialización y disposición final de los residuos o de los elementos de manufactura que emplean polímeros. “El plástico representa alrededor del 10 % en masa de los desechos municipales y hasta el 85 % de los desechos marinos, la mayoría de los cuales provienen de fuentes terrestres. Geográficamente, los cinco mayores contaminantes plásticos son

P. R. China, Indonesia, Filipinas, Vietnam y Sri Lanka, aportando el 56% de los residuos plásticos mundiales” [7]. Asimismo, el impacto de los plásticos en el detrimento de los servicios ecosistémicos como en la salubridad de las personas y animales se refleja en los estudios o avances de la ciencia que advierte de complicaciones respiratorias y carcinógenas por trazas de polímeros en cosméticos, alimentos, fármacos, fibras textiles e incluso partículas que se dispersan por el aire ya sea por ciclo degradabilidad o fenómeno fisicoquímico de los mismos artículos, objetos, materiales o materias primas que contengan plástico. “El plástico contiene químicos dañinos que causan alteraciones endocrinas, interfiriendo en las hormonas y desencadenando problemas a nivel reproductivo como genómico y gastrointestinal” [5]. “Los artículos de plástico primarios más grandes pueden sufrir una fragmentación progresiva para producir una mayor cantidad de partículas plásticas secundarias cada vez más pequeñas, aumentando el área de superficie del material plástico y su capacidad para absorber o concentrar contaminantes orgánicos persistentes como diclorodifeniltricloroetano (DDT) y bifenilos policlorados, siendo consumidos por animales y seres humanos” [7].

Por lo tanto, el presente proyecto es un estudio teórico asociado a la producción de biopolímeros biodegradables denominados polihidroxialcanoatos por medio de un agente microbiano elegido para su uso. Adyacente al estudio teórico, se realizó un componente experimental de valorización de azúcares y análisis proximal de los residuos del vástago de plátano (*Musa paradisiaca* L.).

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Los polímeros: Efecto colateral en el mundo

La sociedad se encuentra ante grandes desafíos respecto al tratamiento adecuado de los residuos y desechos post consumo. El constante crecimiento poblacional exige una alta producción en masa para cubrir las necesidades del mercado y de las culturas que habitan el planeta tierra. En ocasiones, la disposición final de residuos se encuentra al borde del colapso; los rellenos sanitarios exceden su capacidad total, baja tasa de reciclaje y la falta de conciencia como de campañas de reciclaje sentencia en su ubicación final a que los residuos terminen en ríos, campos, humedales, reservas forestales, entre otros.

«Según la Comisión Europea del Instituto de Prospectiva Tecnológica, las industrias encargadas del rubro de polímeros producen un amplio espectro de artículos de alto valor añadido hasta materias primas que son fabricados en lotes como en procesos continuos con instalaciones que abarcan grandes terrenos para alcanzar capacidades de producción exorbitantes. Los puntos ambientales clave del sector de los polímeros son las emisiones de compuestos orgánicos volátiles (COV), en algunos casos también las aguas residuales con posibles cargas elevadas de compuestos orgánicos, las cantidades relativamente grandes de disolventes usados y de residuos no reciclables, así como el consumo energético dada la diversidad del sector y la amplia gama de polímeros fabricados» [8].

“El plástico se ha convertido en la forma más común de desechos marinos desde que ingresó al campo de los consumidores hace menos de 60 años, y presenta un importante y creciente problema de contaminación global” [9]. Una fracción cada vez mayor de basura plástica posconsumo se fuga inevitablemente de los flujos de reciclaje y desechos a tratar, los cuales, terminan en los océanos globales como se ilustra en la figura 1.

Figura 1

Contaminación polimérica en la fauna marina y en los suelos terrestres



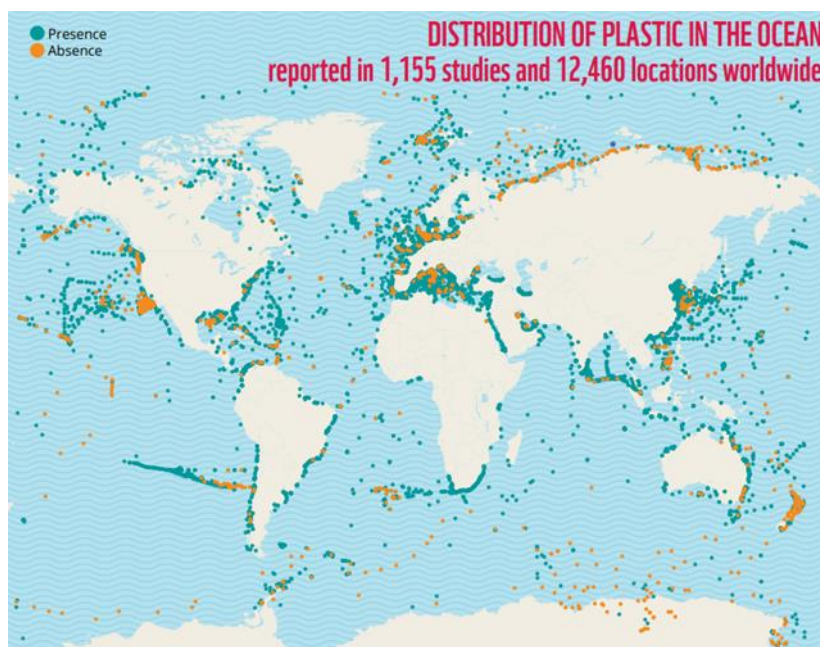
Nota. La figura representa la contaminación en los océanos por plásticos y basuras poliméricas como el contacto directo que genera con la fauna marina. Tomada de: National Geographic, “*La gran mancha de basura del pacífico*”. Disponible en: <https://education.nationalgeographic.org/resource/la-gran-mancha-de-basura-del-pacifico/>

«Según Zettler, E., Mincer, T. y Amaral – Zettler, L., sostienen que los tsunamis y las tormentas pueden generar grandes pulsos de plástico que ingresan al océano desde las áreas costeras. El plástico se acumula no solo en las playas de todo el mundo, sino también en ecosistemas de mar abierto ocasionando la colonización de seres vivos sobre entornos de plástico y su rápida adaptabilidad a tal medio se denomina como *plastisfera* ecosistémica. Asimismo, la producción e incineración de plásticos contribuye en gran medida al cambio climático como a la formación de *plastiglomerados* en las costas marítimas» [9].

Si la tendencia actual continúa, “en 2050 habrá unos 12000 millones de toneladas de residuos plásticos en los vertederos o contaminando el medio ambiente, el equivalente a casi 80 millones de ballenas azules” [10] así como se ilustra en la figura 2.

Figura 2

Desplazamiento y recorrido de la basura polimérica en los océanos



Nota. La figura representa la distribución global de desechos plásticos marinos registrada en estudios científicos. Los puntos verdes muestran dónde se observaron desechos plásticos (presencia) y los puntos naranjas dónde se encontraron otros tipos de basura (por ejemplo, metal, vidrio) pero no plástico. Tomada de: Alfred – Wegener – Institut Helmholtz – zentrum fur polar und meeresforschung, “*Impacts of plastic pollution in the oceans on marine species, biodiversity and ecosystems*”. Disponible en: <http://www.wwf.de/plastic-biodiversity-report>

Los residuos microplásticos generados por el ser humano se degradan por vías mecánicas, químicas y biológicas, sin embargo, el plástico convencional tiene baja biodegradabilidad en medios biológicos naturales. El nivel de degradabilidad de los microplásticos se sujeta a la singularidad del polímero como la estructura, aditivos utilizados en su fabricación, composición química, la interacción macromolecular formada por la unión de unidades fundamentales de monómeros, las condiciones ambientales (temperatura, presión y humedad), la configuración de depósito (agua,

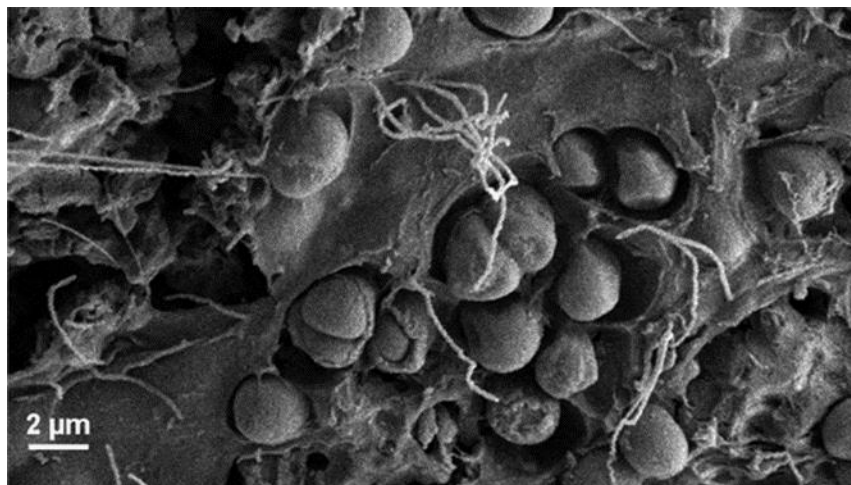
suelo, arena, en contacto a luz UV o no, entre otros entornos de depósito). “Aunque la degradación mecánica, química y biológica puede descomponer los microplásticos en nanoplasticos u oligómeros y monómeros, la combinación de dos o los tres procesos de meteorización normalmente interactúan para degradar los plásticos en fragmentación convirtiéndose en microplásticos” [10].

1.2 La plastisfera y su interacción con microorganismos

Los polímeros al entrar en contacto con el entorno natural son transformados en compuestos tóxicos para el ambiente biofísico gracias a la acción de los factores abióticos y bióticos. Sin embargo, no todos los organismos se ven afectados negativamente por la aparición de polímeros en el medio. En el intento de acoplarse a los residuos suspendidos en los ecosistemas, algunas bacterias exploran vías de adaptabilidad sobre los polímeros residuales que se encuentran en descomposición como se ilustra en la figura 3. La hidrofobicidad de los polímeros junto con la superficie irregular, permite el crecimiento de colonias bacterianas formadoras de biofilms como se ilustra en la figura 4.

Figura 3

Presencia de estafilococos en residuos poliméricos

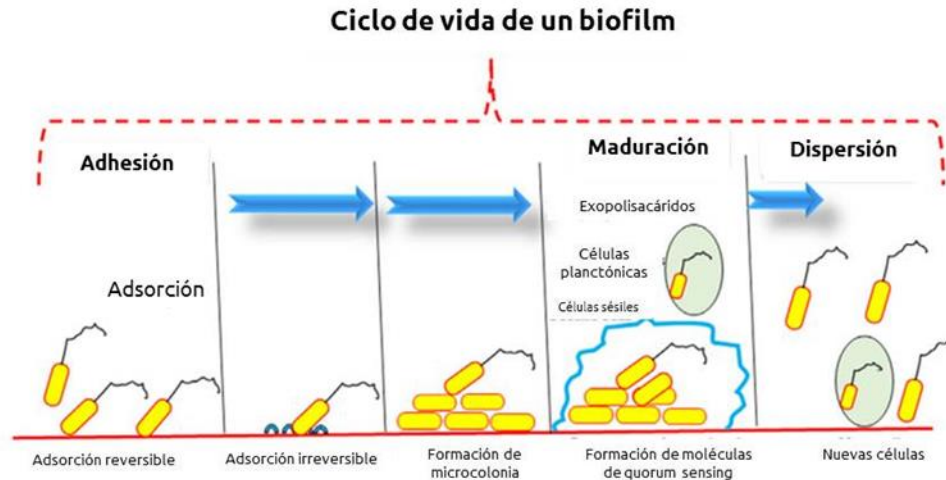


Nota. La figura representa la interacción de crecimiento y desarrollo bacteriano en desechos plásticos captado con un microscopio electrónico de barrido. Tomada de: ACS Publications, “*Life in the “Plastisphere”*: *Microbial Communities on Plastic Marine Debris*”. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es401288x>

La basura de polímeros hospeda gran cantidad de especies bacterianas como se ilustra en la figura 4. Según el estudio de Reisser, J., et al., “Millimeter-Sized Marine Plastics: A New Pelagic Habitat for Microorganisms and Invertebrates” [11], han identificado la biodiversidad de organismos en la superficie de 68 pequeños plásticos flotantes de zonas costeras y oceánicas de Australia. “Las muestras de microorganismos encontradas fueron: las *diatomeas*, el grupo más diverso de colonizadores plásticos, representado por 14 géneros. También registran *cocolitóforos epiplásticos* (7 géneros), *briozoos*, *percebes* (*Lepas sp.*), *dinoflagelado* (*Ceratium*), *isópodo* (*Asellota*), un gusano marino, huevos de insectos marinos (*Halobates sp.*); así como células redondeadas, alargadas y espirales identificadas como bacterias, cianobacterias y hongos” [11]. Asimismo, describen y analizan la variedad de microtexturas de la superficie del plástico, incluidos hoyos y surcos que se adaptan a la forma de los microorganismos, “lo que sugiere que la biota puede desempeñar un papel importante en la degradación del plástico funcionando como un arrecife microbiano artificial” [11].

Figura 4

Biofilms bacterianos: Interacción sobre las superficies colonizadas



Nota. La figura muestra el comportamiento de los microorganismos sobre las superficies colonizadas. Tomada de: Environmental Technology & Innovation, "Role and significance of biofilm-forming microbes in phytoremediation: A review". Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S235218642100780X?via%3Dihub>

1.3 Plastiglomerados: El problema ambiental asociado a la producción de polímeros

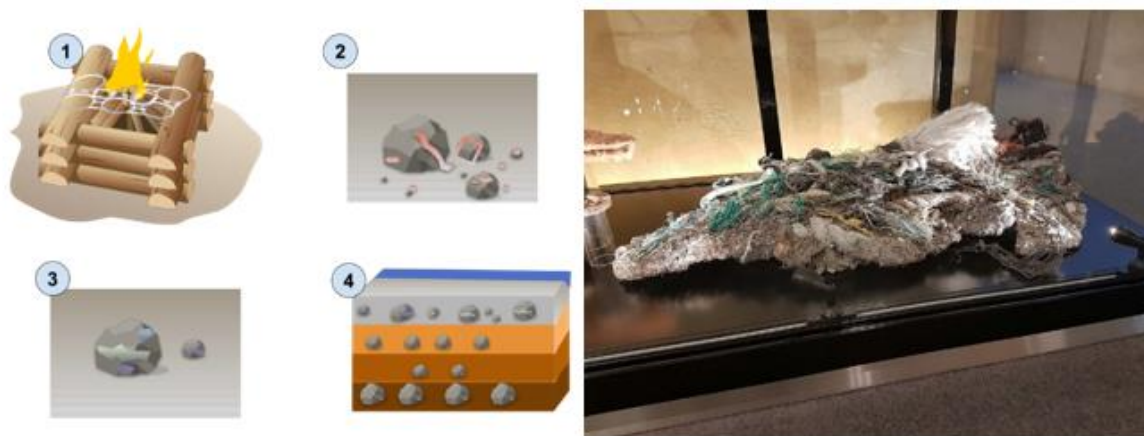
La proliferación del plastiglomerado en la superficie terrestre sigue ocasionando efectos adversos sobre el ambiente biofísico. Las actividades humanas, sobre todo aquellas de metabolismo industrial, ocasionan la aparición inusual de materiales (plastiglomerados) de características únicas, representando la figura del impacto antropogénico y socioeconómico en el planeta tierra.

«Según Corcoran, P., Jazvac, K., los plastiglomerados es el término para denominar a materiales compuestos por fragmentos de roca, granos de arena, materiales orgánicos (conchas, madera, desechos acuáticos, corales, entre otros) y desechos plásticos unidos a una matriz de plástico fundido que, generalmente, se induce su combustión ya sea como una solución intencional para eliminar la basura o accidentalmente como resultado de fogatas como se ilustra en la figura 5. Estas piedras sintéticas antropogénicas se informaron por primera vez en Kamilo Beach, Hawái en 2014» [12].

Aunque popularizado erróneamente como un nuevo tipo de roca, el plastiglomerado no es considerado, por definición, una roca; las rocas se forman naturalmente, mientras que el plastiglomerado se compone de productos poliméricos moldeados por procesos o acciones antropogénicas (por ejemplo, la ignición de basuras con alto contenido polimérico). “En comparación con los clastos sedimentarios naturales, el plastiglomerado es capaz de resistir mejor la rotura debido a una matriz plástica endurecida” [14]. Sin embargo, “las rocas naturales y los plastiglomerados pueden poseer características de textura similares, por ejemplo, redondeo como resultado del transporte sedimentario, la presencia de vesículas en la matriz plástica y/o amígdalas plásticas (relleno de vesículas con plástico una vez fundido)” [12, 13].

Figura 5

Formación de rocas sintéticas de polímeros (plastiglomerados)



Nota. La figura representa el derretimiento de los desechos plásticos de las fogatas o las altas temperaturas en las playas (1) generando un nuevo tipo de roca conocida como plastiglomerado (2). El plastiglomerado formado se fusiona con el sedimento circundante para crear una capa de sedimento de composición diferente (3). La aparición de esta nueva capa se está utilizando como evidencia física de un horizonte marcador para una época del Antropoceno (4). Tomada de: Nature reviews earth & environment, “The consequence that is plastiglomerate”. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s43017-019-0010-9>

1.4 Islas de basura en los vórtices oceánicos

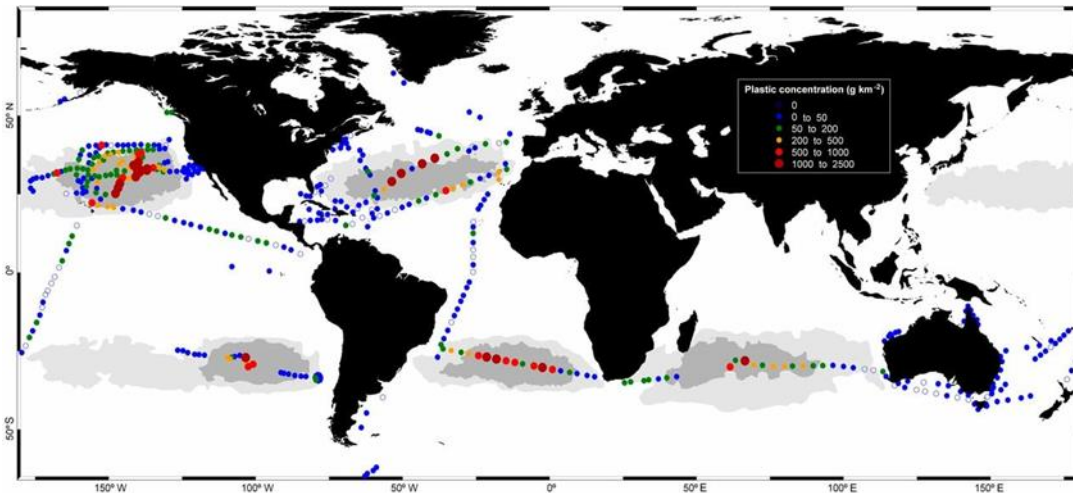
“Los desechos no reciclados, ni tratados o que terminan filtrándose accidental o intencionalmente en las vías fluviales; son depositados en la desembocadura de los

océanos. Todo aquello que contenga material polimérico, al entrar en contacto con las zonas oceánicas, empezará una travesía por los cinco vórtices oceánicos como basura flotante” [13] como se ilustra en la figura 6; “los residuos más densos permanecen semihundidos a una profundidad de varios centímetros o incluso metros, lo cual imposibilita medir la extensión real del vórtice” [14]. Las boyas a la deriva que ayudan como guía en las investigaciones y los modelos oceanográficos físicos, evidencian la aparición de partículas superficiales de microplástico generados por la basura, dado que, su forma de degradabilidad inicia fragmentándose el material creado a partir de polímeros; de esta forma, se genera la basura marina de carácter antrópico.

Investigaciones como la de Zettler, E., Mincer, T. y Amaral – Zettler, L., “Life in the Plastisphere: Microbial Communities on Plastic Marine Debris” [9] y la de Corcoran, P., “Degradation of Microplastics in the Environment” [13] ilustran los recorridos migratorios que realizan los microplásticos desde las zonas costeras hasta el interior del giro subtropical del pacífico norte en tan solo 60 días; lo que indica la rapidez con que los desechos generados por el hombre pueden impactar en el interior del giro. Por otro lado, “han llevado a cabo muestreos de fragmentos en los cinco giros subtropicales oceánicos y los resultados han dejado al descubierto las manchas de basura concentrada en las aguas tranquilas y estables de muchos de los vórtices oceánicos” [9]. “Las masas de agua menores, como los mares Mediterráneo y del Norte, están desarrollando sus propias manchas de basura a lo largo de sus concurridos corredores de barcos mercantes; considerándose como los nuevos continentes artificiales” [14].

Figura 6

Los cinco vórtices considerados islas basura



Nota. La figura representa las concentraciones de desechos plásticos en las aguas superficiales del océano global. Los círculos de colores indican concentraciones de masa; las áreas grises indican las zonas de acumulación previstas por un modelo de circulación superficial global. El gris oscuro y el gris claro representan las zonas de acumulación interior y exterior, respectivamente; las áreas blancas se pronostican como zonas de no acumulación. Tomada de: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, “*Plastic debris in the open ocean*”. Disponible en: <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1314705111>

1.5 Microplásticos, mini – microplásticos y nanoplásticos

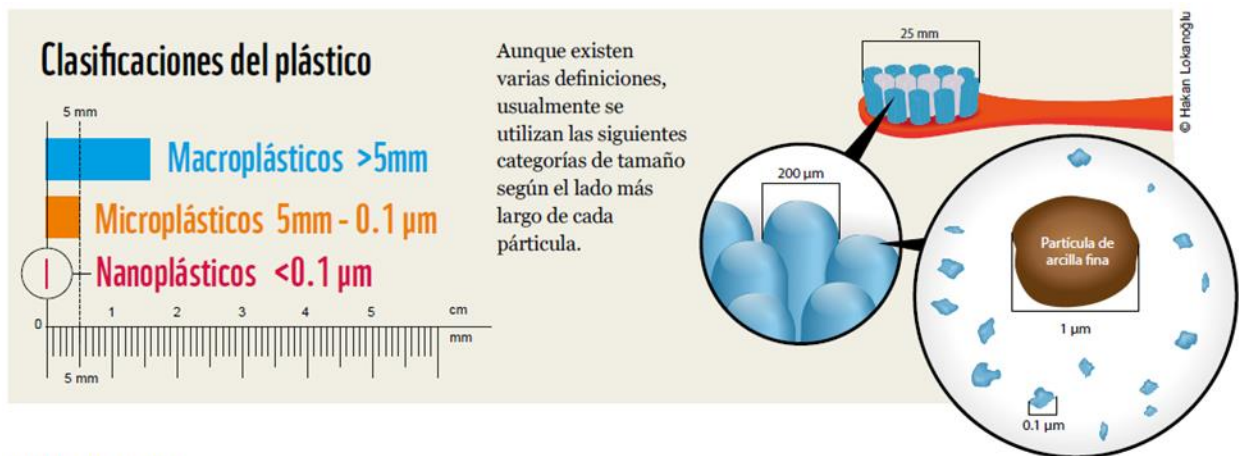
La manufactura de polímeros para satisfacer las actividades económicas sigue aumentando por la demanda y exigencia de las empresas, dado que los polímeros presentan durabilidad y resistencia que garantiza la permanencia de los productos. “Los polímeros están presentes en todos los aspectos del metabolismo socioeconómico; desde artículos personales, para el hogar, en ropa y embalaje, materiales de construcción y transporte, industria del plástico y resinas (pellets de plástico), cosméticos, productos farmacéuticos, polvo de neumáticos” [15], fibras de colillas de cigarrillos [16], rellenos para juguetes y almohadas, material exfoliante en productos para el cuidado personal [17] y como abrasivos en la limpieza con chorro [18], “entre otros usos que le atribuye características propias de los polímeros como su masa, bajo precio,

buen aislante de fluidos y eléctricos; lo cual denota que los polímeros son resistentes a la degradación química y física” [19].

El término microplástico hace referencia a partículas poliméricas con tamaños comprendidos entre los 5 mm a 1 μm [20, 21, 22]. Sin embargo, “para expresar tamaños de microplásticos (mp) menores a 1 μm y mayores a 1 nm en su dimensión más larga, se indica el término mini – microplásticos (mmp)” [22]. Asimismo, “suele usarse el término nanoplástico (np) para referirse a cualquier pieza polimérica de menor tamaño al nm que pueden sobrepasar los picómetros (pm)” [21, 22] como se ilustra en la figura 7. “No obstante, debido al tamaño increíblemente pequeño de los nanoplásticos y las dificultades para detectarlos cómo recuperarlos, la mayoría de los estudios sobre el medio ambiente acuático tiende a despreciar los nano plásticos y solo se centran en los microplásticos y el mini – microplástico” [23].

Figura 7

Microplásticos, mini – microplásticos y nanoplásticos



Nota. La figura representa la medida de los desechos poliméricos en general una vez se degradan iniciando el proceso de fragmentación en cualquier medio natural. Tomada de: Alfred – Wegener – Institut Helmholtz – zentrum fur polar und meeresforschung, “*Impacts of plastic pollution in the oceans on marine species, biodiversity and ecosystems*”. Disponible en: <http://www.wwf.de/plastic-biodiversity-report>

Los microplásticos, mini – microplásticos y nanoplásticos se clasifican según su origen en dos grupos:

✓ **Primarios.**

“Los microplásticos, mini – microplásticos y nanoplásticos primarios son aquellas trazas poliméricas que son manufacturados y se liberan directamente en el medio ambiente en forma de pequeñas partículas” [20].

«Entre los microplásticos, mini – microplásticos y nanoplásticos primarios destacan las microesferas ($< 500 \mu m$) contenidas en algunos productos de cosmética, mezclas para el arenado/granallado, pasta dental, pinturas epoxicas, impresiones 3D y vectores de medicamentos (como el Asacol, empleado en el tratamiento de la colitis ulcerosa leve donde se ha encontrado ftalato de monobutilo y ftalato de dimetilo. Como este, existen otros fármacos (Videx EC, Creon, entre otros) con compuestos ftálicos en su composición que pueden cumplir las funciones de excipientes, saborizantes artificiales o como revestimiento entérico» [24, 25].

✓ **Secundarios.**

“Los microplásticos, mini – microplásticos y nanoplásticos secundarios se generan a través de la fragmentación y/o degradación selectiva de macropásticos expuestos a factores externos que representan una importante entrada al entorno biofísico debido a derrames accidentales en el transporte o manipulación intencional” [26, 27]. “La fragmentación de los macropásticos se puede realizar por fenómenos químicos y físicos combinados, como la fotodegradación (fotólisis); también mediante fenómenos biológicos, debido a que algunos plásticos son susceptibles a la biodegradación por bacterias y hongos muy especializados, los cuales, no se encuentran en todos los medios ecosistémicos” [26]. En ambientes marinos, los macropásticos están expuestos a degradación mecánica que ocurre por el efecto sinérgico entre la acción del viento y las olas, así como la abrasión de partículas plásticas en sedimentos y arena. Por otro lado, “las fibras de origen animal, vegetal y sintético presentes en las prendas de vestir pueden liberar macropásticos como durante el lavado de ropa, de las lavadoras hacia las aguas de desecho; incluso al solo abrir y manejar envases de plástico se puede generar macropásticos por abrasión que luego son liberados al medioambiente” [27].

“Otras fuentes destacables corresponden al desgaste de los neumáticos, considerado como una fuente sigilosa de macroplásticos secundarios para el medio ambiente. Este desgaste está regido a factores como el tipo de pavimento, la temperatura, la velocidad, la edad y composición del neumático” [28]. “Además, también están los macroplásticos secundarios de las plantas de tratamiento de aguas residuales, desechos urbanos, rellenos sanitarios, áreas industriales y vertederos, debido a la incineración de residuos plásticos” [29].

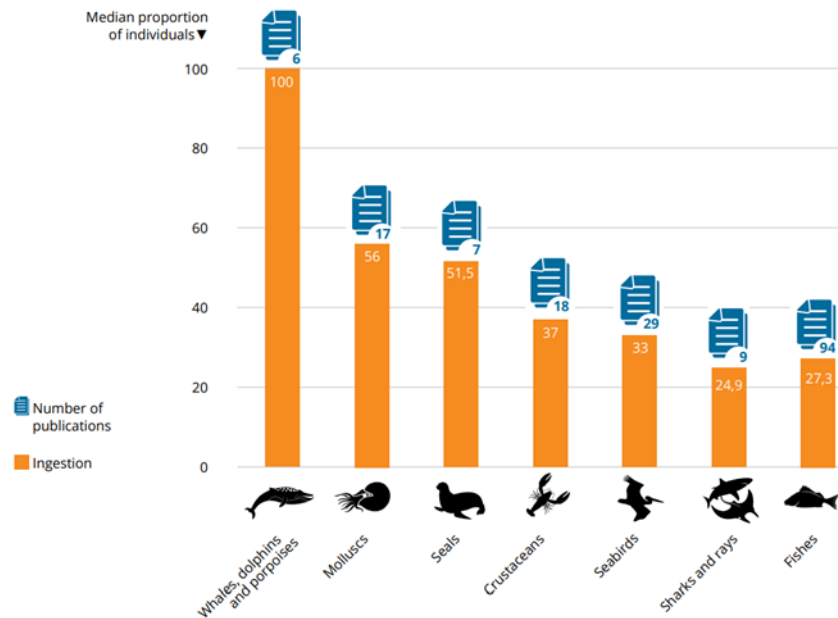
1.6 Biomagnificación por microplásticos, mini – microplásticos y nanoplásticos

La biomagnificación por polímeros en descomposición es el efecto de propagación de compuestos tóxicos directa en la salud de los animales al bioconcentrarse en los diferentes eslabones participantes en la cadena trófica.

«La bioconcentración de polímeros y trazas de microplásticos acarrea riesgos dado que la concentración de elementos tóxicos en el organismo consumidor es mayor que la concentración del mismo elemento tóxico en el organismo consumido, es decir, las sustancias contaminantes suelen alcanzar concentraciones más elevadas a medida que se avanza en el nivel trófico en la cadena alimenticia, puesto que, un animal se come un contaminante y este material pasa por cada punto de una cadena trófica de principio a fin como se ilustra en la figura 8» [30, 31].

Figura 8

Gráfica de estudios que soportan la ingesta de microplásticos, mini – microplásticos y nanoplásticos en animales



Nota. La figura representa el número de publicaciones y la media de individuos que ingieren plásticos en desintegración. Tomada de: Alfred – Wegener – Institut Helmholtz – zentrum fur polar und meeresforschung, “*Impacts of plastic pollution in the oceans on marine species, biodiversity and ecosystems*”. Disponible en: <http://www.wwf.de/plastic-biodiversity-report>

Este proceso se repite continuamente hasta llegar al final de la cadena trófica donde se encuentra el ser humano y su ingesta produce alta toxicidad específicamente en el microbiota intestinal ocasionando alteraciones gástricas como daños endocrinos reflejados en variaciones anormales en los tejidos. En el estudio de Li, P., et al., “Characteristics of Plastic Pollution in the Environment: A Review” [32] se describe posibles perturbaciones en el cuerpo humano al consumir animales acuáticos que están en contacto con microplásticos, mini – microplásticos y nanoplásticos [32]. “La contaminación por polímeros y derivados perjudica a través de cuatro aspectos: enredos en extremidades, ingestión, asfixia y contaminación química” [5].

✓ **Enredos en extremidades.**

«Artículos como sogas, redes, trampas y líneas de monofilamento de equipos de pesca abandonados, perdidos o descartados enmarañan a los animales marinos, causándoles heridas, asfixia, restricciones de movilidad y la muerte como se ilustra en la figura 9. Las aves utilizan desechos marinos para construir sus nidos, lo cual, puede enredarlas y enredar a sus polluelos. En Oahu, Hawái, 65% de las colonias de coral tenían enredos con sedales de pesca y 80% de estas colonias estaban total o parcialmente muertas» [33]. “Por otro lado, en las zonas remotas y profundas del Océano Ártico, hasta 20% de las colonias de esponjas tenían enredos con plásticos, los cuales han aumentado con el tiempo” [34].

Figura 9

Foca gris enredada en una red de pesca verde



Nota. La figura representa la contaminación por enredos en animales acuáticos. Tomada de: Alfred – Wegener – Institut Helmholtz – zentrum für polar und meeresforschung, “*Impacts of plastic pollution in the oceans on marine species, biodiversity and ecosystems*”. Disponible en: <http://www.wwf.de/plastic-biodiversity-report>

✓ **Ingesta.**

Los animales marinos, sea cual sea la especie, ingieren plástico desde los superpredadores hasta el plancton en la posición alta y baja de la cadena trófica, respectivamente. “Esto puede ocasionar lesiones graves, afectando la ingesta de alimentos al generar un falso sentido de saciedad, bloqueando su sistema digestivo, ocasionando heridas internas o incluso la muerte como se ilustra en la figura 10. Por ejemplo, los experimentos de laboratorio han demostrado un crecimiento reducido en los peces cuando su alimento está contaminado por un gran volumen de microplásticos” [35]. En el otro extremo, “un solo pitillo de plástico en el sistema digestivo fue la causa probable de la muerte de un tiburón ballena en Tailandia” [36]. “Las aves marinas ingieren plásticos de manera generalizada, lo cual se ha convertido en un problema creciente a nivel global” [37]. “Se estima que un 90% de las aves marinas y 52% de las tortugas marinas ingieren plásticos” [37, 38]. “También se tiene en consideración la ingesta de microplásticos en muchas ballenas y delfines que terminan con altos grados de inanición” [39, 40, 41]. Estudios como el desarrollado por De Stephanis, R., et al., “As main meal for sperm whales: Plastics debris” [42] y de los autores Dickerman, R. y Goelet, G., “Northern Gannet starvation after swallowing styrofoam” [43] han demostrado alteraciones y reducciones en el consumo de alimentos, impactos negativos en el crecimiento, el sistema inmunológico, la fertilidad, la reproducción y alteraciones en las funciones celulares y el comportamiento de las especies impactadas. Los niveles de daño están directamente relacionados con las concentraciones de exposición [42, 43].

Figura 10

Ingesta de polímeros residuales por parte de un pelícano rosado y focas



Nota. La figura representa la contaminación por ingesta de polímeros como la confusión que representa el plástico una vez entra en el proceso de alimentación de los animales al asociarlo como nutrientes naturales. Tomada de: Alfred – Wegener – Institut Helmholtz – zentrum für polar und meeresforschung, “*Impacts of plastic pollution in the oceans on marine species, biodiversity and ecosystems*”. Disponible en: <http://www.wwf.de/plastic-biodiversity-report>

✓ **Asfixia.**

«La contaminación por plásticos priva de luz, alimentos y oxígeno a los corales, esponjas y animales que viven en el lecho marino y reduce la cantidad de oxígeno y comida disponible en los sedimentos. Esto impacta negativamente a los ecosistemas y abre un enorme camino a los patógenos que pudren superficies marinas e incrementan el deterioro de la vida marina como se ilustra en la figura 11. La asfixia es particularmente dañina en los arrecifes de coral y los manglares» [5].

Figura 11

Asfixia y muerte por plásticos y microplásticos



Nota. La figura representa la contaminación por asfixia en animales provocando heridas de gravedad o incluso la muerte. Tomada de: Alfred – Wegener – Institut Helmholtz – zentrum für polar und meeresforschung, “*Impacts of plastic pollution in the oceans on marine species, biodiversity and ecosystems*”. Disponible en: <http://www.wwf.de/plastic-biodiversity-report>

✓ **Contaminación Química.**

«Aunque no todos los ingredientes en los polímeros son dañinos, algunos sí lo son y pueden filtrarse en el ambiente marino. Las partículas de plástico más pequeñas pueden atravesar las células de los animales marinos y algunas pueden llegar hasta el cerebro. El plástico contiene contaminantes químicos tóxicos que, en baja proporción, pueden ser agentes alteradores endocrinos como se ilustra en la figura 12. Estas partículas interfieren con las hormonas, alterando la reproducción, el desarrollo y el comportamiento de varios tipos de vida marina. Incluso algunos plásticos etiquetados como seguros para el almacenamiento de alimentos pueden ser altamente tóxicos para los animales acuáticos y las personas» [5].

Figura 12

Toxicidad y eventual daño en los tejidos



Nota. La figura representa el interior estomacal de un atún aleta amarilla muerto por inanición y laceración en los tejidos internos por consumir un tubo de plástico negro de 1,5 cm de diámetro y accesorios metálicos que generaron corrosión provocando quemaduras en el sistema digestivo. Tomada de: Alfred – Wegener – Institut Helmholtz – zentrum fur polar und meeresforschung, “*Impacts of plastic pollution in the oceans on marine species, biodiversity and ecosystems*”. Disponible en: <http://www.wwf.de/plastic-biodiversity-report>

1.7 La afectación de la basura polimérica en Colombia y sus costas

La presencia de residuos poliméricos en las zonas costeras de la región pacífico y caribe del territorio colombiano, se ha convertido en situación típica. Sin embargo, el desconocimiento respecto a la descomposición de la misma y la escasa información científica llevada a cabo en las costas colombianas, pero efectuando un símil de locaciones costeras que, si presentan investigaciones, se denota una importante transformación de la interacción plásticos – costas marinas que inducen una constante amenaza latente para la biota, la salud humana y los ecosistemas marinos y terrestres en Colombia. La afectación de la basura polimérica en las costas colombianas, en los ecosistemas marinos, terrestres y selváticos, ocasionan los mismos problemas irremediables como las islas de basura en los vórtices oceánicos, es decir, es un factor de contaminación asociado a nivel mundial. “Los residuos microplásticos proliferan, migran y se acumulan en hábitats naturales de polo a polo, y de la superficie del océano

al lecho marino; estas partículas también se depositan en playas urbanas y sedimentos marinos, considerándose como un tipo de contaminación ubicua y persistente” [44].

«La industria del plástico en Colombia es considerada una de las más innovadoras en términos de durabilidad y tecnología útil en diferentes portafolios económicos, además de mostrar su importancia en la industria de los materiales sintéticos en Latinoamérica.

Su crecimiento en los dos primeros trimestres del año 2020 (22,2%) frente al mismo periodo del 2019 (8,6 %). En Colombia cada persona consume aproximadamente 24 kilos de plástico al año y solo se recicla el 20 % del más de 1,4 millones de toneladas que se produce en el país para consumo (polipropileno, PVC, poliestireno, polietileno de baja densidad, entre otros). Esto ubica al país como la nación que más contribuye a la contaminación del mar Caribe y océano Pacífico con plásticos, por encima de México y Estados Unidos» [45].

En Colombia, la distribución final de los desechos poliméricos y derivados se concentran en zonas del Caribe y Pacífico; registrando la degradación, fragmentación y posterior descomposición en partículas de microplásticos, mini – microplásticos y nanoplasticos. De este modo, se evidencia en la investigación realizada por Quiros – Rodriguez, A., Nisperuza – Perez, C. y Yepes – Escobar, J., “Los microplásticos: Una amenaza desconocida para los ecosistemas marinos de Colombia. Perspectivas y desafíos a enfrentar” [46], que los desechos antrópicos en estuarinos en el Delta del río Atrato, en los suelos del manglar de la Ciénaga Grande de Santa Marta y las zonas profundas del norte del mar Caribe, cerca de Puerto Colombia y Salgar; donde se efectúa la pesca de atún para suministrar las multinacionales y pequeñas empresas dedicadas al procesamiento de enlatados derivados del atún; la aparición de objetos y astillas incrustadas en el interior del atún de composición polimérica. Por otra parte, los hallazgos afirman altas mediciones de mercurio, arsénico y metales pesados en la anatomía del atún. “Asimismo, en el Pacífico, coexiste entre la fauna marina y terrestre de la bahía de Buenaventura, polímeros y derivados en equivalencias de 11 a 1354 partículas/kg” [46].

«Por otro lado, reportaron el hallazgo de partículas poliméricas en peces de zonas pesqueras y turísticas como el pez *Cetengraulis mysticetus* en el Pacífico colombiano, específicamente en Buenaventura y Tumaco, donde el 3,3% de 30 individuos

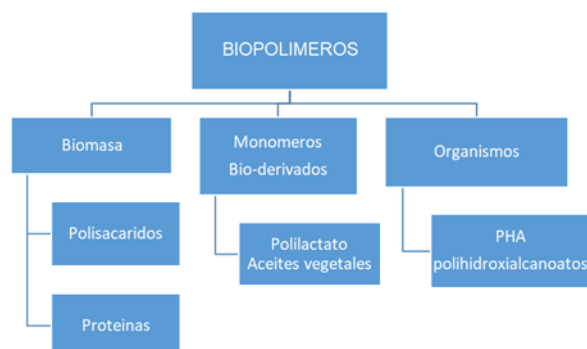
analizados presentaron este material en el tracto digestivo. De igual manera, encontraron compuestos poliméricos en degradación biofísica dentro del pepino de mar *Holothuria (Halodeima) grisea* en las playas de San Antero» [46].

1.8 Impacto ambiental, social, económico y político de los biopolímeros

Los biopolímeros son materiales en revolución debido a su extracción de una o varias materias primas naturales como residuos de otras industrias. Su accesibilidad con el medio ambiente le confiere una degradabilidad más corta. Los procesos de obtención de los biopolímeros con alto contenido de moléculas de hidrógeno le permiten mayor resistencia a la corrosión al ser insolubles en agua. “Por otro lado, las emisiones de metano es uno de los gases de efecto invernadero más contaminantes en el mundo el cual se encuentran presentes en algunos de estos procesos” [47]. Los biopolímeros se clasifican según su fuente como se ilustra en la figura 13. A continuación, se analizan los biopolímeros más importantes del mercado divididos en tres subgrupos: “polímeros basados en recursos renovables (almidón y celulosa), polímeros biodegradables basados en monómeros bioderivados (aceites vegetales y ácido láctico) y biopolímeros sintetizados por microorganismos (PHA)” [48].

Figura 13

Clasificación de los biopolímeros



Nota. La figura representa un esquema sobre el método de obtención de biopolímeros. Tomada de: M. F. Valero – Valdivieso, Y. Ortegón, Y. Uscategui. (2011). “*Biopolímeros: avances y perspectivas*”. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v80n181/v80n181a19.pdf>

«Según Ramperez Barrajon, J., la producción mundial de bioplásticos representa solo un 1 % de los plásticos que se disponen en el mercado. Las previsiones de crecimiento son muy alentadoras para esta industria. Se especula un crecimiento mundial del mercado de biopolímeros estimado en un 25 % en los próximos cinco años. Esta tendencia es posible gracias a la creciente demanda de productos sostenibles tanto por parte de los consumidores como de las marcas, a un mayor apoyo político a la bioeconomía y a los continuos esfuerzos de la industria de los bioplásticos para desarrollar materiales innovadores con mejores propiedades y nuevas funcionalidades» [49].

“El estudio industrial respecto a las rutas de optimización de los procesos productivos de biopolímeros incrementa debido al alto costo que supone la fabricación de biomateriales biodegradables. La capacidad de producción mundial de bioplásticos aumentará de unos 2,1 millones de toneladas en 2018 a 2,6 millones de toneladas en 2023” [49, 50].

Además, “los biopolímeros biodegradables tales como polihidroxicanoatos (PHA), ácido poli láctico (PLA), derivados de almidón, entre otros, representan más del 64% (más de 1,5 millones de toneladas) de la capacidad de producción mundial de biopolímeros biodegradables. Se espera que la producción de plásticos biodegradables como el PBAT (tereftalato de adipato de polibutileno) y PBS (succinato de polibutileno) aumenten a 5,3 millones en 2026” [50].

No obstante, es importante tener en consideración que la producción de materiales biopoliméricos biodegradables no ralentiza ni soluciona en su totalidad problemas de contaminación global, ya que, para efectuar un proceso bioindustrial totalmente sostenible se debe considerar varios factores relacionados entre el proceso de creación del material como de disposición final, por ejemplo, el uso de grandes cantidades de biomasa residual aceleraría el desarrollo de monocultivos ocasionando deforestaciones de extensos terrenos, abundante uso de pesticidas y una monopolización de las actividades extractivas y logísticas de biomasa al incrementar la demanda de biomasa cuyo capital monetario crecería de tal forma que habría mayor credibilidad de la actividad económica y por ende la tasa de inversión aumentaría; la reciclabilidad de los materiales, la conjetura de las leyes constitucionales como el alcance para la sana competencia y productividad de biopolímeros, entre otras variables.

«En Tailandia, el cultivo de caña de azúcar y de yuca para producir plásticos biobasados ha captado al mercado europeo de inversores, generando alta demanda de materia prima residual ocasionando el desarrollo de monocultivos en locaciones que antes eran bosques o cultivos para alimentos de consumo local. Este factor produce degradación del suelo, pérdida de hábitats, impactos en la calidad del agua y contaminación. Además, los beneficios van a los actores del comercio internacional, sin mejorar la situación de pobreza de los pequeños agricultores locales» [51].

«En Latinoamérica, Brasil es la nación con ubicaciones exclusivamente destinadas a la masificación de cosechas agroindustriales para caña de azúcar que a la vez promueve la generación de desechos postcultivos adquiridos por compañías para beneficio económico. Ese factor fija a Brasil como promotor de los monocultivos, motivo por el cual impacta negativamente en los ecosistemas. La demanda del mercado

internacional y el monopolio de algunas empresas conduce a salarios ínfimos y pobreza en muchas de las regiones donde se cultiva» [50].

Es importante resaltar que la imagen “bio” de un artículo de manufactura es interpretado por la sociedad como una alternativa a la producción y uso de plástico convencional y, aunque es cierto, la percepción del consumidor final lo hace actuar como si el producto fuera degradable en cualquier medio natural o urbana constatando falta de interés por el reciclaje y al final, una desviación a la solución real para los desechos biodegradables como no biodegradables: la reutilización.

1.9 Biopolímeros: La naturaleza y función de las máquinas moleculares.

“Las biomoléculas están formadas por átomos, los cuales, se estructuran de partículas subatómicas. Algunas biomoléculas se unen para formar polímeros, denominados macromoléculas. Por ejemplo, las proteínas, los polisacáridos y los ácidos nucleicos son polímeros formados por aminoácidos, monosacáridos y nucleótidos, respectivamente” [52]. Las moléculas de aminoácidos se utilizan principalmente para la síntesis de polímeros largos y complejos denominados polipéptidos [52]; mientras que las moléculas cortas que tienen una longitud inferior a 50 aminoácidos, se denominan péptidos u oligopéptidos [52]. Las proteínas están formadas por uno o más polipéptidos, los cuales, desempeñan una gran variedad de funciones en los seres vivos [52].

“Los azúcares son las unidades básicas de los carbohidratos, las moléculas orgánicas más abundantes de la naturaleza. Los carbohidratos van desde los azúcares sencillos o monosacáridos, como la glucosa y fructosa; hasta los polisacáridos, polímeros que contienen miles de unidades azúcar; entre estos últimos se encuentran el almidón y la celulosa de las plantas y el glucógeno de los animales” [52].

«La glucosa es la principal fuente de energía de tipo carbohidrato en animales y plantas. Muchas plantas utilizan la sacarosa para transportar eficazmente energía a través de sus tejidos. Otros carbohidratos actúan como materiales estructurales. La celulosa es el principal componente estructural de la madera y ciertas fibras vegetales. La quitina, otro tipo de polisacárido, se encuentra en el exoesqueleto de los insectos y los crustáceos. Los polisacáridos, también llamados glucanos, están formados por grandes cantidades de monosacáridos conectados por enlaces glucosídicos. Los

glucanos más pequeños, llamados oligosacáridos, son polímeros que contienen hasta unos 10 o 15 monómeros y que con mayor frecuencia se encuentran unidos a polipéptidos en ciertas glucoproteínas como en algunos glucolípidos» [52].

“La mayoría de las células se diferencian por su retención del colorante violeta de cresilo durante el procedimiento de tinción de Gram. Las que retienen el colorante se denominan *grampositivas*, y las que no lo hacen son las *gramnegativas*. La pared de una célula *grampositiva* consta de una capa única relativamente gruesa de peptidoglicano localizada fuera de la membrana plasmática” [52]. También embebidos en esta capa están los ácidos teicoicos y los polímeros de fosfato de glicerol, de fosfato de ribitol (o ambos), que aportan carga negativa a la superficie celular. Los bacteriófagos se fijan a las células bacterianas mediante polímeros de ácido teicoico antes de la infección. Las paredes celulares de las bacterias gramnegativas tienen una capa fina de peptidoglicano entre la membrana externa y la membrana plasmática, y dentro del espacio periplásmico. El componente lipídico de la membrana externa es lipopolisacárido (LPS) en lugar de fosfolípidos.

«El citoplasma de las procariontas tiene un aspecto uniforme y granuloso, excepto por los cuerpos de inclusión, que son unos gránulos grandes que contienen sustancias orgánicas o inorgánicas. Algunas especies utilizan glucógeno o ácido poli – β – hidroxibutirato como polímeros de almacenamiento de carbono. El citoplasma, como cualquier material basado en agua que contengan polímeros, tiene las propiedades de un gel, el cual, es una mezcla coloidal; en el caso de las células, consiste en biopolímeros con superficies polares vinculadas con agua adsorbida. Muchas biomoléculas poseen propiedades ácidas, básicas o ambas. Los polímeros grandes y complejos macromoleculares suelen tener superficies anfóteras; es decir, poseen tanto grupos ácidos como básicos» [52].

En síntesis, los biopolímeros son estructuras monoméricas unidas que forman macromoléculas químicas de alto peso molecular, gran tamaño y forma predominantemente alargada denominadas polímeros. Los biopolímeros son especies poliméricas naturales que se generan en un amplio espectro de seres vivos. El gran

número de monómeros que componen un polímero confieren a la especie polimérica un elevado peso molecular.

Los términos Biopolímero, Bioplástico, Biopolíester, Polímero, Plástico sintético y Biodegradable; pueden generar confusión al estar correlacionados y utilizarse de manera conjunta en un mismo contexto. Sin embargo, hay algunas diferencias notorias, por ejemplo, “el prefijo bio proveniente del griego vida no dictamina cuando un material es sostenible (degradable) o no sostenible (no degradable) ni tampoco la falsa creencia sobre la biodegradabilidad de un material que es creado con biomasa como materia prima, dado que, el recurso fósil (petróleo) es en sí mismo biomasa fosilizada” [54]. Por consiguiente, “el ciclo de degradabilidad bio de un material plástico depende de su estructura molecular al momento de iniciar su proceso de descomposición y realizar las evaluaciones del ciclo de vida para catalogarlo como biodegradable en un entorno cuyos factores bióticos y abióticos no se vean afectados negativamente” [53].

Si bien, “las palabras bioplástico y plástico biodegradable son similares, no son sinónimos. No todos los bioplásticos (plásticos derivados total o parcialmente de la biomasa diferente a la fósil) son biodegradables; por ejemplo, el Bio – PC, Bio – PBT, Bio – PET, Bio – PA, entre otros bioplásticos” [54]. “Algunos plásticos biodegradables se elaboran al utilizar biomasa fosilizada como materia prima y al final de su ciclo de vida son biodegradables; por ejemplo, el PBAT y PCL” [54, 55]. De manera que, “la IUPAC desaconseja el uso del término bioplástico a cambio de polímero de base biológica” [56].

“El plástico sintético es el material polimérico típico o convencional sintetizado a partir de biomasa fosilizada (petróleo) y su descomposición inicia fragmentándose en microplásticos, mini – microplásticos y nanoplásticos generando contaminación ecosistémica (por ejemplo, PC, PBT, PET, PA, PP, TPU, entre otros)” [57, 54].

“Los biopolímeros son compuestos orgánicos derivados de la unión de unidades estructurales monoméricas que forman biomoléculas poliméricas (macromoléculas) mediante enlaces químicos homopolares producidos por organismos vivos a través de rutas de biosíntesis” [53]. “Los biopolímeros cumplen con funciones diferenciadas en el interior de las células de los seres vivos; de manera que, las células están compuestas por diversas biomoléculas y macromoléculas, dispuestas en estructuras

supramoleculares más complejas. En el plano molecular, existen cientos de reacciones bioquímicas que en conjunto mantienen la vida” [52]. “Estas reacciones están catalizadas por enzimas y se organizan en rutas bioquímicas (serie de reacciones en las que una molécula específica se convierte en un producto final) por medio del metabolismo” [56]. “Los biopolímeros son considerados biodegradables desde el proceso inicial de producción hasta la disposición final una vez cumple con su vida de uso útil, logrando ser descompuesto por la acción natural de microorganismos como bacterias, hongos y algas” [54]. Por ejemplo, “los biopolímeros más representativos son el colágeno, actina, fibrina, PHA y derivados; PLA y derivados; PBS, PCC, celulosa y derivados; quitina, quitosano, almidón, hule natural, látex natural, lignina, cutina, suberina, entre otros” [54].

«Los polímeros son en esencia el segmento macro composicional de un biopolímero, bioplástico, plástico biodegradable y plástico sintético, es decir, es aquel material molecular significativamente grande producido por la unión de miles de monómeros formando polímeros de bajo peso molecular si y solo si cumple con intervalos de 1500 a 5000 unidades monoméricas, mientras que, al exceder las 10000 unidades se denominan polímeros de alto peso molecular» [52].

“El biopolíester es todo aquel material sintetizado por seres vivos de manera natural o in vitro que sea biodegradable y biocompatible (en todo el proceso). Terminología similar a los biopolímeros, sin embargo, se abarca aquellos plásticos sintéticos que dan como resultado materiales altamente biodegradables y biocompatibles (por ejemplo, PGA, PLGA, poli – ρ – dioxanona)” [58, 54].

2. ARGUMENTO DEL PROYECTO

«La industria polimérica a gran escala se remonta al año 1950, después de la segunda guerra mundial, cuando la relevancia de los plásticos se incrementó debido a la amplia variedad de aplicaciones en la fabricación de productos que impactan directamente en las bases socioeconómicas solucionando tanto las necesidades de las poblaciones como el desarrollo de una cultura de consumismo excesivo derivado del capitalismo y la industrialización en el siglo XXI» [54].

“Los polímeros son materiales altamente versátiles, encontrándose en la manufactura de prendas de vestir creadas con fibras de plástico sintético, artículos desechables a base de poliestireno y polietileno, muebles y accesorios para la decoración del hogar u oficinas, pinturas, bolsas de plástico, equipos electrónicos, pegamentos, entre otros elementos fabricados con poliésteres sintéticos” [53, 54].

Los materiales poliméricos siguen siendo los compuestos monoméricos más demandados en el metabolismo socioeconómico y, con la misma rapidez de elaboración, son apresuradamente desechados sin una logística de reciclaje capaz de ser sustentable para evitar la contaminación y biomagnificación en ecosistemas terrestres, marinos y aeroterrestre.

«Aunque en muchas regiones o naciones el proceso de reciclado y reutilización de materiales poliméricos es efectivo gracias a la gestión de entidades gubernamentales, públicas no dependientes del gobierno y privadas; obliga a las personas a ejercer prácticas positivas de reciclaje sustentable. Pero esto se genera en zonas particulares, mientras que, el problema por desechos poliméricos abrumba otras locaciones del planeta tierra; por ende, el problema no es ajeno a ninguna nación y no se debe considerar como inconveniente singular» [58].

Por tal motivo, el estudio tiene como fin la valorización de los desechos naturales de los cultivos plataneros en Colombia, con el fin de aportar cifras para la investigación y desarrollo de un medio con los requerimientos necesarios para la producción de biopolímeros biodegradables PHA que generen el menor impacto ambiental y sean naturalmente sostenibles; a la vez que puedan ser altamente competitivos en características mecánicas, físicas y económicas con respecto a los plásticos sintéticos

convencionales es la visión futurista para establecer diferentes métodos de producción. Los biopolímeros biodegradables tienen la propiedad de degradarse mediante acción enzimática de microorganismos como bacterias, hongos y algas produciendo principalmente CO₂, CH₄, H₂O, biomasa y otras sustancias que no son, en gran medida, perjudiciales para el entorno.

«Los biopolímeros biodegradables deben cumplir, como mínimo, con las normas ASTM D5338 y D6002. La primera norma determina el grado y la tasa de biodegradación aerobia de materiales plásticos en un medio de compostaje controlado; la segunda norma es la guía estándar para establecer la compostabilidad de los plásticos ambientalmente degradables, enfoque particular el cual se puede replicar para biopolímeros biodegradables. Ambas normas parametrizan la biodegradabilidad por acción de los factores naturales involucrados en un medio de compostaje controlado, la degradación al menos del 60 % al 90 % si se trata de plásticos mixtos. Así que, se puede deducir que para biopolímeros biodegradables se traza como intervalos de degradación al menos el 75 % al 99 % de biodegradabilidad de artículos biopoliméricos» [54].

Las normas previamente descritas son desarrolladas en un solo criterio: medio de compostaje controlado. Lo anterior se traduce en un procedimiento de residuos bien gestionado para garantizar que esto realmente suceda. Si los productos fabricados con poliésteres biopoliméricos biodegradables se desechan en los flujos de disposición final convencionales, como los vertederos, o se abren camino hacia el medio ambiente abierto, como ríos y océanos, los beneficios ambientales potenciales deberían ser objeto de estudio para que se materialicen y que en realidad no vaya a empeorar el problema de la contaminación plástica. La biodegradación no es la única alternativa utilizada para eliminar los poliésteres sintéticos no biodegradables como los biopolímeros biodegradables al final de su vida útil. También se debe considerar rutas como el reciclaje mecánico y químico; opción preferida desde el punto de vista ambiental.

La susceptibilidad a la biodegradación depende en gran medida de la estructura química principal del polímero, y los diferentes bioplásticos tienen estructuras diferentes, por lo que no se puede suponer que el bioplástico en el medio ambiente se desintegre

fácilmente. Los artículos de plástico etiquetados como biodegradables, pero que solo se descomponen en piezas más pequeñas como los microplásticos, o en unidades más pequeñas que no son biodegradables, no son una mejora con respecto al plástico convencional. La biodegradación de productos a la exposición ambiental implica la acción de microorganismos y reducción del grado de polimerización, así como la degradación de polímeros en fragmentos orgánicos más simples.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

“Las principales regiones agrícolas bananeras y plataneras de Colombia comprendidas por la zona de Urabá y noreste de Antioquia, sur del Cauca, Llanos orientales y el centro del país cultivan aproximadamente 4.310.256 toneladas de plátano en 460.807 hectáreas sembradas de este cultivo en el año 2020” [59]. Al mismo tiempo, se genera una “tasa aproximada del 10% de residuos lignocelulósicos como el raquis o pinzote, pseudotallos u hojas durante el proceso agroindustrial del plátano (actividad agrícola)” [59]. Además, “esta cifra de residuos plataneros incrementa un 15% con otros residuos orgánicos propios de la actividad agrícola tales como el plátano rechazado o merma” [59] (no exportado ni consumido ya sea por motivos de estándares de calidad como el color negro de la cascara, golpes del fruto o rumiado por animales). En consecuencia, “se genera aproximadamente un 25% de producción de residuos que son, en la mayoría de ocasiones, desaprovechados y acumulados en las fincas o terrenos de siembra provocando daños en el suelo al no permitir la adsorción de nutrientes para fortificar el subsuelo, erosión del suelo; putrefacción que provoca mal olor, moscas y roedores; contaminación del agua y problemas sanitarios” [59]. “Para el 2021 se estimó la producción de plátano en 4.370.751 toneladas en un área de 469.721 hectáreas, lo que significa un aumento en la generación de residuos” [59]. De igual modo, “las cifras de 2022 respecto a la producción de plátano se cuantifican en 4.611.084 toneladas en un área aproximada de 495.549 hectáreas” [59]. Teniendo en cuenta las toneladas de plátano cultivado y el porcentaje de residuos lignocelulósicos generados, las cifras aproximadas de desechos va constantemente creciendo siendo 1.077.564, 1.092.687 y 1.152.771 toneladas en 2020, 2021 y 2022, respectivamente.

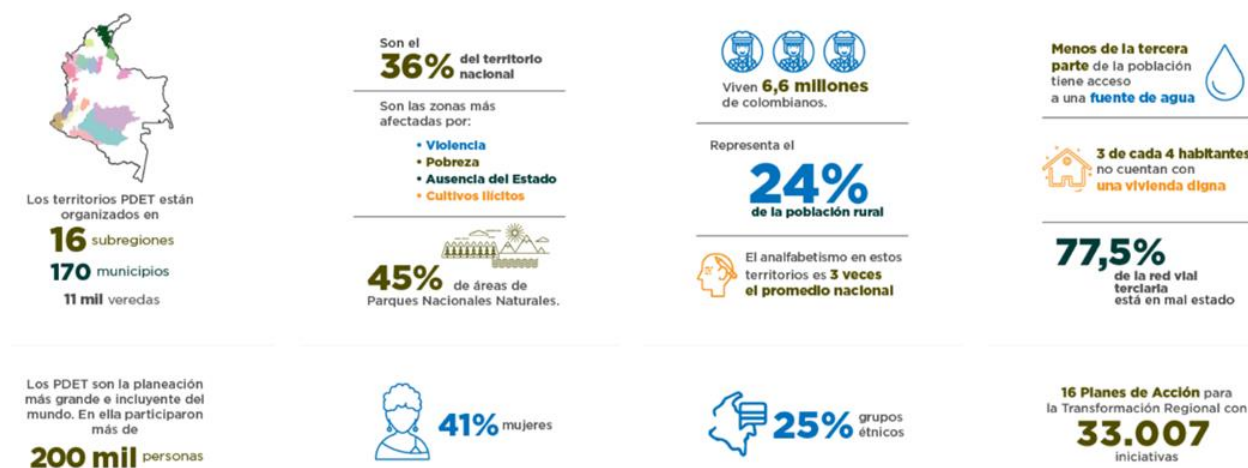
En Colombia, las zonas bananeras y plataneras generan un flujo e ingreso importante de capital al exportar el banano y plátano en cifras sustanciales. Aproximadamente “142 millones de kilogramos de plátano y banano fresco fueron exportados en el año 2022 por un estimado de 62 millones de dólares estadounidenses” [60]. Por otro lado, el proceso de siembra y cosecha produce importantes cantidades de desechos agrícolas que pueden ser aprovechados para la biorrefinería y conversión a elementos de manufactura como los biopolímeros PHA comercializables. La obtención de biomateriales a través del uso de biomasa es, por mucho, la principal fuente de carbono y nutrientes para

microorganismos productores de polihidroxicarboxilatos. Los residuos agrícolas y agroindustriales del plátano, cumplen con el rol protagónico para la ejecución experimental de valorización química para procedimientos de fermentación microbiana representado en un equilibrio altamente beneficioso para el medioambiente con el aprovechamiento de residuos plataneros y su reconversión final en polihidroxicarboxilatos que marcan el cambio innovador de la industria de materiales a nivel comercial, social y ecológico.

La subregión del Urabá chocoano – antioqueño se caracteriza por ser una zona geográfica de alta importancia por su posición marítima al encontrarse entre el océano Pacífico y Atlántico siendo el cruce de embarcaciones de mercancías, así como una amplia área de explotación agrícola del banano y plátano a escala agroindustrial aportando gran parte del fruto tropical al mercado internacional. El Urabá chocoano – antioqueño confluye con los departamentos de Antioquia, Chocó, Córdoba y la subregión del Tapón del Darién lo que permite una fácil conexión con las capitales departamentales y la afluencia de personas desarrollándose actividades económicas dentro del agroturismo. Por tal motivo, esta locación ha sido afectada por la violencia, pobreza, economías ilícitas y una nula presencia de las entidades y autoridades públicas. Sin embargo, en el año 2019, “la subregión del Urabá chocoano – antioqueño entró al Programa de Desarrollo con Enfoque Territorial con el fin de impulsar el desarrollo económico, social y ambiental” ^[61] como se ilustra en la figura 14.

Figura 14

PDET en cifras



Nota. La figura representa el desarrollo y alcance del proyecto articulado entre gobierno y sectores privados para conjurar el incremento de trabajo como producción en las zonas de altos índices de desigualdad, segregación salarial y exclusión social. Tomada de: Agencia de Renovación del Territorio – ART, “Colombia: potencia de la vida”. Disponible en: https://www.renovacionterritorio.gov.co/especiales/especial_PDET/

Por otro lado, “la principal actividad agrícola del plátano y banano para exportación, demuestra la importante participación del Urabá en la economía nacional y regional de Suramérica como global” [62]. Al mismo tiempo, los campos plataneros y bananeros generan grandes cantidades de desechos sólidos y líquidos, algunos siendo contaminantes recalcitrantes al entrar en contacto con basura sintética. La exploración del presente documento amplifica la visión para el tratamiento u orientación y desarrollo de los residuos plataneros y bananeros estableciéndose un manejo ambiental, social y financiero sostenible.

En síntesis, el desarrollo de la presente propuesta es la posible utilización de los residuos provenientes de la cosecha de plátano para la producción de biopolímeros ambientalmente sostenibles, es decir, que su ciclo de degradabilidad sea más específico y acelerado en relación al de los plásticos convencionales (biopolímeros derivados de la industria petroquímica) mediante el uso de cepas bacterianas a través de la aplicación de procesos fermentativos.

Siendo los residuos lignocelulósicos un problema ambiental y también logístico para los gremios plataneros, debido a que se enfrentan a un sesgo al ignorar o tener nulo conocimiento en los posibles tratamientos que se pueden ejecutar con el material residual producto de la siembra y cosecha del plátano a fin de rentabilizar, termina desencadenando daños en los terrenos de cultivo como en los ecosistemas aeroterrestres. Es vital investigar y analizar las oportunidades de aprovechamiento de los residuos lignocelulósicos, asimismo del plátano rezagado para reducir el detrimento del medio ambiente gestionando una producción y consumo más responsable asignándole un valor agregado capaz de monetizar los residuos como capital sostenible.

En el intento de realizar un manejo adecuado para la recirculación e introducción en el mercado del raquis o vástago, el pseudotallo o las hojas de los cultivos de plátano (*Musa paradisiaca* L.) en territorio colombiano; se tienen iniciativas o propuestas que incrementan el valor de conversión de desechos lignocelulósicos como “la producción de abono orgánico por lixiviados del vástago o plátano desechado, la transformación de la fibra en hilos para la realización de artesanías y manualidades, papel a base del pseudotallo del plátano dado sus características mecánicas de elasticidad y rigidez típicas de la madera; además, se puede fabricar a gran escala etanol, butanol y alcohol carburante” [63]. Por otro lado, “el plátano rezagado o rechazado para su comercialización se reutiliza en la generación de dulce de plátano verde, fabricación de la hoja de envueltos, producción de harina de plátano para mezclar con concentrado animal e incluso la incursión en la obtención de tintes naturales y aromatizantes” [63]. Por consiguiente, se abordará un estudio de la posible aplicación comercial y el alcance que puede tener el uso del vástago de plátano (*Musa paradisiaca* L.) como sustrato fuente de carbono en la alimentación de los microorganismos creadores de biopolímeros PHA.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Identificar azúcares fermentables en el vástago de plátano como biomasa esencial para la producción de polihidroxicanoatos.

4.2 Objetivos específicos

- ✓ Caracterizar experimentalmente el vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*) como fuente de carbono para la fermentación.
- ✓ Establecer el pretratamiento e hidrolizado del vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*).
- ✓ Evaluar la cantidad de azúcares fermentables extraídos de la biomasa del vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*).
- ✓ Conceptuar un medio de azúcares fermentables del vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*) como sustrato para el microorganismo *Ralstonia Eutropha*.

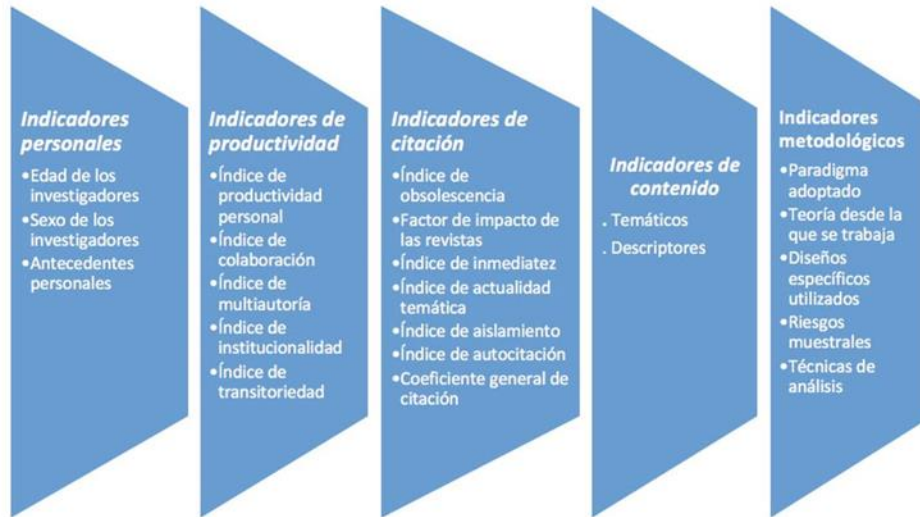
5. METODOLOGÍA

El presente proyecto titulado “Valorización del vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) en la elaboración de polihidroxicanoatos por fermentación con *Ralstonia Eutropha*” fue estructurado en dos componentes: teórico y práctico. El componente teórico se refiere a los conceptos imprescindibles en la exposición del documento respecto a los temas de los plásticos, su contaminación y alternativa de producción de biopolímeros. La estructura matricial de comparación entre tres cepas se caracterizó por describir variables que influyen en el proceso como la temperatura, el rendimiento y la producción celular en seco. El componente práctico es la cuantificación de azúcares reductores y caracterización de la biomasa para la valorización del vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) en situaciones fermentativas.

Para las consultas teóricas de los plásticos y la descripción de la matriz de comparación entre microorganismos, se realizó una búsqueda en las bases de datos digitales ScienceDirect, SpringerLink, VirtualPro, Wiley Online Library, sciELO, Web of Science y EBSCO host proporcionados por la Fundación Universidad de América. Previo a las consultas se realizó un estudio bibliométrico en Scopus con los términos de búsqueda tales como bioprocesos, biotecnología industrial, Vástago de plátano, *Musa Paradisiaca L.*, *Ralstonia Eutropha*, *Pseudomonas Oleovorans*, *Paracoccus Denitrificans* y Polihidroxicanoatos; con el fin de filtrar la información de los indicadores personales, productividad, citación, contenido y metodológicos parametrizado con las palabras claves del presente proyecto como se ilustra en la figura 15.

Figura 15

Indicadores bibliométricos



Nota. La figura representa los indicadores bibliométricos para el desarrollo de metodologías investigativas del proyecto. Tomada de: C. Flores – Fernández, R. Aguilera – Eguia, “Indicadores bibliométricos y su importancia en la investigación clínica. ¿Por qué conocerlos?”. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1134-80462019000500012

Una vez obtenido los resultados de interés en cada base de datos, se elaboró una revisión de resumen, introducción y palabras clave de los principales factores como generalidades, marcos teóricos, contaminación por plásticos, producción y caracterización de polihidroxicanoatos; pretratamientos y tratamientos de sacarificación a biomasa; las bacterias de mayor uso en producción de PHA y granulometría. De 300 documentos entre artículos, libros, tesis y noticias; se utilizaron 112 documentos y se citaron en RefWorks.

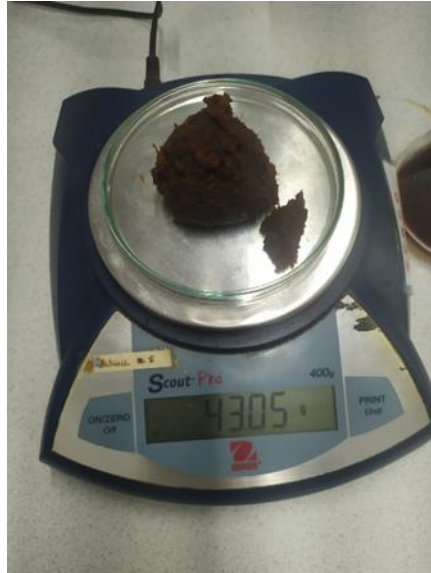
5.1 Evaluación del contenido de lignina inicial del vástago de plátano

Antes del pretratamiento al vástago de plátano en NaOH, se realizó la medición del contenido de lignina presente en la biomasa original. Para tal fin, se efectuó un análisis químico específico, como el método de Klason [64]. Se procedió con la medición siguiendo

las tres metodologías: la suscitada por Su, J., et al. [65], Sluiter, A., et al. [66] y Chen, Y., et al. [67]. Los autores previamente mencionados, aseveran que para determinar la lignina de la biomasa se debe iniciar con extraer una muestra representativa de la biomasa lignocelulósica. En el presente proyecto, se pesó 83 gramos de vástago de plátano, triturado y pulverizado hasta alcanzar un diámetro de partícula $\pm 0,4$ mm; referente y parametrizado comúnmente para la clasificación de tamaños de partícula de biomasa mediante tamizado en la norma ASTM E11 “Standard Specification for Woven Wire Test Sieve Cloth and Test Sieves”. Después, se llevó la muestra al horno a 30 °C durante 2 horas para eliminar la humedad en un beaker de 100 mL. Luego, se agregó ácido sulfúrico al 72 %; la relación de ácido sulfúrico concentrado es de 72 mL por cada 100 gramos de biomasa lignocelulósica, así que, para 83 gramos de biomasa se utilizó 59,76 mL de ácido sulfúrico. La muestra con el ácido se agitó durante 2 horas en baño maría a 160 °C en una plancha de agitación. Una vez cumplido el tiempo, se enfrió la muestra durante 20 minutos y se transfirió a un Erlenmeyer de 1000 mL que contenía 560 mL de agua destilada, arrojando una solución de ácido al 11 %. Posteriormente, se filtró la muestra sobre un embudo y papel filtro Whatman n° 1 durante 12 horas, con el fin de separar la lignina insoluble en ácido sulfúrico de los componentes solubles. A continuación, se enjuaga la lignina filtrada con agua destilada para remover restos de ácido sulfúrico y, por último, se agregó la lignina filtrada en un horno a temperatura de 105 °C durante 20 minutos. Este procedimiento se repitió en tres intervalos de 20 minutos, es decir, se regresó la lignina filtrada al horno tres veces hasta que se obtuvo un peso constante de 78,38 gramos como se ilustra en la balanza de la figura 16.

Figura 16

Muestra de lignina en la balanza (antes del pretratamiento con NaOH)



Nota. La figura representa la muestra de lignina filtrada, lavada con agua destilada y secada hasta obtener el peso constante de 78,38 gramos.

Por último, se calculó la cantidad de lignina presente en la muestra original al reemplazar los pesos en la siguiente fórmula:

$$\% L_i = \frac{w_2}{w_1} * 100 \{Cantidad\ de\ lignina\ inicial:\ ecuación\ 1\}^{[64]}$$

Donde $\% L_i$ = cantidad de lignina presente en la muestra inicial; w_2 = peso de la lignina obtenida después del análisis y w_1 = peso de la muestra inicial.

De esta forma, se obtuvo un porcentaje de lignina inicial de:

$$\% L_i = \frac{78,38\ g}{83\ g} * 100$$

$$\% L_i = 94,43 \%$$

5.2 Pretratamiento al vástago de plátano

El propósito de haber realizado un pretratamiento al vástago de plátano radica primordialmente en la alteración de la estructura de la biomasa lignocelulósica y remover la lignina; el biopolímero natural que inhibe la sacarificación y confiere soporte estructural, impermeabilidad, resistencia al ataque microbiano y estrés oxidativo a la pared celular de las plantas. Diferentes metodologías se han estudiado para eliminar la lignina de biomasa con el fin de mejorar la eficiencia de sacarificación; las más utilizadas son los pretratamientos mecánicos, térmicos, con vapor de agua, con agua caliente, ácido, alcalino y biológico. Para la selección de la tecnología experimental adecuada de pretratamiento se tuvo en cuenta el costo, la eficiencia del método, su nivel de desarrollo tecnológico y su impacto ambiental.

Para deslignificar el vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*), se siguió la ruta planteada por Saratale, G. D., et al. [1]; debido a su alto nivel de desarrollo tecnológico, considerable eficiencia, costo económico moderado y en términos ambientales puntúa medianamente sostenible debido al uso de compuestos químicos corrosivos como es el NaOH. La metodología propuesta por Saratale, G. D., et al.; en el artículo “Development of ultrasound aided chemical pretreatment methods to enrich saccharification of wheat waste biomass for polyhydroxybutyrate production and its characterization” [1], informa sobre el pretratamiento combinado de NaOH más ultrasonido para el proceso de deslignificación bajo las condiciones de concentración de NaOH al 2 % P/V a 20 kHz, durante 60 min y 2,0 g/mL de biomasa, a temperatura de 100 °C durante 30 minutos.

Las condiciones propuestas en el presente proyecto, considerando lo descrito por Saratale, G. D., et al. [1], consistió en purgar con agua desionizada los vasos de precipitado y todos los instrumentos a utilizar. Luego, se pesaron 2 kg de vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*) y se enjuagaron con agua desionizada para eliminar la suciedad como arena, tierra, insectos, entre otros elementos no deseados como se ilustra en la figura 17.

Figura 17

Trozos de vástago de plátano (Musa Paradisiaca L.)

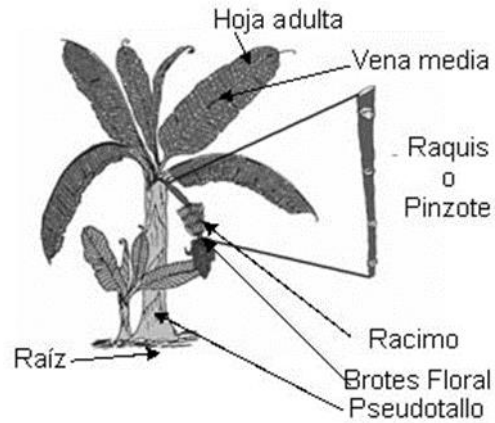


Nota. La figura representa los 2 kilogramos de vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) obtenida de un proveedor de plátanos en Corabastos, Bogotá DC traídos desde el Urabá.

Debido a que el plátano y banano son plantas de tamaño considerable, la fracción de la planta donde se ubica el vástago (pedúnculo como se describe en la figura 18) tiene una longitud que normalmente comprende los 100 cm a 250 cm.

Figura 18

Partes de la planta de plátano (Musa Paradisiaca L.)



Nota. La figura representa la composición de la planta de plátano (*Musa Paradisiaca L.*). Tomada de: Banabiosa, “¿Por qué la planta del banano es una hierba y no un árbol?”. Disponible en: <https://www.banabiosa.com/es/arbol-del-banano-o-planta-del-banano/>

Debido al gran tamaño del vástago, fue necesario fragmentarlo en trozos de menor tamaño a los 20 centímetros utilizando un cuchillo para lograr reducir las proporciones de los 2 kg de vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*) como se ilustra en la figura 19.

Figura 19

*Fragmentación por corte del vástago de plátano
(Musa Paradisiaca L.)*



Nota. La figura representa los filamentos internos una vez se corta el vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*).

Posteriormente se pesó 1 kg de trozos de vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*) y en una bandeja se situó el material dentro del horno durante 48 horas a temperatura constante de 100 °C, logrando deshumidificar el material como se ilustra en la figura 20.

Figura 20

Material de biomasa en el horno



Nota. La figura representa la biomasa Vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*), después del proceso de desecado en un horno.

Se retiró los trozos de vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*) del horno y se pesó para apreciar la disminución en la masa del material debido a que se eliminó la humedad obteniendo un material no cohesivo que fluiría con facilidad en el interior de la trituradora de martillos como en el molino de bolas. Por otro lado, se verificó con las manos la similitud del material a la madera de uso comercial, es decir, con alta rigidez. Más adelante, se introdujeron los trozos de vástago de plátano al interior de la trituradora de martillos durante 5 minutos y recirculando el material durante 1 hora y obtener mejor resultado de trituración. Una vez triturado el material, se desplazó al molino de bolas para pulverizar y lograr una molienda con diámetros medios de partícula reducidos como se ilustra en la figura 21. El proceso se realizó durante 1 hora y posteriormente se pesó el contenido obtenido. Por otro lado, se repitió el mismo proceso al kilogramo restante.

Figura 21

Biomasa del vástago pulverizado



Nota. La figura representa el vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) después de ser molido en la trituradora de martillos y el molino de bolas.

La molienda del material triturado y pulverizado obtuvo un diámetro de partícula que comprende los $\pm 0,05$ mm a los $\pm 3,35$ mm; considerado como el diámetro de partícula necesario para realizar el hidrolizado en ácido el material de biomasa equivalente a un diámetro de $\pm 0,40$ mm como lo tipifica la norma ASTM E11 “Standard Specification for Woven Wire Test Sieve Cloth and Test Sieves” para la clasificación de tamaños de partícula de biomasa lignocelulósica mediante tamizado. Una vez pulverizado el material en el molino de bolas, se introdujo en un conjunto de tamices normalizados acoplados verticalmente y estandarizados con las mallas que se muestran en la tabla 1.

Tabla 1

Mallas estandarizadas

Malla de tamiz
6
10
30
70
100
140
Tapadera

Nota. La tabla informa sobre las mallas utilizadas en el proceso de tamizado.

Por último, se sometió el conjunto de tamices a sacudidas mecánicas durante 40 minutos. Al finalizar el tamizado, se pesaron las masas retenidas en cada malla (flujo másico estático). Para realizar la caracterización granulométrica de partículas de sólidos homogéneos, se consideró la misma densidad que el material original, en este caso, el vástago de plátano. De manera que, “la forma de las partículas del vástago de plátano se puede expresar convenientemente en función de la esfericidad ϕ_s , debido a que es independiente del tamaño de partícula” [68]. Suponiendo que las partículas del vástago de plátano no son totalmente esféricas, es posible definir:

$$\phi_s \equiv \frac{6v_p}{D_p S_p} \{Forma de las partículas: ecuación 2\}^{[68]}$$

Donde D_p = diámetro equivalente o diámetro nominal de una partícula; S_p = área superficial de una partícula; v_p = volumen de una partícula.

La ecuación 2 se debe expresa en términos del área superficial de una partícula debido a que la medida no se hace por partícula sino aproximadamente por una masa infinita de partículas retenidas:

$$S_p = \frac{6v_p}{D_p \phi_s} \{Formas de las partículas: ecuación 2.2\}^{[68]}$$

“Para materiales granulares finos resulta difícil determinar con exactitud el volumen y el área de la superficie de una partícula. Generalmente D_p se toma como el tamaño nominal basado en el tamizado experimental. Considerando que las partículas uniformes son de diámetro D_p , el volumen de las partículas es x/ρ_p , el número de partículas en la muestra se describe cómo” [68]:

$$N = \frac{x}{\rho_p v_p} \{ \text{Tamaños de partículas mezcladas: ecuación 3} \}^{[68]}$$

“Dado que la cuantificación es experimental, la densidad ρ_p y la esfericidad ϕ_s de las partículas se tomarán como constantes y A_w ” [68] será igual a la ecuación 2.2 por la ecuación 3:

$$A_w = \frac{6x_p}{D_p \phi_s} * \frac{x}{\rho_p v_p}$$

$$A_w = \frac{6x_1}{\phi_s \rho_p \bar{D}_{p1}} + \frac{6x_2}{\phi_s \rho_p \bar{D}_{p2}} + \dots + \frac{6x_i}{\phi_s \rho_p \bar{D}_{pn}} = \frac{6}{\phi_s \rho_p} \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{\bar{D}_{pn}}$$

{Área de superficie total en muestra de diferentes diámetros de partículas: ecuación 4}[68]

Donde los subíndices equivalen a los incrementos individuales; x_i = fracción másica en un determinado incremento; n = número de incrementos; \bar{D}_{pi} = diámetro medio de las partículas tomado como media aritmética de los diámetros mayor y menor en el incremento.

“El tamaño medio de las partículas (diámetro medio) para una mezcla de las mismas, se parametriza con la ecuación de diámetro medio volumen – superficie (\bar{D}_s), que relaciona el área de la superficie específica (A_w)” [68]:

$$\bar{D}_s = \frac{6}{\phi_s A_w \rho_p} \{ \text{Diámetro promedio de la superficie: ecuación 5} \}^{[68]}$$

A partir de la ecuación 5 descrita anteriormente, se obtiene la ecuación 6 que relaciona “el área de la superficie total en muestras de diferentes diámetros de partículas con el diámetro promedio de la superficie” [68].

$$\bar{D}_s = \frac{1}{\sum_{i=1}^n \left(\frac{x_i}{D_{pi}} \right)} \{ \text{Área superficial y diámetro promedio ponderado: ecuación 6} \}^{[68]}$$

Una vez finalizado el tamizado, se escogieron tres vasos de precipitado de 250 mL y se llevó a cabo la preparación de 100 mL de solución alcalina diluida de NaOH con 0,5 % p/v, 2 % p/v y 3 % p/v en cada uno de los vasos y luego, se pesaron 30 gramos de la biomasa pulverizada retenida en la malla 70, la cual, abarca partículas con diámetro medio de $\pm 0,4$ mm y se depositaron las cantidades de la siguiente manera:

- En el vaso de solución alcalina diluida de NaOH al 0,5 % p/v se añadió la cantidad de 5 gramos de vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*) como se ilustra en la figura 22.
- En el vaso de solución alcalina diluida de NaOH al 2 % p/v se añadió la cantidad de 10 gramos de vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*) como se ilustra en la figura 22.
- En el vaso de solución alcalina diluida de NaOH al 3 % p/v se añadió la cantidad de 15 gramos de vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*) como se ilustra en la figura 22.

Figura 22

Preparación de las soluciones alcalinas junto con la biomasa retenida de la malla 70



Nota. La figura representa la matriz de pretratamientos realizados con la biomasa de la malla 70.

Con otros tres vasos de precipitado de 250 mL se preparó la misma matriz de soluciones alcalinas diluidas de NaOH con 0,5 % p/v, 2 % p/v y 3 % p/v y se agregaron 30 gramos de la biomasa pulverizada retenida en la malla 70 así como se indicó en la figura 22. De esta forma, se obtuvieron dos réplicas para el experimento con la biomasa de diámetro $\pm 0,4$ mm empleando un total de 60 gramos en dos réplicas.

Las seis soluciones de reacción se calentaron en la plancha de calentamiento Soxhlet hasta alcanzar una “temperatura interna de 100 °C durante 40 minutos, según lo estudiado y tipificado como condiciones lógicas de experimentación determinadas por Saratale, G. D., et al.”^[1] como se ilustra en la figura 23.

Figura 23

Calentamiento de las seis soluciones en plancha Soxhlet



Nota. La figura representa los seis ensayos de la malla 70 dentro de las cavidades de la plancha.

Luego, se retiraron los seis vasos de precipitado de la plancha de calentamiento Soxhlet permitiendo el enfriamiento de los mismos durante 30 minutos y con el pH – metro se registraron los datos del pH de las seis soluciones de reacción para el diseño experimental. Se retiró el material de reacción de los seis vasos para introducirlos en bolsas ziploc® referenciando el pH de las dos réplicas obtenidas por cada uno de los porcentajes de las soluciones alcalinas diluidas y la cantidad de biomasa, es decir, factor n° 1 vs factor n° 2. Por último, se enjuago con jabón más agua desionizada los seis vasos de precipitado de 250 mL y se realizaron los anteriores ensayos utilizando el material retenido en la malla 30 (biomasa de diámetro $\pm 1,29$ mm) y 100 (biomasa de diámetro $\pm 0,18$ mm) con la misma cantidad de masa (60 gramos para cada malla).

El pretratamiento de la solución de reacción finalizó con las muestras sobre la mesa agitadora orbital, como se ilustra en la figura 24, fijando las siguientes condiciones en el equipo:

- *Frecuencia = 20 kHz* [69].
- *Potencia = 2,0 W/mL* [69].

- *Tiempo de cavitación = 60 minutos* [69].

Figura 24

Soluciones de reacción en la mesa agitadora orbital



Nota. La figura representa la agitación de las muestras en la mesa agitadora orbital.

Las 18 muestras fueron retiradas de las bolsas ziploc® y se efectuó la filtración haciendo uso de papel filtro con embudos de laboratorio durante 24 horas como se ilustra en la figura 25.

Figura 25

Filtración de las muestras



Nota. La figura representa la filtración de las muestras pretratadas con NaOH

Posteriormente, las 18 muestras de biomasa son insertadas en el horno para su secado a temperatura de 60 °C durante 2 horas. En simultáneo, se tomó el pH de cada fluido filtrado de las 18 muestras cuya tonalidad es marrón dado que se encuentra gran parte de lignina extraída de la biomasa por acción del álcali (NaOH).

Aquellos fluidos filtrados de las muestras de biomasa que no cambiaron de pH respecto a los datos obtenidos en el diseño experimental, son las muestras que se utilizaron para la hidrólisis ácida. Nuevamente, se realizó un enfardado en bolsas ziploc® exclusivamente de la biomasa que no tuvo variación de pH respecto al diseño experimental y posterior a la filtración. Por último, la biomasa se guardó en frío a temperatura de 4 °C para la evaluación del contenido de lignina final y el proceso de sacarificación ácida. Las demás muestras son dispuestas adecuadamente en los recipientes rotulados como “producto reactivo peligroso”.

5.3 Uso investigativo e industrial de la lignina removida del vástago de plátano

La lignina removida durante el pretratamiento alcalino de biomasa lignocelulósica, como es el caso del vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) puede tener diversas aplicaciones y usos en diferentes industrias. “La lignina es un polímero complejo y versátil que presenta propiedades únicas, lo que la convierte en un subproducto valioso con potencial para diversas aplicaciones” [70]. Algunos de los usos comunes de la lignina removida incluyen:

1. **Biocombustibles y energía:** “La lignina se puede utilizar como materia prima para la producción de biocombustibles, como el bioetanol y el biogás, mediante procesos de conversión termoquímicos o bioquímicos” [71].
2. **Materiales compuestos:** “La lignina se puede incorporar en la fabricación de materiales compuestos, como tableros de partículas, paneles de fibras y bioplásticos, mejorando sus propiedades mecánicas y térmicas” [71].
3. **Aditivos para hormigón y cemento:** La lignina puede utilizarse como un aditivo en la industria del hormigón y el cemento, mejorando la trabajabilidad y la durabilidad del material [71].

4. **Fertilizantes y mejoradores del suelo:** “La lignina puede ser utilizada como un componente en la fabricación de fertilizantes y enmiendas del suelo, lo que mejora la retención de nutrientes y la estructura del suelo” [72].
5. **Productos químicos y materiales especiales:** La lignina se puede someter a procesos de refinamiento y modificación química para obtener productos químicos especializados, como fenoles, resinas y materiales adhesivos [72].
6. **Medicina y productos farmacéuticos:** La lignina ha mostrado potencial para aplicaciones médicas, como excipientes en formulaciones farmacéuticas y en la liberación controlada de fármacos [72].
7. **Productos de cuidado personal y cosméticos:** “La lignina se ha investigado como un ingrediente en productos de cuidado personal y cosméticos debido a sus propiedades antioxidantes y su capacidad para mejorar la estabilidad y la textura de las formulaciones” [72].

5.4 Evaluación del contenido de lignina después del pretratamiento alcalino

Para determinar la cantidad de lignina presente en la biomasa pretratada con NaOH, se repitió el mismo método de cuantificación de lignina utilizado antes de la hidrólisis con las condiciones operacionales del proceso descritas por Su, J., et al. [65], Sluiter, A., et al. [66] y Chen, Y., et al. [67]. Sin embargo, es vital acotar el único cambio existente: el uso de la biomasa retenida en la malla 70, la cual, contiene 115,66 gramos de vástago de plátano molido y pulverizado con diámetro de partícula $\pm 0,40$ mm debido a que se utilizó los parámetros de la norma ASTM E11 “Standard Specification for Woven Wire Test Sieve Cloth and Test Sieves” que establece las especificaciones y requisitos para los tamices y las mallas utilizadas en los análisis de tamaño de partícula por tamizado. El contenido de lignina final, se ilustra en la figura 26 al obtener un peso constante de 21,83 gramos.

Figura 26

Muestra de lignina en la balanza luego del pretratamiento con NaOH



Nota. La figura representa la muestra de lignina posterior al pretratamiento con NaOH y secada hasta obtener el peso constante de 21,83 gramos.

Finalmente, se calculó el contenido de lignina después del pretratamiento al reemplazar los pesos en la siguiente fórmula:

$$\% L_F = \frac{w_2}{w_1} * 100 \{ \text{Cantidad de lignina final: ecuación 7} \}^{[64]}$$

Donde $\% L_F$ = cantidad de lignina presente en la muestra final; w_2 = peso de la lignina obtenida después del análisis y w_1 = peso de la muestra inicial.

De esta forma, se obtuvo un porcentaje de lignina inicial de:

$$\% L_F = \frac{21,83 \text{ g}}{115,66 \text{ g}} * 100$$

$$\% L_F = 18,87 \%$$

5.5 Tratamiento hidrolítico al vástago de plátano

Para convertir la biomasa pretratada con NaOH en azúcares fermentables, se realizó la hidrólisis ácida utilizando H₂SO₄ al 98% y 36 N. Para el desarrollo de la hidrólisis se siguieron las metodologías de Brar, K. K., et al., “Enhanced hydrolysis of hydrothermally and autohydrolytically treated sugarcane bagasse and understanding the structural changes leading to improved saccharification” [2] como la de Li, M., Wilkins, M., “Recent advances in polyhydroxyalkanoate production: Feedstocks, strains and process developments” [3], las cuales informan detalladamente las condiciones de operación como efecto que tienen los parámetros de agitación, concentración de ácido, masa y temperatura sobre el grado de hidrólisis del sustrato. La masa que Li, M., Wilkins, M. [3] probaron estuvo en el intervalo de 5 gramos hasta 40 gramos y la agitación de 100 a 250 rpm. La temperatura y el tiempo de reacción fueron evaluados en el intervalo de 30 a 90 °C y de 2 a 6 h, respectivamente. El tamaño de partícula probado fue de 0,5 mm y para todos los casos el volumen de reacción fue de 50 mL. Por otro lado, Brar, K. K., et al. [2], utilizó masa en el intervalo de 22 gramos a 100 gramos y agitación de 180 rpm. La temperatura y el tiempo de reacción en intervalos de 44,5 °C a 100 °C y de 3 a 12 h, respectivamente. Según Jimenez, D., et a.; en el ensayo “*Obtención de azúcares fermentables mediante hidrólisis ácida de Beta vulgaris L.*” [73] llevó a cabo la hidrólisis en matraces Erlenmeyer de 125 ml que contenían 10 gramos de biomasa picada y 50 mL de H₂SO₄ en concentraciones de 0, 0.05, 0.5, 1, 2 y 3 N. Los matraces fueron incubados a 30 °C a 150 rpm en un agitador orbital. Después de 24 y 48 h de reacción se cuantifican los azúcares totales y se realizaron algunas pruebas para identificación de xilosa.

Primero se lavaron con agua desionizada y jabón los tres matraces Erlenmeyer, los vasos de precipitado y los embudos. Se preparó en los tres Erlenmeyer de 250 mL la cantidad de 50 mL de H₂SO₄ en concentraciones de 0,1 N, 0,5 N y 1 N como se ilustra en la figura 27. El ácido sulfúrico se encuentra en 98 % de pureza y normalidad equivalente a 36 N. Se realizaron los cálculos correspondientes para determinar las

cantidades de H_2SO_4 de concentración y diluirse en agua desionizada para aforar a 50 mL.

Figura 27

Preparación de los 50 mL de H_2SO_4 con las concentraciones 0,1N, 0,5N y 1N



Nota. La figura representa la titulación para la preparación de las tres concentraciones de H_2SO_4 .

Se extrajo las bolsas ziploc® de la nevera que contienen la biomasa pretratada. Luego, se vertió en cada uno de los tres vasos de precipitado la biomasa del vástago de plátano (*Musa paradísica L.*) pretratada en las cantidades descritas en la tabla 2.

Tabla 2

Cifras del vástago de plátano, del tratamiento con NaOH y H₂SO₄

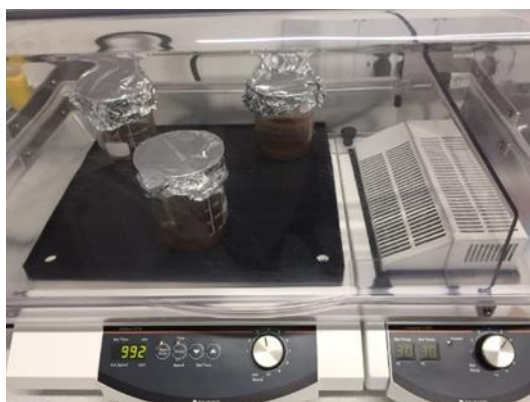
Vasos de precipitado	Biomasa pretratada	Concentración de NaOH	Concentración de H ₂ SO ₄
1	5 g	0,5 % p/v	0,1 N
2	10 g	2,0 % p/v	0,5 N
3	15 g	3,0 % p/v	1 N

Nota. La proporción de concentración de H₂SO₄ se aplica de menor a mayor respecto a la concentración y biomasa pretratada

Asimismo, se adiciona en cada vaso con biomasa la solución de H₂SO₄, situando las tres soluciones de reacción en la mesa agitadora orbital a 150 rpm durante 1 hora. Luego, se situaron las muestras en la incubadora Unimax 1010 para lograr el mayor rompimiento de enlaces moleculares de los polisacáridos presentes en la hemicelulosa y obtener una solución de monosacáridos fermentables como se ilustra en la figura 28. Se debe tener en cuenta que la incubadora debe estar con las muestras durante 48 horas con agitación constante de 150 rpm y temperatura de 35 °C.

Figura 28

Incubadora Unimax 1010 con las muestras utilizadas en la hidrólisis ácida



Nota. La figura representa las muestras en el proceso final de la hidrólisis ácida.

Posteriormente, se quitaron las muestras de la incubadora para realizar la filtración utilizando embudos y papel de filtro durante 48 horas. Luego de filtrar, se midió el pH de los fluidos de las muestras filtradas utilizando el pH – metro. El color del fluido hidrolítico es similar al aceite refinado como se ilustra en la figura 29.

Figura 29

Obtención de compuestos hidrolíticos



Nota. La figura representa el fluido extraído de la biomasa del vástago de plátano después de la hidrólisis ácida. El color se debe al contenido, pues, es azúcares fermentables producto del pretratamiento y tratamiento con NaOH y H₂SO₄, respectivamente.

En este líquido, se encuentran los monosacáridos disueltos siendo el medio abundante en azúcar fermentable para la inoculación de microorganismos afines a los monosacáridos. El fluido hidrolítico (producto de la sacarificación) se cubrió con papel aluminio y se dejó en reposo por 5 horas para realizar la cuantificación de azúcares mediante el método DNS.

5.6 Cuantificación de azúcares reductores del sustrato a través del método DNS

Para determinar el contenido de azúcares reductores del sustrato generado durante la hidrólisis ácida del vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*), se aplicó el método experimental del ácido 3,5 – dinitrosalicílico (DNS) para cada muestra de estudio como lo estipulo el manuscrito de Miller, G.; “Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for

Determination of Reducing Sugar” [4], en el cual, preparó concentraciones de 0 g/L, 0,5 g/L, 0,7 g/L, 1,0 g/L, 1,5 g/L, 1,7 g/L y 2,0 g/L y luego añadió 0,25 mL de cada solución y 0,25 mL del reactivo DNS en tubos tapa rosca cubiertos con papel aluminio para proteger la reacción de la luz. El uso de DNS es un método colorimétrico para determinar absorbancias de luz a una longitud de onda equivalente a 540 nm. Basado en la experimentación de Miller, G., se preparó el reactivo DNS pesando “1,6 gramos de NaOH y situándose en un vaso de precipitado de 250 mL previamente lavado y secado” [4]. Posteriormente, se agregó 50 mL de agua destilada hasta disolver el NaOH completamente, luego se aplicó 43,8 gramos de tartrato de Na – K lentamente hasta disolverse por completo la solución a través de agitación magnética. Después, se anexó 1 gramo de ácido 3,5 – dinitrosalicílico (DNS). Una vez agregado el DNS en el interior del vaso de precipitado de 250 ml, fue importante cubrir completamente el vaso con papel aluminio para evitar que la luz atravesase las paredes y el contenido debido a que el reactivo DNS cambia sustancialmente al estar en contacto con la luz. En seguida, se aforó la solución hasta 100 mL con agua destilada en un balón aforado de 100 mL y se dejó en agitación durante 2 horas. Por último, se envasó el reactivo en un frasco ámbar, el cual, también tenía que estar forrado con papel aluminio evitando el contacto lumínico como se ilustra en la figura 30.

Figura 30

*Preparación del reactivo
DNS para la cuantificación
de azúcares reductores*



Nota. La figura representa la producción del reactivo DNS para efectuar la cuantificación de azúcares reductores.

En la preparación de la solución patrón de glucosa, se utilizaron concentraciones de 1 g/L, 3 g/L, 5 g/L y 8 g/L como se ilustra en la figura 31 con el fin de ampliar el rango de absorbancia y tener concentraciones a una escala compaginable con datos industriales a diferencia de lo propuesto por Miller, G. [4].

Figura 31

Preparación de la solución patrón de glucosa y las concentraciones de 1 g/L, 3 g/L, 5 g/L y 8 g/L

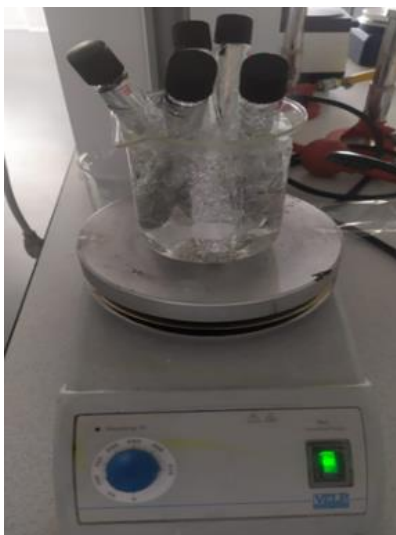


Nota. La figura representa la disolución patrón de glucosa, así como las concentraciones

La preparación se realizó en tubos de tapa rosca lavados, secados y cubiertos con papel aluminio para proteger la reacción de la luz. Se añadió 1 mL de solución de glucosa y 1 mL del reactivo DNS. Luego, los tubos se llevaron a baño termostático a 92 °C durante 5 minutos como se ilustra en la figura 32.

Figura 32

Baño termostático de las muestras en los tubos de tapa rosca



Nota. La figura representa la fase final de realización de las muestras a introducir en el espectrofotómetro.

Se detuvo la reacción por enfriamiento en hielo por 10 minutos y se unió 4 mL de agua destilada a cada tubo. Se agitó para efectuar la lectura de la absorbancia a 540 nm en el espectrofotómetro. Para preparar el blanco de calibración, se utilizó 1 mL de agua y 1 mL de reactivo DNS; se sometió a las mismas condiciones del baño termostático y enfriamiento para luego añadir 4 mL de agua destilada.

6. RESULTADOS

6.1 Estudio granulométrico

La solución empieza con información del peso de recolección de la materia prima, después de pasar por el horno, luego de molerse en la trituradora de martillos y posteriormente por el molino de bolas. Se debe considerar que en cada fase hay pérdida de material respecto al peso por deshumidificación de la biomasa, desplazamiento del material entre equipos y partículas del material suspendido o disperso en la zona de trabajo como se ilustra en la tabla 3. Por último, se justificaron los resultados presentes con aquellos propuestos por los autores.

Tabla 3

Cifras de la materia prima en cada una de las fases del proceso

Fase del proceso	Peso de la biomasa
Recolección de la materia prima	2 kg
Materia prima extraída del horno	1200 g
Materia prima extraída de la trituradora de martillos	1100 g
Materia prima extraída del molino de bolas	1000 g

Nota. En la esta tabla se informa la reducción del peso de la recolección de 2 kg.

Según lo demostrado en la operación de los sólidos; se puede deducir de la tabla 3 que la mayor disminución de peso se generó después de eliminar la humedad de la biomasa lignocelulósica, es decir, al extraerse del horno. Se determinó que, por cada kilogramo de vástago recolectado, se dispone de 600 gramos de vástago seco al deshumidificar en el horno. Posteriormente, al trasladar el vástago a la trituradora de martillos y retirarse del equipo, para los ensayos realizados se desperdició 50 gramos por dispersión de material permaneciendo 550 gramos por cada kilogramo para un total de 1100 gramos. Por último, la biomasa se sitúa en el molino de bolas y la cantidad que se extrae postratamiento es equivalente a 500 gramos por cada kilogramo, es decir, se desaprovechó 100 gramos por cada kilogramo al haber pérdida del material de partículas pequeñas. En conclusión, se utilizó 500 gramos de materia prima para el proceso de tamizado e hidrolizado ácido y los 500 gramos restantes, se usaron en la caracterización

de la biomasa (porcentaje de humedad, material volátil, cuantificación de cenizas y carbono fijo).

Para dar solución de las masas obtenidas en cada tamiz en términos de la fracción másica y fracción másica acumulada se presenta como:

- Fracción másica para el tamizado obtenido:

$$f_{\text{tamizado}} = m_{\text{malla } 6} + m_{\text{malla } 10} + m_{\text{malla } 30} + m_{\text{malla } 70} + m_{\text{malla } 100} + m_{\text{malla } 140} + m_{\text{tapadera}}$$

{Fracción másica para tamizaje: ecuación 8}^[68]

$$f_{\text{tamizado}} = 40,87 \text{ g} + 70,21 \text{ g} + 142,95 \text{ g} + 115,66 \text{ g} + 91,65 \text{ g} + 37,42 \text{ g} + 1,24 \text{ g}$$

$$f_{\text{tamizado}} = 500 \text{ g}$$

- La fracción másica retenida de material en cada malla se calculó como:

$$\frac{m_{\text{malla } n}}{f_{\text{tamizado}}} = f_{\dot{m}} \text{ {Fracción másica retenida: ecuación 9}}^{\text{[68]}}$$

Donde: $m_{\text{malla } n}$ = Masa retenida por la malla en cuestión; f_{tamizado} = Flujo másico total retenido en todas las mallas en cuestión; $f_{\dot{m}}$ = Fracción másica retenida.

➤ Malla 6

$$\frac{40,87 \text{ g}}{500 \text{ g}} = 0,08174 \text{ g}$$

Los cálculos de la fracción másica retenida para las demás mallas se encuentran en el anexo 1.

- El diámetro medio de las partículas fue calculado como:

$$\frac{A_{\text{malla } n} + A_{\text{malla } n+1}}{2} = D_{\text{partículas}} \text{ {Diámetro medio de las partículas: ecuación 10}}^{\text{[68]}}$$

Donde: $A_{\text{malla } n}$ = Abertura del tamiz \bar{D}_{pi} (mm) de la malla anterior; $A_{\text{malla } n+1}$ = Abertura del tamiz \bar{D}_{pi} (mm) de la malla posterior; $D_{\text{partículas}}$ = Diámetro medio de las partículas.

➤ Malla 6

$$\frac{3,35 + 3,35}{2} = 3,35$$

Los cálculos del diámetro medio de las partículas para las demás mallas se encuentran en el anexo 1.

- La fracción acumulativa inferior se calculó como:

$$f_{\hat{a}-1} + f_{\hat{m}} = f_{\hat{a}} \{ \text{Fracción acumulativa inferior: ecuación 11} \}^{[68]}$$

Donde: $f_{\hat{a}-1}$ = Resultado anterior de la fracción acumulativa inferior; $f_{\hat{m}}$ = Fracción másica retenida; $f_{\hat{a}}$ = Fracción acumulativa inferior.

➤ Tapadera (malla 0)

$$2,48 \times 10^{-3}$$

La tapadera cuenta como resultado de la fracción acumulativa inferior.

➤ Malla 140

$$2,48 \times 10^{-3} + 0,07484 = 0,07732$$

Los cálculos de la fracción acumulativa inferior para las demás mallas se encuentran en el anexo 1. Los resultados generados se tabularon en la tabla 4.

Tabla 4*Resultados del tamizado de la materia prima*

Mallas	Masa obtenida en laboratorio (g)	Abertura del tamiz \bar{D}_{pi} (mm)	Fracción másica retenida x_i	Diámetro medio de las partículas \bar{D}_{pi} (mm)	Fracción acumulativa inferior a \bar{D}_{pi}
6	40,87	3,35	0,08174	3,35	1
10	70,21	1,99898	0,14042	2,67449	0,91826
30	142,95	0,59436	0,2859	1,29667	0,77784
70	115,66	0,21082	0,23132	0,40259	0,49194
100	91,65	0,14986	0,1833	0,18034	0,26062
140	37,42	0,10414	0,07484	0,127	0,07732
Tapadera	1,24	--	$2,48 \times 10^{-3}$	0,05207	$2,48 \times 10^{-3}$

Nota. En la tabla se relacionan los diámetros de partícula y el flujo másico estático retenido en las mallas (granulometría).

Asimismo, se observa que la malla 30 retuvo la mayor cantidad de masa y la malla 70 fue la segunda malla con mayor masa retenida, lo cual, significa que el proceso de pulverización fue eficiente.

Los cálculos de la masa acumulada, el porcentaje acumulado y el porcentaje retenido para la sección del tamizado se realizaron previamente.

- La masa acumulada fue calculada como:

$$m_{1+n} + m_{n+2} = m \{Masa\ acumulada: ecuación\ 12\}^{[68]}$$

Donde: m_{1+n} = Masa obtenida en laboratorio; m_{n+2} = Masa de la malla en cuestión; m = Masa acumulada de la malla en cuestión.

- Malla 6

$$40,87\ gramos$$

La masa de la malla 6 cuenta como masa acumulada de la malla 6.

- Malla 10

$$40,87\ gramos + 70,21\ gramos = 111,08\ gramos$$

Los cálculos de la masa acumulada para las demás mallas se encuentran en el anexo 2.

- El porcentaje acumulado se determinó como:

$$\frac{m}{\sum m} = \% p_a \{Porcentaje\ acumulado: ecuación\ 13\}^{[68]}$$

Donde: m = Masa acumulada de la malla en cuestión; $\sum m$ = Sumatoria de todas las masas acumuladas de las mallas; $\% p_a$ = Porcentaje acumulado.

- Malla 6

$$\frac{40,87\ gramos}{500\ gramos} * 100 = 8,174\ \%$$

Los cálculos del porcentaje acumulado se encuentran en el anexo 2.

- El porcentaje retenido se obtuvo como:

$$\frac{m_{1+n}}{\sum m} = \% p_r \{Porcentaje\ retenido: ecuación\ 14\}^{[68]}$$

Donde: m_{1+n} = Masa obtenida en laboratorio; $\sum m$ = Sumatoria de todas las masas acumuladas de las mallas; $\% p_r$ = Porcentaje retenido.

➤ Malla 6

$$\frac{40,87 \text{ gramos}}{500 \text{ gramos}} * 100 = 8,174 \%$$

Los cálculos del porcentaje retenido para las demás mallas se encuentran en el anexo

2. Los resultados generados se describen en la tabla 5.

Tabla 5

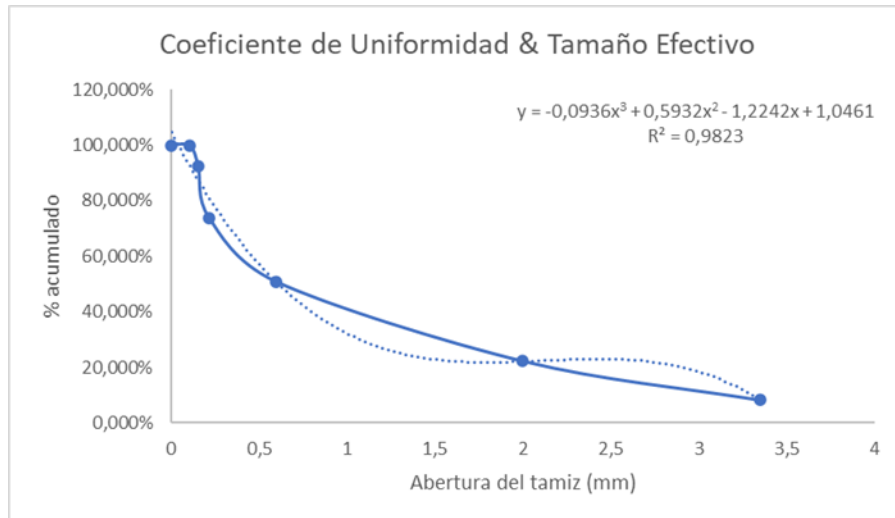
Cifras de los flujos másicos estáticos acumulados y retenidos

Masa acumulada (gr)	Porcentaje acumulado	Porcentaje retenido
40,87	8,174 %	8,174 %
111,08	22,216 %	14,042 %
254,03	50,806 %	28,59 %
369,69	73,938 %	23,132 %
461,34	92,268 %	18,33 %
498,76	99,752 %	7,484 %
500	100 %	0,248 %

Nota. En la tabla se describen los cálculos acumulados de masa y los porcentajes (granulometría). Se estimó que entre la malla 30 y 70 se retuvo gran cantidad de material particulado debido a que el flujo de partículas de diámetro $\pm 0,40$ mm se depositaron sobre ambos tamices. De modo que, si se acomoda un tamiz de una malla con abertura de tamiz mayor a 0,210 mm y menor a 0,594 mm, la separación de material tendría una distribución más equitativa

Figura 33

Coefficiente de uniformidad y tamaño efectivo



Nota. En la gráfica se halló coeficiente de uniformidad y el tamaño efectivo al estar relacionado por el porcentaje acumulado y la abertura del tamiz. Al utilizarse tamices de abertura pequeña, se logró retener gran cantidad de material debido a la molienda y pulverización del vástago de plátano, logrando un diámetro de partícula pequeño y el bajo uso del reactivo NaOH.

Por medio de la ecuación $y = -0,0936x^3 + 0,5932x^2 - 1,2242x + 1,0461$ se calculó el tamaño efectivo en el tamiz y posteriormente el coeficiente de uniformidad. El tamaño efectivo corresponde a la abertura de la malla que acumula el 90% del material en un proceso de tamizado. Es decir, las mallas tienen una abertura correspondiente, el material que queda sobre la superficie del tamiz serán aquellas partículas de gran tamaño que no logran filtrarse a través de la malla y otras de menor tamaño que si se filtraran, así que, al incrementar el diámetro de abertura se retendrá menos del 90% del material.

$$TE = D_{90} \equiv y = 0,90$$

$$y = -0,0936x^3 + 0,5932x^2 - 1,2242x + 1,0461$$

Reemplazando datos:

$$0,90 = -0,0936x^3 + 0,5932x^2 - 1,2242x + 1,0461$$

$$x_{90} = 0,1270024$$

$$TE = D_{90}$$

$$TE = (0,1270024)_{90}$$

El coeficiente de uniformidad se define como la relación de las aberturas de la malla que acumula el 40% y la malla que acumula el 90%.

Ahora hallando para $x = 40\%$:

$$TE = D_{40} \equiv y = 0,40$$

$$y = -0,0936x^3 + 0,5932x^2 - 1,2242x + 1,0461$$

Se reemplaza datos:

$$0,40 = -0,0936x^3 + 0,5932x^2 - 1,2242x + 1,0461$$

$$x_{40} = 0,7966335$$

Por último, se calculó el coeficiente de uniformidad:

$$CU = \frac{D_{40}}{D_{90}} \{Coeficiente\ de\ uniformidad: ecuación\ 15\}^{[68]}$$

$$CU = \frac{(0,7966335)_{40}}{(0,1270024)_{90}} = 6,27258618$$

El coeficiente de uniformidad obtenido evidencia que los diámetros D_{90} y D_{40} difieren en tamaño de partícula considerablemente, de manera que, no se encuentra relación en el diámetro de las partículas de la masa analizada en el rango D_{90} y D_{40} .

El análisis diferencial y acumulativo por tamizado fue calculado mediante el uso de los datos de diámetro medio de las partículas y los porcentajes obtenidos en el análisis acumulativo descritos en la tabla 6.

Tabla 6*Cifras del análisis diferencial y acumulativo*

Análisis Diferencial		Análisis acumulativo	
Diámetro medio de las partículas \bar{D}_{pi} (mm)	%	% de mayores	% de menores
3,35	8,174	8,174	91,826
2,67449	14,042	22,216	77,784
1,29667	28,59	50,806	49,194
0,40259	23,132	73,938	26,062
0,18034	18,33	92,268	7,732
0,127	7,484	99,752	0,248
0,05207	0,248	100	0

Nota. En esta tabla se describen los porcentajes de mayores y menores respecto al cálculo de material retenido (granulometría).

- El porcentaje de mayores (análisis acumulativo) se calculó como:

$$\% p_r + \% p_{r+1} = \% p_m \{ \text{Porcentaje de mayores: ecuación 16} \}^{[68]}$$

Donde: $\% p_r$ = Porcentaje retenido de la malla anterior; $\% p_{r+1}$ = Porcentaje retenido de la malla en cuestión; $\% p_m$ = Porcentaje de mayores.

- Tapadera (malla 0)

$$99,752 \% + 0,248 \% = 100 \%$$

Los cálculos del porcentaje de mayores para las demás mallas se encuentran en el anexo 3.

- El porcentaje de menores (análisis acumulativo) se calculó como:

$$\sum \% p_m - \% p_{m+1} = \% p_s \{ \text{Porcentaje de menores: ecuación 17} \}^{[68]}$$

Donde: $\sum \% p_m$ = Total del porcentaje de mayores; $\% p_{m+1}$ = Porcentaje de mayores de la malla en cuestión; $\% p_s$ = Porcentaje de menores.

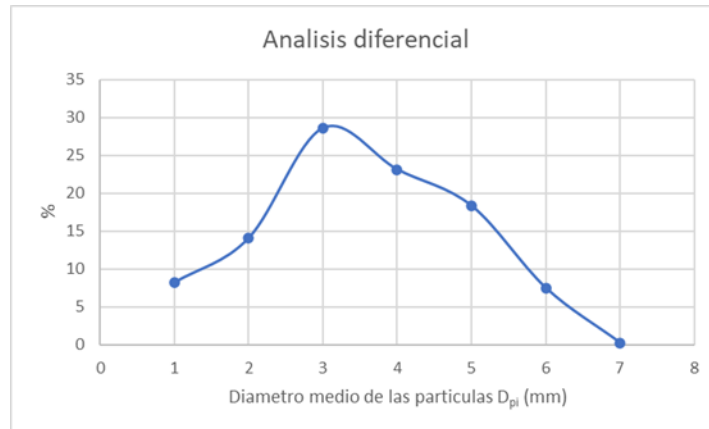
- Malla 6

$$100 \% - 8,174 \% = 91,826 \%$$

Los cálculos del porcentaje de menores para las demás mallas se encuentran en el anexo 3. La gráfica del análisis diferencial y el análisis acumulativo por tamizado es posible ilustrarlo en las gráficas 2 y 3, respectivamente.

Figura 34

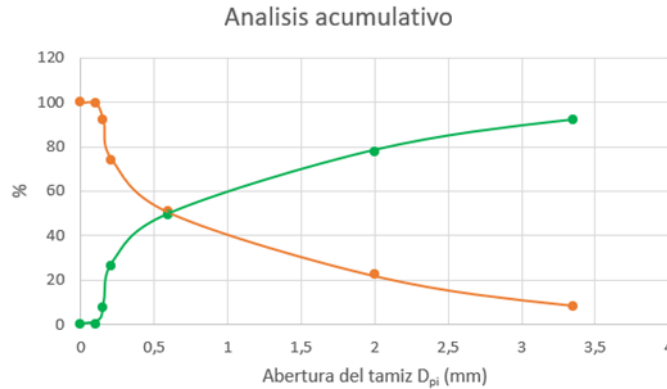
Análisis diferencial



Nota. En esta gráfica se ilustra la relación entre el porcentaje de retenidos en las mallas respecto al diámetro de partícula de la masa. Se denota que gran parte de la masa retenida se encuentra en el intervalo 3 y 4, los cuales, hacen referencia a la malla 30 y 70. Esto demuestra que la biomasa tratada en la granulometría adquirió un diámetro de partícula muy pequeño y la elección de los tamices fue la apropiada. La tendencia de la gráfica de aumentar se debe a que la malla inicial tendrá una abertura grande permitiendo el paso de gran cantidad de material; la disminución de la gráfica se debe a que el menor flujo másico quedará en las últimas mallas de diámetros más pequeños hasta alcanzar la tapadera (intervalo 7 de la gráfica).

Figura 35

Análisis acumulativo



Nota. En esta gráfica se ilustra la relación entre el porcentaje de retenidos en las mallas respecto a la abertura del tamiz.

La conversión para las unidades de % p/v de NaOH a gramos de NaOH para las tres concentraciones se calcularon así:

1. Concentración de 0,5 % p/v

$$\% \frac{p}{v} = \frac{0,5 \text{ gramos soluto NaOH}}{100 \text{ ml solución H}_2\text{O}} = 0,005 \text{ gramos soluto NaOH}$$

2. Concentración de 2,0 % p/v

$$\% \frac{p}{v} = \frac{2,0 \text{ gramos soluto NaOH}}{100 \text{ ml solución H}_2\text{O}} = 0,02 \text{ gramos soluto NaOH}$$

3. Concentración de 3,0 % p/v

$$\% \frac{p}{v} = \frac{3,0 \text{ gramos soluto NaOH}}{100 \text{ ml solución H}_2\text{O}} = 0,03 \text{ gramos soluto NaOH}$$

6.2 Justificación de los resultados del estudio granulométrico

Los datos que fueron obtenidos en la sección granulométrica al realizar la fragmentación de la biomasa (proceso anterior al pretratamiento alcalino), tuvo como objetivo reducir el vástago de plátano en un material fácil de manipular dentro de los equipos y utilizar cantidades adecuadas de compuestos químicos. Sin embargo, los beneficios desde el

enfoque ingenieril que se tienen al fragmentar la biomasa lignocelulósica en trozos pequeños es alcanzar reducción de tamaño de las partículas como de la cristalinidad. La reducción de tamaño de las partículas conduce a un aumento de la superficie de contacto específica y una reducción del grado de polimerización, lo cual, permite el incremento en el rendimiento de la hidrólisis del vástago de plátano.

De esta forma, la molienda y pulverización del vástago de plátano se realizó con 2 kg de vástago, del cual, solo se recuperó 1000 g debido a la pérdida de material en el constante transporte entre diferentes equipos, elementos de laboratorio, entre otros. Este problema demuestra que solo se utilizó el 50 % de la biomasa total (los 2 kg de vástago de plátano). Por ende, es vital contar con equipos especializados al momento de realizar un proceso de reducción de sólidos e investigar métodos que minimicen la pérdida de material, teniendo en cuenta que los sólidos particulados siempre se dispersan generando pérdidas de material.

La segunda malla que más material retuvo fue la 70 (115,66 g), la cual, cumplió con un diámetro de partícula $\pm 0,40$ mm. Este material junto con el retenido por la malla 30 y 100 (142,95 g y 91,65 g, respectivamente) fueron utilizados durante todo el proceso debido a que se aproximaban a los diámetros de partícula trabajados por Saratale, G. D., et al. (2020) [1]; el cual, utilizó biomasa de trigo que visualmente se asemejaba al vástago de plátano pulverizado. Por otro lado, Nuraya, S., Baharin, A. y Azura, R. [74], realizó un estudio sobre el tiempo de molienda con residuos de vástago de plátano. Inicialmente, preuso la biomasa para eliminar el exceso de agua, luego deseco en un horno a 100 °C durante 2 horas, por último, molió y tamizo obteniendo partículas ± 53 μ m, el cual, fue útil a la hora de realizar películas de látex que contenían partículas de vástago de plátano con mayor elongación, resistencia a la tracción y al desgarro. Asimismo, realizaron un pretratamiento con concentraciones bajas de NaOH. Sin embargo, para obtener diámetros de partículas tan pequeños es necesario contar con los equipos especializados que utilizó Nuraya, S., Baharin, A. y Azura, R. [74] y respecto al presente proyecto de valorización del vástago de plátano, serviría para suprimir el pretratamiento alcalino (NaOH) dado que un diámetro de partícula pequeño ofrecería un pretratamiento mecánico y luego aplicarse el tratamiento ácido para deslignificar y al mismo tiempo

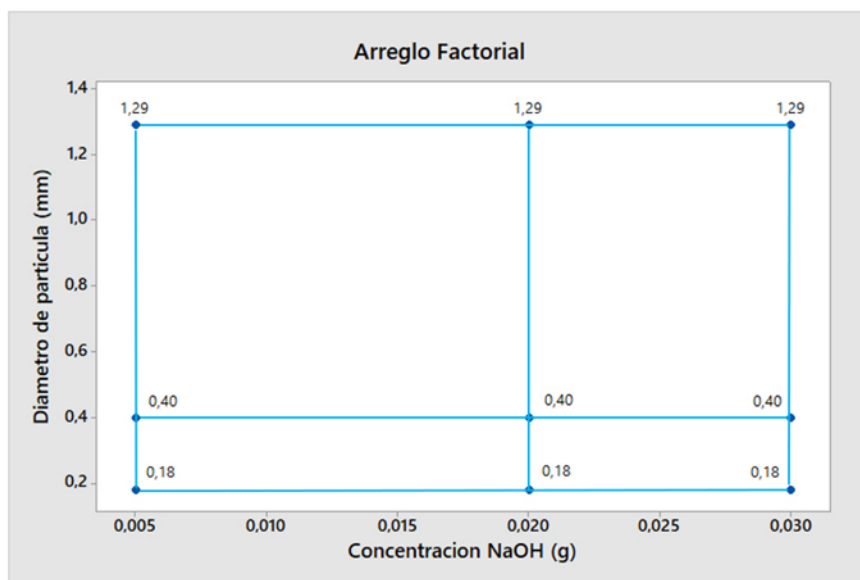
hidrolizar azúcares. Por otro lado, Nuraya, S., Baharin, A. y Azura, R. [74]; realizó el cálculo de coeficiente de uniformidad, el cual, fue alto para la relación de la abertura de la malla D_{50} a 48 horas ($10,0 \mu\text{m}$) y a 78 horas ($6,0 \mu\text{m}$) denotando disparidad y nula relación en el diámetro de partícula de las muestras de biomasa a 48 horas y 78 horas debido a que la biomasa cada vez se pulveriza si dura más tiempo moliendo. Para el presente proyecto, la relación de abertura de las mallas D_{90} y D_{40} se obtuvo un coeficiente de uniformidad de 6,27 mm siendo disparate el tamaño de partícula entre las muestras analizadas sin encontrarse uniformidad alguna.

6.3 Diseño experimental del pretratamiento alcalino

Para desarrollar el diseño de experimento 3×3 del pretratamiento con NaOH se tuvo en cuenta los dos factores, cada uno con tres niveles y dos réplicas de ensayo. Las combinaciones de tratamientos del diseño experimental 3×3 se representan geométricamente en la gráfica 4. Dado que están presentes $3^2 = 9$ combinaciones de tratamientos, ocho grados de libertad entre las combinaciones de tratamientos; los efectos principales de A (factor n° 1) y B (factor n° 2) tienen dos grados de libertad cada uno. La interacción AB tiene cuatro grados de libertad. Sin embargo, si hay n réplicas, habrá $n3^2 - 1$ grados de libertad totales y $3^2(n - 1)$ grados de libertad del error. Por último, se justificaron los resultados presentes con aquellos propuestos por los autores.

Figura 36

Diseño geométrico “arreglo factorial”



Nota. En la gráfica se esclarece el arreglo factorial dimensional del diseño experimental 3x3, en la cual, se toma la interacción ejecutable entre el factor A (Concentración de NaOH) y el factor B (Diámetro de partícula) dibujando bloques lineales al conectarse entre puntos, pero, difieren entre cada interacción AB reflejado en los resultados.

- ✓ Factor n° 1: Rango de concentraciones del compuesto NaOH.
 - Concentración 1: 0,5 % p/v equivalente a 0,005 gramos.
 - Concentración 2: 2,0 % p/v equivalente a 0,02 gramos.
 - Concentración 3: 3,0 % p/v equivalente a 0,03 gramos.
- ✓ Factor n° 2: Cantidad de biomasa (flujo másico estático) para diferentes diámetros de partícula.
 - Cantidad de biomasa (flujo másico estático) n° 1: 142,95 gramos y diámetro 1,29 mm en malla 30.
 - Cantidad de biomasa (flujo másico estático) n° 2: 115,66 gramos y diámetro 0,40 mm en malla 70.

- Cantidad de biomasa (flujo másico estático) n° 3: 91,65 gramos y diámetro 0,18 mm en la malla 100.

En el diseño experimental 3x3 entre el factor A de concentraciones del compuesto NaOH vs el factor B de los diámetros de partícula descrito en la tabla 7, se realizó mediciones de pH y el posible efecto que genera las concentraciones de NaOH en variaciones de diámetros de partícula de la pulverización del vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*) previamente tamizado, de tal forma que, se estableció un pH aproximadamente neutro comprendido entre 7,0 y 7,1 para una correcta deslignificación, además de conocer el diámetro de partícula adecuado para una eficiente hidrólisis ácida.

Tabla 7

Factores A y B como variables manipulables

Factores	
A	B
Concentración NaOH (g)	Diámetro de partícula (mm)
0,005	1,29
	0,4
	0,18
0,02	1,29
	0,4
	0,18
0,03	1,29
	0,4
	0,18

Nota. En esta tabla se abarca las principales características que conforman al factor A y B de manera independiente. Sin embargo, al ser un diseño factorial será eficiente la interacción entre los factores, evitando conclusiones erróneas respecto a los posteriores cálculos de pH.

Tabla 8

pH de los ensayos realizados en la etapa de pretratamiento con NaOH

Fase: Pretratamiento NaOH sin filtración	Factor A		
Factor B	Concentración NaOH (g)		
Diámetro de partícula (mm)	0,005	0,02	0,03
1,29	6,41	6,92	7,14
	6,46	6,97	7,18
0,4	6,49	7,09	7,19
	6,52	7,11	7,27
0,18	6,56	7,16	7,3
	6,62	7,19	7,35

Nota. En esta tabla se encuentran las estimaciones del pH durante el pretratamiento con NaOH para separar la lignina, sin haber realizado la filtración.

Por otro lado, el material que presento cambios de pH posterior a la filtración de la biomasa, se estipula en la tabla 9, siendo el primer ensayo entre el diámetro de partícula $\pm 0,4$ mm y las concentraciones de NaOH de 0,005 g, 0,02 g y 0,03 g; las muestras que no cambiaron de pH.

Tabla 9*pH de los ensayos filtrados*

Fase: Pretratamiento NaOH filtrado	Factor A		
Factor B	Concentración NaOH (g)		
Diámetro de partícula (mm)	0,005	0,02	0,03
1,29	6,38	6,88	7,08
	6,42	6,91	7,08
0,4	6,49	7,09	7,19
	6,53	7,14	7,32
0,18	6,59	7,2	7,33
	6,66	7,25	7,38

Nota. En la tabla se evidencia en color verde la única réplica del ensayo entre 0,4 mm y las concentraciones de NaOH sin cambios en el pH respecto a la tabla 8 (pretratamiento NaOH sin filtración). El propósito de la filtración es eliminar trazas de NaOH y retener el compostaje de biomasa. La reducción del pH se debe a la remoción de NaOH al quedar retenida en la biomasa con el papel filtro, mientras que, el aumento de pH puede ocurrir cuando trazas pequeñas de NaOH siguen disolviéndose y logran traspasar el papel filtro.

La biomasa que no presentó variación de pH en la etapa de filtrado del pretratamiento fue el ensayo n°1 entre el diámetro de partícula 0,4 mm (factor B) y las respectivas concentraciones de NaOH (factor A). Por último, se almacenaron en bolsas ziploc® a temperatura de 4 °C. El motivo por el cual se analizó el pH como variable de respuesta de cada ensayo en una matriz de diseño experimental con variables controlables como el diámetro de partícula y las concentraciones de NaOH se debe a la importancia de no exceder altas concentraciones alcalinas, ya que la biomasa puede degradar y descomponer los polisacáridos. Para evitar la formación de inhibidores, el pH debe mantenerse entre 7,0 y 7,1 durante el pretratamiento. Mantener este rango de pH minimiza la formación de productos de degradación que pueden seguir catalizando el material celulósico durante el pretratamiento.

Las hipótesis nula y alternativa planteada para los factores A y B como para la interacción AB del diseño factorial 3x3 se describe a continuación:

✓ Hipótesis para el factor A.

1. Hipótesis nula [$H_{0 \rightarrow A} = \text{Concentración NaOH}(g)$]: El factor A no afecta la disminución ni el incremento de la variable de respuesta.
 2. Hipótesis alternativa [$H_{1 \rightarrow A} = \text{Concentración NaOH}(g)$]: El factor A sí altera la variable de respuesta.
- ✓ Hipótesis para el factor B.
1. Hipótesis nula [$H_{0 \rightarrow B} = \text{Diámetro de partícula}(mm)$]: El factor B no afecta la disminución ni el incremento de la variable de respuesta.
 2. Hipótesis alternativa [$H_{1 \rightarrow B} \rightarrow \text{Diámetro de partícula}(mm)$]: El factor B sí altera la variable de respuesta.
- ✓ Hipótesis para la interacción de factores AB.
1. Hipótesis nula [$H_{0 \rightarrow AB}$]: La interacción de los factores “Concentración NaOH (g)” y “Diámetro de partícula (mm)” reduce la variable de respuesta cuando disminuye el factor A como el incremento del factor B. Asimismo, si el factor A aumenta y el factor B decrece, la variable de respuesta se eleva.
 2. Hipótesis alternativa [$H_{1 \rightarrow AB}$]: La interacción de los factores “Concentración NaOH (g)” y “Diámetro de partícula (mm)” solo disminuye la variable de respuesta.

El diseño experimental factorial $3 \times 3 = 3^2$ se realizó en el programa Minitab (2023); un software diseñado para ejecutar funciones estadísticas básicas y avanzadas. El resumen de las variables se describe en la tabla 10 y la solución en Minitab se indica en la tabla 11.

Tabla 10*Resumen del diseño factorial*

Diseño factorial de múltiples niveles			
Resumen del diseño			
Factores	2	Réplicas	2
Corridas base	9	Total, de corridas	18
Bloques base	1	Total, de bloques	1
Número total de niveles = 3x3			

Nota. En esta tabla se informan las variables y réplicas corridas en Minitab.

Tabla 11*Análisis de la varianza*

Fuente	GL	SC ajustado	MC ajustado	Valor F	Valor P	Observación
Modelo	8	1,85664	0,232081	196,12	0,0	$H_0 =$ Rechazada
Lineal	4	1,85109	0,462772	391,08	0,0	$H_0 =$ Rechazada
Concentración NaOH (g)	2	1,75008	0,875039	739,47	0,0	$H_0 =$ Rechazada
Diámetro de partícula (mm)	2	0,10101	0,050506	42,68	0,0	$H_0 =$ Rechazada
Interacciones de 2 términos	4	0,00556	0,001389	1,17	0,384	$H_0 =$ Aceptada
Concentración NaOH (g) + Diámetro de partícula (mm)	4	0,00556	0,001389	1,17	0,384	$H_0 =$ Aceptada
Error	9	0,01065	0,001183	--	--	--
TOTAL	17	1,86729	--	--	--	--

GL = Grados de Libertad; SC = Suma de Cuadrados; MC = Medios Cuadrados.

Nota. En la tabla se retrata los resultados generados en Minitab, los cuales, ayudan a determinar si se acepta en las interacciones juntas de los factores o cada factor independiente, las corridas estudiadas por Minitab (hipótesis nula o alternativa), sin embargo, se observó en los resultados de los factores independientes un rechazo de las hipótesis nulas; excepto en la corrida de ambas interacciones (AB) que la hipótesis nula es aceptada.

Según los resultados obtenidos en el análisis de la varianza del diseño experimental factorial 3x3, se puede concluir que se rechaza las hipótesis nulas y se acepta las hipótesis alternativas tanto para el factor A denominado “Concentración NaOH (g)” como para el factor B denominado “Diámetro de partícula (mm)” debido a que, los resultados del “Valor P” son iguales a cero, por ende, menores a Alpha (α). Por consiguiente, el factor A es significativo e impacta sobre la variable de respuesta porque su “Valor P” es menor que la significancia (α). De igual forma, el factor B es significativo e impacta sobre la variable de respuesta ya que su “Valor P” es menor que la significancia (α).

Para el factor A se informa el “Valor P” de la siguiente manera:

$$\text{Valor } P_{\rightarrow \text{Factor A}} = 0$$

$$\alpha = 0,05$$

$$\text{Valor } P_{\rightarrow \text{Factor A}} < \alpha$$

$$H_{0 \rightarrow A} = \text{rechazada} \therefore H_{1 \rightarrow A} = \text{aprobada}$$

Para el factor B se informa el “Valor P” de la siguiente manera:

$$\text{Valor } P_{\rightarrow \text{Factor B}} = 0$$

$$\alpha = 0,05$$

$$\text{Valor } P_{\rightarrow \text{Factor B}} < \alpha$$

$$H_{0 \rightarrow B} = \text{rechazada} \therefore H_{1 \rightarrow B} = \text{aprobada}$$

Para la interacción de los factores A + B se informa de la siguiente manera:

$$\text{Valor } P_{\rightarrow AB} = 0,384$$

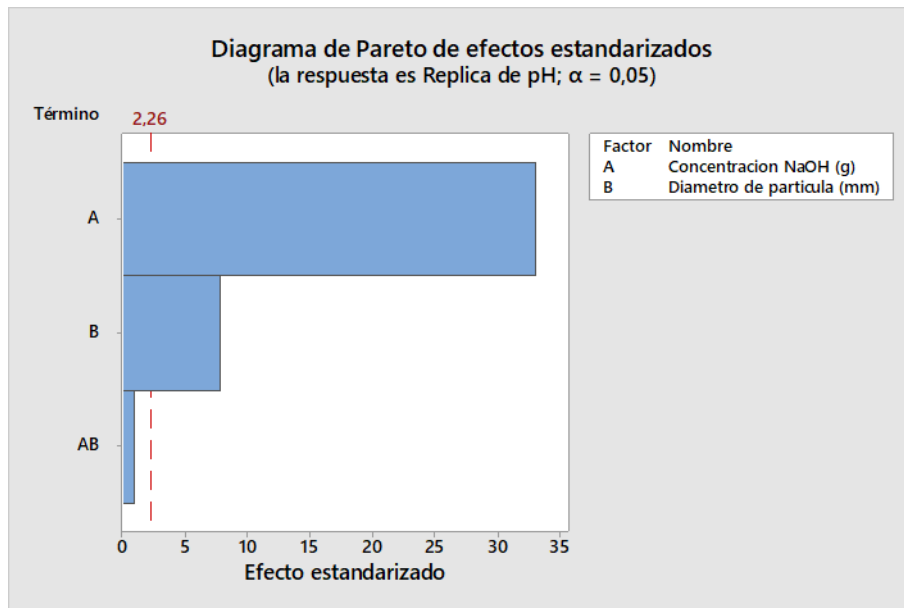
$$\alpha = 0,05$$

$$\text{Valor } P_{\rightarrow AB} > \alpha$$

$$H_{0 \rightarrow AB} = \text{aprobada} \therefore H_{1 \rightarrow AB} = \text{rechazada}$$

Figura 37

Diagrama de Pareto

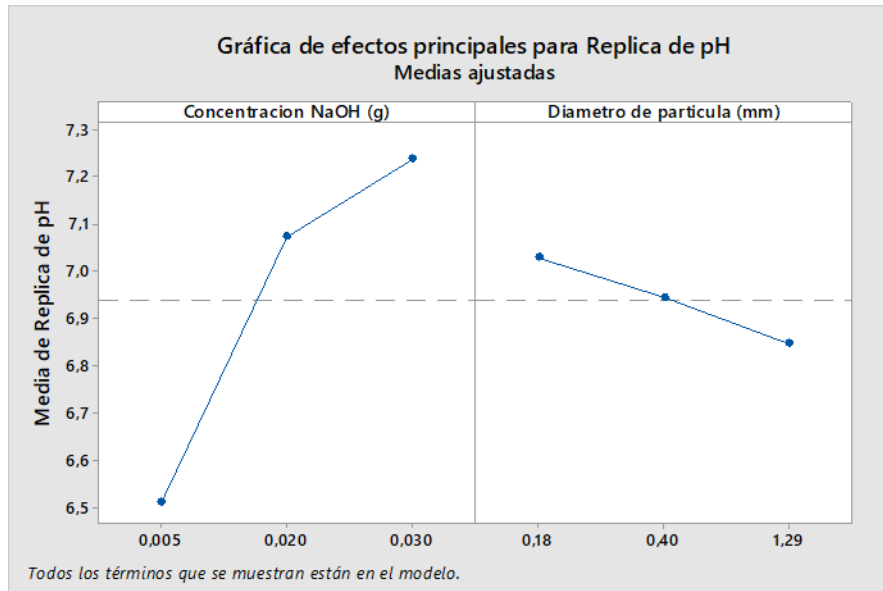


Nota. En este diagrama se ilustra la relación – interacción entre los factores A, B y AB sobre la variable de respuesta. En el diagrama de Pareto se ilustra el efecto del factor A, B y AB respecto a la variable de respuesta con un Alpha equivalente a 0,05. Se evidencia la importancia que genera el factor A y B al sobrepasar el umbral 2,26. Sin embargo, el factor AB como interacción, no causa mayor influencia sobre la variable de respuesta.

Respecto a la gráfica 5 y el cálculo para el “Valor P”, la interacción de los factores $A + B$ arrojó como resultado 0,384 para el “Valor P”, lo que significa que es mayor al Alpha (α) de la gráfica 5 arrojado por Minitab. Por tanto, no existe interacción entre los dos factores descartando su impacto y significancia sobre la variable de respuesta. Asimismo, se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alternativa.

Figura 38

Efectos del factor A y B



Nota. En esta gráfica se registra el dominio que genera el factor A sobre la variable de respuesta, mientras que, se evidencia nulo dominio del factor B sobre la variable de respuesta.

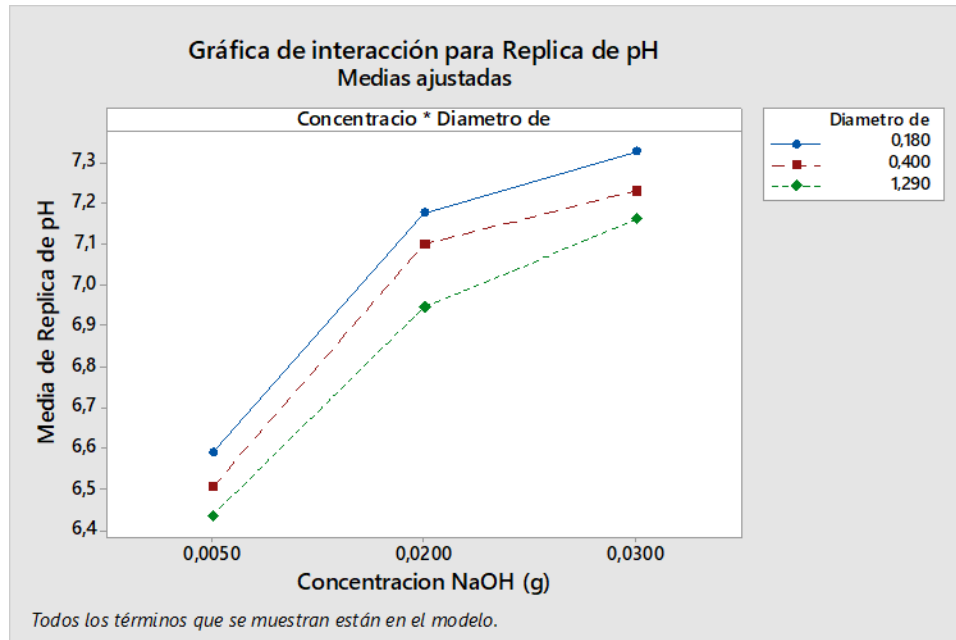
En la gráfica 6 ilustra la influencia que genera el factor A (concentración NaOH) respecto a la variable de respuesta (réplica de pH). Al efectuarse un incremento de NaOH en el pretratamiento de la biomasa, se removerá gran parte de lignina presente en el vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*). Sin embargo, un aumento desmedido de NaOH elevaría la alcalinidad ($pH > 8$) de la biomasa considerándose un medio cada vez más básico. Esta condición sería altamente abrasiva y hostil para realizar una inoculación de *Ralstonia Eutropha* en el medio pretratado.

En cuanto al factor B (diámetro de partícula), la influencia que ejerce sobre la variable de respuesta (réplica de pH), marca una variabilidad mínima debido a que la molienda del vástago de plátano (*Musa paradisiaca L.*) siempre debe ser triturado para facilitar el manejo del material en el proceso de pretratamiento con NaOH y extracción de los azúcares (hidrólisis enzimática). No obstante, un diámetro de partícula superior a 1,29 reducirá el pH si se utiliza concentraciones bajas de NaOH, puesto que, para partículas grandes el rompimiento de enlaces se dificulta. En cambio, si el diámetro de partícula es

menor a 1,29 aumentará el pH si se utiliza concentraciones moderadas de NaOH ya que el rompimiento de enlaces en partículas pequeñas y/o finas es mayor para bases como NaOH.

Figura 39

Interacción de las réplicas de pH

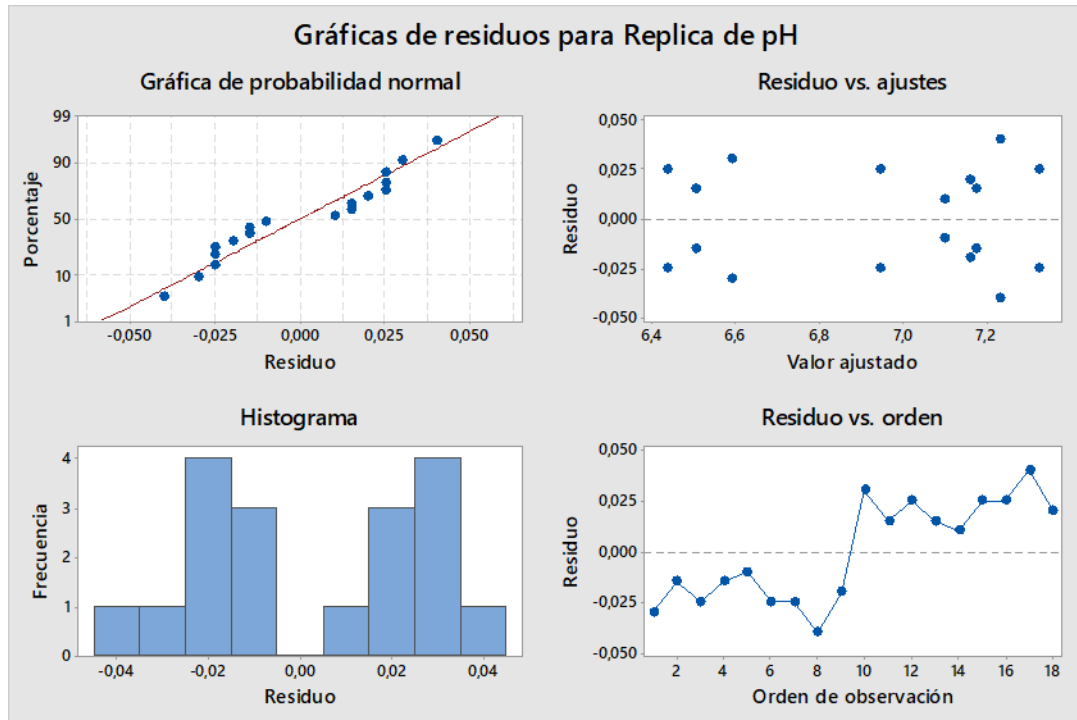


Nota. En esta gráfica se relaciona la variable de respuesta con las variables manipuladas

En la gráfica 7 se describe que la interacción entre los factores A y B es de baja consideración para la variable de respuesta debido a que la concentración de NaOH efectúa cambios sustanciales sobre el pH de la biomasa independientemente del diámetro de partícula que se utilice. Por tanto, se debe tener en cuenta el estudio de otro factor que influya al modelarlo con el factor A.

Figura 40

Residuos de la distribución de las frecuencias



Nota. En esta gráfica se evidencia la distribución y normalidad de la variable de respuesta. En la “Gráfica de probabilidad normal” se ilustra un efecto de ajuste de puntos sobre la recta que, junto con el “Histograma”, se marca una tendencia de distribución normalizada lo que permite asumir la relevancia de los resultados del diseño descritos en el análisis de varianza. En la gráfica “Residuo vs orden” se observa un intervalo de inflexión en el orden de observación entre 8,5 y 9,5 ocasionando un cambio en la varianza, de modo que, es posible ampliar el estudio para deducir otros factores que puedan intervenir en la experimentación ocasionando variabilidad en el diseño.

6.4 Justificación de los resultados del diseño experimental

El pretratamiento alcalino realizado al vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) fue esencial para remover la lignina (componente estructural clave que constituye una parte significativa de la biomasa) y la hemicelulosa. Al extraer la lignina y hemicelulosa, se da paso a la descomposición y fermentación de los componentes celulósicos en azúcares a través del proceso de hidrólisis ácida. De manera que, al analizar el pH de diferentes muestras pretratadas con NaOH, se logró obtener un margen aceptable de neutralidad en todas las muestras, por ejemplo, antes de filtrar las muestras pretratadas se midió el

pH con rangos entre 6,41 a 7,35 y después de filtrar, las muestras tuvieron un pH entre 6,38 a 7,38. Por otro lado, los ensayos de una réplica de biomasa con diámetro $\pm 0,4$ mm no variaron en pH como se ilustró en la tabla 9 en color verde. Las mediciones del pH son cruciales en el pretratamiento alcalino al vástago de plátano dado que mantener valores cercanos a la neutralidad garantiza que la reacción alcalina se ejecute de forma adecuada permitiendo que la lignina y hemicelulosa se descompongan adecuadamente. Un pH excesivamente alcalino demuestra el uso de altas concentraciones de NaOH lo que produce una hidrólisis alcalina, la cual, conlleva a la degradación y descomposición de polisacáridos como la aparición de inhibidores como furfurales, ácidos orgánicos, ligninasolventes, sílice soluble y diversos compuestos fenólicos que reducen la eficiencia del proceso hidrolítico y fermentativo.

De esta forma, los resultados obtenidos en el pretratamiento es un símil del proceso alcalino aplicado por Saratale, G. D., et al. [1], en el que alcanzaron pH neutro para realizar la sacarificación de la biomasa de trigo en polisacáridos fermentables a través de una hidrólisis enzimática con el hongo *Trichoderma reesei*, cuya supervivencia se da en un medio de pH entre 6 a 8. De esta forma, los resultados obtenidos en el pretratamiento alcalino del vástago de plátano con el pH descrito en la tabla 9 en color verde, es útil para reproducir el proceso en una hidrólisis enzimática, es decir, la conversión de la celulosa en azúcares fermentables.

6.5 Caracterización química del vástago de plátano

El análisis químico proximal se realizó para cuantificar el porcentaje de humedad, material volátil, cenizas y carbono fijo seleccionando biomasa de las mallas 30, 70 y 100. El propósito de realizar 3 ensayos es obtener un rango de análisis amplio de cada caracterización para diámetros de partícula de $\pm 1,29$ mm, $\pm 0,40$ mm y $\pm 0,18$ mm. Por último, se promedió los resultados experimentales de la caracterización química proximal del vástago de plátano, se analizaron y se justificaron respecto a resultados propuestos por los autores. Por otro lado, los cálculos realizados se encuentran en el anexo 4.

- Porcentaje de humedad.

Se calcula con la norma ASTM E 871-82, la cual, estandariza los pasos para calcular el porcentaje de humedad y se ajusta a las condiciones del presente proyecto:

1. Pesar tres cajas de Petri previamente calentadas a una temperatura de 103 °C por un tiempo de 40 minutos y registrar cada peso.
2. Pesar 20 gramos de biomasa (flujo másico estático) retenida por cada malla de 30, 70 y 100 agregando el material en cada una de las cajas de Petri. De esta manera, se realizaron tres ensayos para determinar posibles cambios.
3. Registre el peso de las tres cajas de Petri con el contenido de biomasa (flujo másico estático).
4. Lleve las cajas de Petri a la mufla a 103 °C por 40 minutos permitiendo la deshumidificación de la biomasa agregada.
5. Retiré de la mufla las cajas de Petri con las muestras y permita que se enfríen durante 30 minutos y registre el peso de cada una.
6. Calcule el porcentaje de humedad para los tres ensayos y dictamine las variaciones existentes.

Tabla 12

Resultados del porcentaje de humedad

Caja de Petri	Número de malla	Diámetro medio de partículas (\bar{D}_{pi}) mm	Porcentaje de humedad
1	30	± 1,29	17,39 %
2	70	± 0,40	17,51 %
3	100	± 0,18	17,66 %
Promedio del porcentaje de humedad			17,52 %

Nota. En esta tabla se presentan los resultados del porcentaje de humedad para tres muestras de vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*). Los cálculos se encuentran en el anexo 4.

- Material volátil.

Se calcula por medio de la norma ASTM E 872-82, la cual, estandariza los pasos para calcular el material volátil y se ajusta a las condiciones del presente proyecto:

1. Pesar tres crisoles vacíos sin desecar y registrar los datos obtenidos.

2. Situar los tres crisoles en la mufla a una temperatura de 950 °C durante 20 minutos hasta eliminar la humedad y finalmente registrar el peso.
3. Extraer los tres crisoles de la mufla permitiendo que se enfríen durante 10 minutos y luego agregar a cada uno 20 gramos de biomasa (flujo másico estático) retenida en las mallas 30, 70 y 100. De esta manera, se realizaron tres ensayos para determinar posibles cambios. Posteriormente, pesar el contenido y escribir los datos.
4. Nuevamente conduzca los tres crisoles con la biomasa al interior de la mufla y caliente a una temperatura de 950 °C durante 20 minutos.
5. Retire los crisoles de la mufla accediendo al enfriamiento durante 10 minutos y registre el peso de cada uno.
6. Calcule el porcentaje de material volátil para los tres ensayos.

Tabla 13

Resultados del material volátil

Crisol	Número de malla	Diámetro medio de partículas (\bar{D}_{pi}) mm	Material volátil
1	30	± 1,29	53,70 %
2	70	± 0,40	57,80 %
3	100	± 0,18	55,35 %
Promedio del material volátil			55,62 %

Nota. En esta tabla se presentan los resultados del material volátil para tres muestras de vástago de plátano. Los cálculos se encuentran en el anexo 4.

- Cuantificación de cenizas.

Se calcula mediante el uso de la norma ASTM E 1755 – 95, la cual, estandariza los pasos para cuantificar las cenizas y se ajusta a las condiciones del presente proyecto:

1. Caliente los tres crisoles en la mufla a una temperatura de 950 °C durante 20 minutos.
2. Retire los crisoles de la mufla y tome los datos del peso cuando se encuentren fríos.

3. Pesar 20 gramos de biomasa (flujo másico estático) retenida en cada malla de 30, 70 y 100 agregando el material en los crisoles. De esta manera, se realizaron tres ensayos para determinar posibles cambios.
4. Pesar los tres crisoles con las cantidades de biomasa.
5. Llevar los tres crisoles a la mufla por 2 horas a temperatura de 575 °C.
6. Sacar los tres crisoles de la mufla y pesarlos.
7. Calcular el porcentaje de cenizas para los tres ensayos denotando las variaciones que existan entre cada ensayo.

Tabla 14

Resultados de la cuantificación de cenizas

Crisol	Número de malla	Diámetro medio de partículas (\bar{D}_{pi}) mm	Cenizas
1	30	$\pm 1,29$	28,91 g
2	70	$\pm 0,40$	24,69 g
3	100	$\pm 0,18$	11,14 g
Promedio de la cuantificación de cenizas			21,58 g

Nota. En esta tabla se presentan los resultados de la cuantificación de cenizas para tres muestras de vástago de plátano. Los cálculos se encuentran en el anexo 4.

- Carbono fijo.

El carbono fijo, en el contexto del análisis proximal, se refiere a la fracción de carbono presente en una muestra de biomasa o alimento que no se volatiliza ni se pierde como gases durante el proceso de calentamiento a alta temperatura en un ambiente sin oxígeno. El carbono fijo se obtiene mediante la resta de los cálculos realizados con anterioridad al 100 %.

Tabla 15*Resultados del carbono fijo*

Ensayos	Número de malla	Diámetro medio de partículas (\bar{D}_{pi}) mm	Carbono fijo
1	30	$\pm 1,29$	42,95 %
2	70	$\pm 0,40$	15,66 %
3	100	$\pm 0,18$	7,50 %
Promedio del carbono fijo			22,04 %

Nota. En esta tabla se presentan los resultados del carbono fijo para tres muestras de vástago de plátano. Los cálculos se encuentran en el anexo 4.

6.6 Justificación de los resultados de la caracterización química del vástago de plátano

El análisis proximal del vástago de plátano se desarrolló para calcular el porcentaje de humedad, material volátil, cuantificación de cenizas y carbono fijo para tres muestras de diferente malla previamente tamizadas para ampliar el rango y tener plena confiabilidad al realizar más de un cálculo. No se utilizó biomasa pretratada con NaOH ni hidrolizada ya que el análisis proximal se realiza con el material virgen y en seco. Por último, se promediaron los resultados experimentales del análisis proximal y se obtuvo un porcentaje de humedad equivalente al 17,52 %, lo cual, representa una alta cantidad de agua en el vástago de plátano. Es por esta razón que es necesario fragmentar y desecar el vástago de plátano, debido a su alto contenido de humedad requiriendo mayor energía para secar el material. Realizar un tratamiento mecánico de molienda a biomasa humedad es un paso importante para evitar la proliferación de microorganismos contaminantes como hongos y *E. Coli* que interfieran negativamente en el proceso de fermentación. Respecto al material volátil se obtuvo un 55,62 %, lo cual, demuestra que el vástago de plátano contiene componentes que se volatilizaron durante el proceso de calentamiento a alta temperatura en un ambiente sin oxígeno desprendiéndose en gases y vapores. La composición de la fracción de componentes volátiles presentes en el vástago de plátano puede incluir agua, compuestos orgánicos volátiles, dióxido de carbono, metano, ácidos orgánicos, entre otros compuestos dependiendo de la

naturaleza del material y las condiciones del análisis. La cuantificación de cenizas se promedió en un 21,58 g presente en el vástago de plátano, lo cual, se concluye que gran parte de la biomasa estudiada contiene un 38,80 % de material inorgánico o mineral cuya composición es calcio, magnesio, fósforo, potasio, hierro, zinc, entre otros; y el 61,20 % restante es parte de la fracción del material volátil ya que las cenizas de un análisis proximal es el proceso por el cual se calcina a alta temperatura la biomasa para eliminar la materia orgánica, incluyendo grasas, proteínas, carbohidratos y otros componentes volátiles. Por último, el porcentaje de carbono fijo fue de 22,04 % lo que representa un alto contenido de carbono orgánico que permanece después de eliminar los componentes volátiles y materia orgánica.

Cabe informar que el análisis proximal incluye la determinación de varios componentes fundamentales, como humedad, cenizas, proteínas, grasas, carbohidratos, fibra y carbono fijo. La suma de todos estos componentes constituye el 100% de la composición de la muestra, sin embargo, no se calcularon proteínas, grasas, carbohidratos ni fibra; al sumar cada ensayo individual (sin tomar en consideración el promedio) se tiene aproximadamente el 90 % del estudio proximal, siendo el 10 % restante el equivalente a lo que no se calculó. El promedio de lo calculado sólo se utilizó como eje de referencia para estandarizar el análisis proximal del vástago de plátano.

6.7 Cuantificación de los azúcares de la biomasa sin hidrolizar

La base de cálculo para hallar las concentraciones a partir de 50 gramos de glucosa al 98 % del recipiente de fabricación cuyo contenido es 1000 mL se describe a continuación:

$$50 \frac{g}{L} \text{ glucosa} \rightarrow 1000 \text{ ml}$$

$$x \rightarrow 100 \text{ mL}$$

$$x = \frac{100 \text{ mL} * 50 \frac{g}{L} \text{ glucosa}}{1000 \text{ mL}}$$

$$x = 5 \frac{g}{L} \text{ glucosa al } 98 \%$$

Se utilizaron 5 gramos de glucosa al 98 % para diluir en 100 mL del balón aforado con agua desionizada. La preparación de las cuatro concentraciones de la solución patrón de glucosa se calcularon de la siguiente forma:

1. Concentración n° 1

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$50 \frac{g}{L} \text{ glucosa} * V_1 = 1 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{1 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}}{50 \frac{g}{L} \text{ glucosa}}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL de glucosa de patrón}$$

2. Concentración n° 2

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$50 \frac{g}{L} \text{ glucosa} * V_1 = 3 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{3 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}}{50 \frac{g}{L} \text{ glucosa}}$$

$$V_1 = 3 \text{ mL de glucosa de patrón}$$

3. Concentración n° 3

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$50 \frac{g}{L} \text{ glucosa} * V_1 = 5 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{5 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}}{50 \frac{g}{L} \text{ glucosa}}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL de glucosa de patrón}$$

4. Concentración n° 4

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$50 \frac{g}{L} \text{ glucosa} * V_1 = 8 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{8 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}}{50 \frac{g}{L} \text{ glucosa}}$$

$$V_1 = 8 \text{ mL de glucosa de patrón}$$

Tabla 16

Cifras para la elaboración de la curva patrón de glucosa (ensayo sin hidrolizar)

Reactivos	Blanco	Concentraciones			
		1 g/L	3 g/L	5 g/L	8 g/L
Glucosa	--	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Agua	1 mL	--	--	--	--
DNS	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Agua destilada	4 mL	4 mL	4 mL	4 mL	4 mL

Nota. En esta tabla se informa las cantidades necesarias de cada componente químico para estandarizar y/o establecer la curva de patrón de glucosa.

La lectura de la absorbancia de las concentraciones de glucosa realizadas a partir del patrón de glucosa, está en la tabla 17. En la gráfica 9 está la curva patrón de glucosa.

Tabla 17

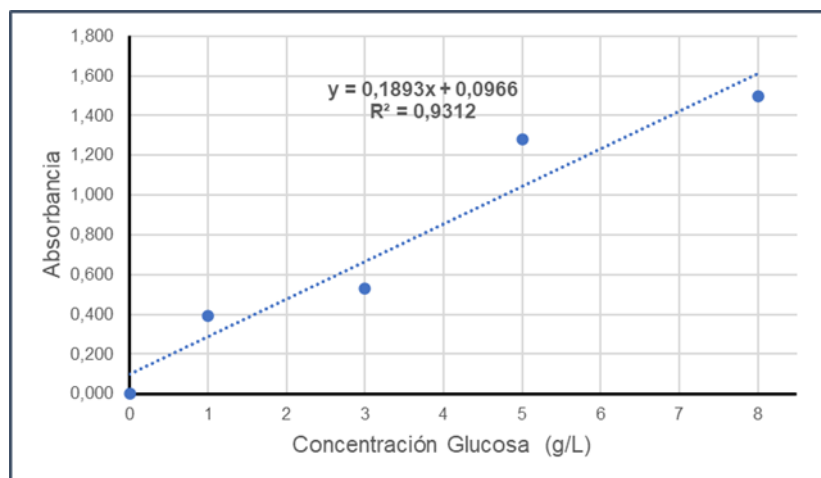
Absorbancia de las concentraciones de glucosa (ensayo sin hidrolizar)

Datos arrojados en el espectrofotómetro	
Concentraciones	Absorbancia
Blanco	0,000
1 g/L	0,391
3 g/L	0,528
5 g/L	1,283
8 g/L	1,499

Nota. En esta tabla se encuentran los datos que arrojó el espectrofotómetro respecto a la calibración con el blanco y las concentraciones de glucosa.

Figura 41

Curva patrón de glucosa (ensayo sin hidrolizar)



Nota. En la gráfica se representa la curva patrón de glucosa sin diluir las soluciones preparadas con glucosa.

Para evitar desviaciones erróneas en la toma de datos de la absorbancia con el espectrofotómetro, se realizaron diluciones de las soluciones de glucosa de $\frac{1}{4}$ debido a que algunas pruebas arrojaron cifras mayores a 1. De esta manera, se obtiene la medición de la absorbancia en los rangos de 0 a 1; en el cual, el valor 0 indica que no se

absorben rayos de luz y 1 señala la absorción de rayos de luz. La tabla 18 confirma los cálculos obtenidos y la gráfica 10 informa la curva patrón de glucosa diluida.

Tabla 18

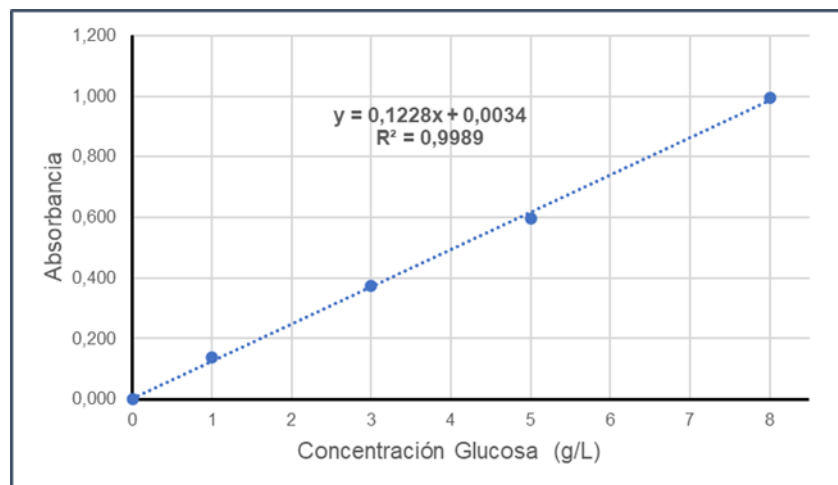
Absorbancia diluida al ¼ de las concentraciones de glucosa (ensayo sin hidrolizar)

Datos diluidos ¼	
Concentraciones	Absorbancia
Blanco	0,000
1 g/L	0,137
3 g/L	0,374
5 g/L	0,597
8 g/L	0,996

Nota. En esta tabla se encuentran los datos de absorbancia diluida respecto a las absorbancias arrojadas por el espectrofotómetro de la tabla 17.

Figura 42

Curva patrón de glucosa diluida ¼ (ensayo sin hidrolizar)



Nota. En esta gráfica se representa la curva del patrón de glucosa con las soluciones diluidas.

La lectura de la absorbancia de las concentraciones de monosacáridos presentes en las tres muestras del sustrato hidrolizado del vástago de plátano se describe en la tabla 19.

Tabla 19

Absorbancia de las concentraciones de azúcares de la biomasa (ensayo sin hidrolizar)

Datos arrojados en el espectrofotómetro		
Vasos de precipitado	Concentraciones	Absorbancia
--	Blanco	0,000
1	X	0,511
2	E	1,276
3	F	2,121

Nota. En esta tabla se encuentran los datos que arrojó el espectrofotómetro respecto a la calibración con el blanco y las concentraciones de azúcar en el sustrato sin dilución.

Para evitar desviaciones erróneas en la toma de datos de la absorbancia con el espectrofotómetro, se realizaron diluciones de las soluciones del sustrato de vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) de $\frac{1}{4}$ debido a que algunas daban mayor a 1. De esta manera, se obtiene la medición de la absorbancia en los rangos de 0 a 1; en el cual, el valor 0 indica que no se absorben rayos de luz y 1 señala la absorción de rayos de luz. La tabla 20 confirma los cálculos obtenidos.

Tabla 20

Absorbancia diluida al $\frac{1}{4}$ de las concentraciones de azúcares de la biomasa (ensayo sin hidrolizar)

Datos diluidos $\frac{1}{4}$		
Vasos de precipitado	Concentraciones	Absorbancia
--	Blanco	0,000
1	X	0,207
2	E	0,567
3	F	0,901

Nota. En esta tabla se encuentran los datos de absorbancia diluida.

Al graficar los datos y determinar la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación (R^2), se observa un valor equivalente a 0,9989 en la gráfica 10; mientras que, en la gráfica 9 se obtiene un coeficiente de correlación (R^2) de 0,9312. Motivo por el cual se utiliza la ecuación de la recta de la gráfica 10 al ser mayor que el arrojado en la gráfica 9. Un coeficiente de correlación cercano a 1 indica perfecta correlación entre los datos al relacionar la concentración con la absorbancia y alta confiabilidad en los datos obtenidos, así como un procedimiento experimental efectivo al preparar las soluciones de análisis, es decir, se alcanzan las cantidades estipuladas, protegiendo las muestras de la luz natural. La ecuación de la recta obtenida por regresión lineal en la gráfica 10 es la herramienta esencial para la determinación de la concentración de azúcares reductores en las muestras. Se despejó la variable de concentración en función de la absorbancia, siendo la variable X la concentración respecto a la variable Y como la absorbancia. La ecuación de la recta está parametrizada para cada variable X, E y F como:

$$y = 0,1228X + 0,0034$$

$$y = 0,1228E + 0,0034$$

$$y = 0,1228F + 0,0034$$

Reemplazando los datos de las lecturas de la absorbancia sin diluir de la tabla 19 y las lecturas de las absorbancias diluidas de la tabla 20, respecto a las ecuaciones de la recta; se notifica en la tabla 21 los datos correspondientes.

Tabla 21

*Concentraciones obtenidas de la regresión lineal
(ensayo sin hidrolizar)*

Datos arrojados en el espectrofotómetro		
X	E	F
4,13	10,36	17,24
Datos diluidos ¼		
X	E	F
1,66	4,59	7,31

Nota. En esta tabla se encuentran los datos hallados para las literales de la tabla 19 y 20.

Los datos diluidos al ¼ y aquellos arrojados en el espectrofotómetro tienen disparidad respecto a la cantidad de azúcares registrados. Sin embargo, se debe considerar como cálculo con menor margen de error los adquiridos por dilución al encontrarse en el rango de aceptación del régimen de linealidad sin alta dispersión al ingresarlos en la tabla 20 para tabular en la tabla 22 e ilustrar la linealidad en la gráfica 11.

Tabla 22

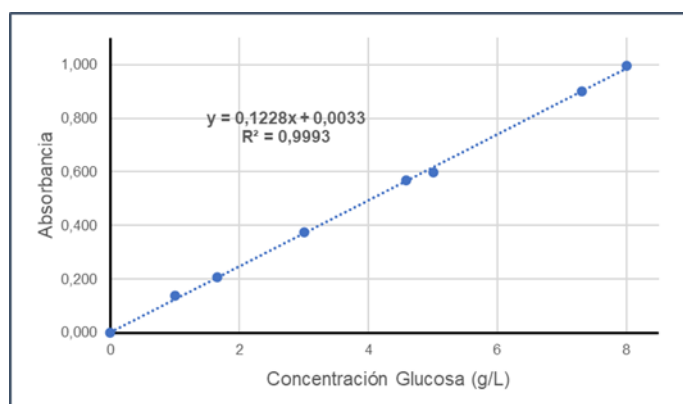
Absorbancia diluida al ¼ con las concentraciones de glucosa y azúcar de la biomasa (ensayo sin hidrolizar)

Concentraciones	Absorbancia
Blanco	0,000
1 g/L	0,137
1,66 g/L	0,207
3 g/L	0,374
4,59 g/L	0,567
5 g/L	0,597
7,31 g/L	0,901
8 g/L	0,996

Nota. En esta tabla se encuentran las cifras de las diluciones ¼ para las concentraciones de glucosa y en color verde, las concentraciones de azúcar en el sustrato teórico. La información muestra la efectividad de los tratamientos como el alto contenido en azúcares fermentables.

Figura 43

Curva de distribución lineal (ensayo sin hidrolizar)



Nota. En esta gráfica se representa la curva del patrón de glucosa y azúcares reductores del sustrato diluidas.

Por último, las concentraciones diluidas al $\frac{1}{4}$ determinadas experimentalmente deben multiplicarse por el factor aritmético de 4. Los resultados que se generan son las concentraciones reales como aparece en la tabla 23.

Tabla 23

Concentraciones finales del ensayo sin hidrolizar

Concentraciones diluidas $\frac{1}{4}$ teóricas	Concentraciones reales de azúcar
1,66 g/L	6,64 g/L
4,59 g/L	18,36 g/L
7,31 g/L	29,24 g/L

Nota. En esta tabla se especifican las concentraciones diluidas $\frac{1}{4}$ teóricas y las concentraciones reales de azúcar una vez es multiplicado por el factor 4. Es posible considerar la existencia de alto contenido de azúcares del vástago de plátano sin realizar hidrólisis de la misma.

6.8 Cuantificación de los azúcares de la biomasa hidrolizada

Las cantidades de ácido sulfúrico presentes en cada uno de los ensayos para las concentraciones de H_2SO_4 se informan en la tabla 24.

Tabla 24

Cantidades para preparar la hidrólisis ácida

Vasos de precipitado	Biomasa pretratada	Concentración de NaOH	Concentración de H_2SO_4
1	5 g	0,5 % p/v	0,1 N
2	10 g	2,0 % p/v	0,5 N
3	15 g	3,0 % p/v	1 N
Concentración del fabricante H_2SO_4 98 %			
36 N			

Nota. En esta tabla se encuentran las concentraciones de los reactivos utilizados.

Vaso de precipitado n° 1

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$36 N * V_1 = 0,1 N * 250 mL$$

$$V_1 = \frac{250 mL * 0,1 N}{36 N}$$

$$V_1 = 0,69 mL H_2SO_4$$

Vaso de precipitado n° 2

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$36 N * V_1 = 0,5 N * 250 mL$$

$$V_1 = \frac{250 mL * 0,5 N}{36 N}$$

$$V_1 = 3,47 mL H_2SO_4$$

Vaso de precipitado n° 3

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$36 N * V_1 = 1 N * 250 mL$$

$$V_1 = \frac{250 mL * 1 N}{36 N}$$

$$V_1 = 6,94 mL H_2SO_4$$

La base de cálculo para hallar las concentraciones a partir de 50 gramos de glucosa al 98 % del recipiente de fabricación cuyo contenido es 1000 mL:

$$50 \frac{g}{L} glucosa \rightarrow 1000 mL$$

$$x \rightarrow 100 mL$$

$$x = \frac{100 mL * 50 \frac{g}{L} glucosa}{1000 mL}$$

$$x = 5 \frac{g}{L} glucosa al 98 \%$$

Se utilizaron 5 gramos de glucosa al 98 % para diluir en 100 mL del balón aforado con agua desionizada. Se preparó las cuatro concentraciones de la solución patrón de glucosa, así:

1. Concentración n° 1

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$50 \frac{g}{L} \text{ glucosa} * V_1 = 1 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{1 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}}{50 \frac{g}{L} \text{ glucosa}}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL de glucosa de patrón}$$

2. Concentración n° 2

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$50 \frac{g}{L} \text{ glucosa} * V_1 = 3 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{3 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}}{50 \frac{g}{L} \text{ glucosa}}$$

$$V_1 = 3 \text{ mL de glucosa de patrón}$$

3. Concentración n° 3

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$50 \frac{g}{L} \text{ glucosa} * V_1 = 5 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{5 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}}{50 \frac{g}{L} \text{ glucosa}}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL de glucosa de patrón}$$

4. Concentración n° 4

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$50 \frac{g}{L} \text{ glucosa} * V_1 = 8 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{8 \frac{g}{L} * 50 \text{ ml}}{50 \frac{g}{L} \text{ glucosa}}$$

$$V_1 = 8 \text{ mL de glucosa de patrón}$$

La lectura de la absorbancia de las concentraciones de glucosa realizadas a partir del patrón de glucosa, se describen en la tabla 25 y en la gráfica 12 aparece la curva patrón de glucosa sin diluir.

Tabla 25

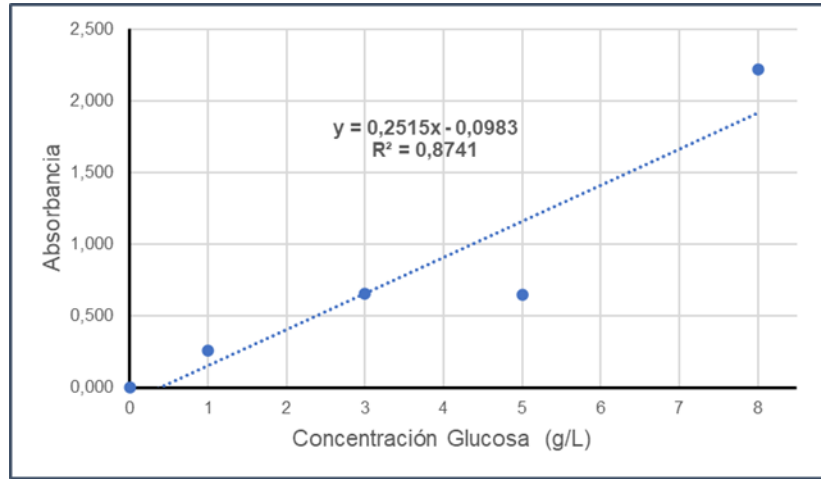
Absorbancia de las concentraciones de glucosa (ensayo hidrolizado)

Datos arrojados en el espectrofotómetro	
Concentraciones	Absorbancia
Blanco	0,000
1 g/L	0,261
3 g/L	0,654
5 g/L	0,649
8 g/L	2,220

Nota. En esta tabla se encuentran los datos obtenidos en el espectrofotómetro respecto a la calibración con el blanco y las concentraciones de glucosa.

Figura 44

Curva patrón de glucosa (ensayo hidrolizado)



Nota. En esta gráfica se representa la curva del patrón de glucosa sin diluir las soluciones preparadas con glucosa.

Para evitar desviaciones erróneas en la toma de datos de la absorbancia con el espectrofotómetro, se realizó diluciones de las soluciones de glucosa de $\frac{1}{4}$ debido a que algunas pruebas arrojaron cifras mayores a 1. De esta manera, se obtiene la medición de la absorbancia en los rangos de 0 a 1; en el cual, el valor 0 indica que no se absorben rayos de luz y 1 señala la absorción de rayos de luz. La tabla 26 confirma los cálculos obtenidos y la gráfica 13 informa la curva patrón de glucosa diluida.

Tabla 26

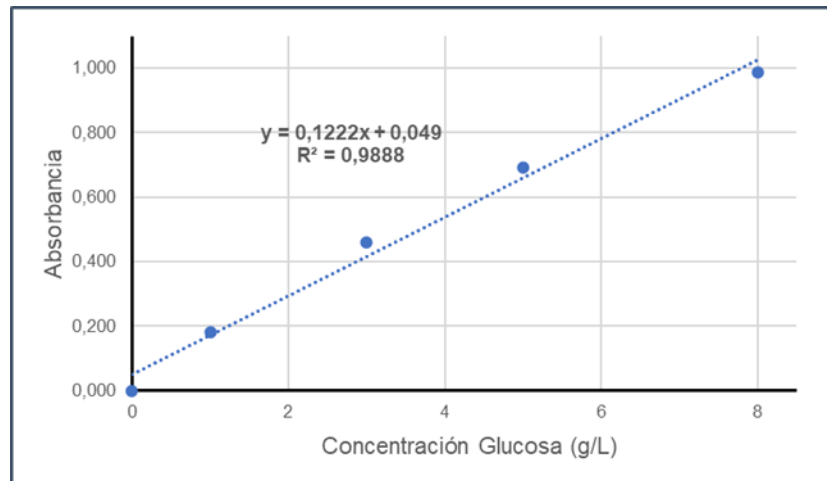
Absorbancia diluida al ¼ de las concentraciones de glucosa (ensayo hidrolizado)

Datos diluidos ¼	
Concentraciones	Absorbancia
Blanco	0,000
1 g/L	0,182
3 g/L	0,459
5 g/L	0,693
8 g/L	0,988

Nota. En esta tabla se encuentran los datos de absorbancia diluida respecto a las cifras de la tabla 25.

Figura 45

Curva patrón de glucosa diluida ¼ (ensayo hidrolizado)



Nota. En esta gráfica se representa la curva del patrón de glucosa con las soluciones diluidas.

La lectura de la absorbancia de las concentraciones de monosacáridos presentes en las tres muestras del sustrato hidrolizado del vástago de plátano se describe en la tabla 27.

Tabla 27

Absorbancia de las concentraciones de azúcares de la biomasa (ensayo hidrolizado)

Datos arrojados en el espectrofotómetro		
Vasos de precipitado	Concentraciones	Absorbancia
--	Blanco	0,000
1	X	0,609
2	E	0,999
3	F	1,782

Nota. En esta tabla se encuentran los datos que arrojó el espectrofotómetro respecto a la calibración con el blanco y las concentraciones de azúcar en el sustrato sin dilución.

Para evitar desviaciones erróneas en la toma de datos de la absorbancia con el espectrofotómetro, se realizó diluciones de las soluciones del sustrato de vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) de $\frac{1}{4}$ debido a que algunas daban mayor a 1. De esta manera, se obtiene la medición de la absorbancia en los rangos de 0 a 1; en el cual, el valor 0 indica que no se absorben rayos de luz y 1 señala la absorción de rayos de luz. La tabla 28 confirma los cálculos obtenidos.

Tabla 28

Absorbancia diluida al $\frac{1}{4}$ de las concentraciones de azúcares de la biomasa (ensayo hidrolizado)

Datos diluidos $\frac{1}{4}$		
Vasos de precipitado	Concentraciones	Absorbancia
--	Blanco	0,000
1	X	0,395
2	E	0,572
3	F	0,792

Nota. En esta tabla se encuentran la absorbancia diluida de los datos obtenidos en la tabla 27.

Al graficar los datos y determinar la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación (R^2), se observa un valor equivalente a 0,9888 en la gráfica 13; mientras que, en la gráfica 12 se obtiene un coeficiente de correlación (R^2) de 0,8741. Motivo por el cual se

utiliza la ecuación de la recta de la gráfica 13 al ser mayor que el arrojado en la gráfica 12.

Un coeficiente de correlación cercano a 1 indica perfecta correlación entre los datos al relacionar la concentración con la absorbancia y alta confiabilidad en los datos obtenidos, así como un procedimiento experimental efectivo al preparar las soluciones de análisis, es decir, se alcanzan las cantidades estipuladas, protegiendo las muestras de la luz natural.

La ecuación de la recta obtenida por regresión lineal en la gráfica 13 es la herramienta esencial para la determinación de la concentración de azúcares reductores en las muestras. Se despejó la variable de concentración en función de la absorbancia, siendo la variable X la concentración respecto a la variable Y como la absorbancia. La ecuación de la recta está parametrizada para cada variable X, E y F como:

$$y = 0,1222X + 0,049$$

$$y = 0,1222E + 0,049$$

$$y = 0,1222F + 0,049$$

Reemplazando los datos diluidos al $\frac{1}{4}$ de las concentraciones de cada absorbancia de la tabla 28 y de las concentraciones de las absorbancias del espectrofotómetro sin diluir de la tabla 27, se notifican los datos en la tabla 29.

Tabla 29

Concentraciones obtenidas de la regresión lineal (ensayo hidrolizado)

Datos arrojados en el espectrofotómetro		
X	E	F
4,582	7,774	14,181
Datos diluidos $\frac{1}{4}$		
X	E	F
2,831	4,279	6,080

Nota. En esta tabla se encuentran los datos hallados en la regresión lineal respecto a los valores de la tabla 27 y 28.

Los datos diluidos $\frac{1}{4}$ vs datos arrojados en el espectrofotómetro tienen disparidad respecto a la cantidad de azúcares registrados. Sin embargo, se debe considerar como cálculo con menor margen de error los adquiridos por dilución al encontrarse en el rango de aceptación del régimen de linealidad sin alta dispersión al ingresarlo en la tabla 28 para tabular en la tabla 30 e ilustrar la linealidad en la gráfica 14.

Tabla 30

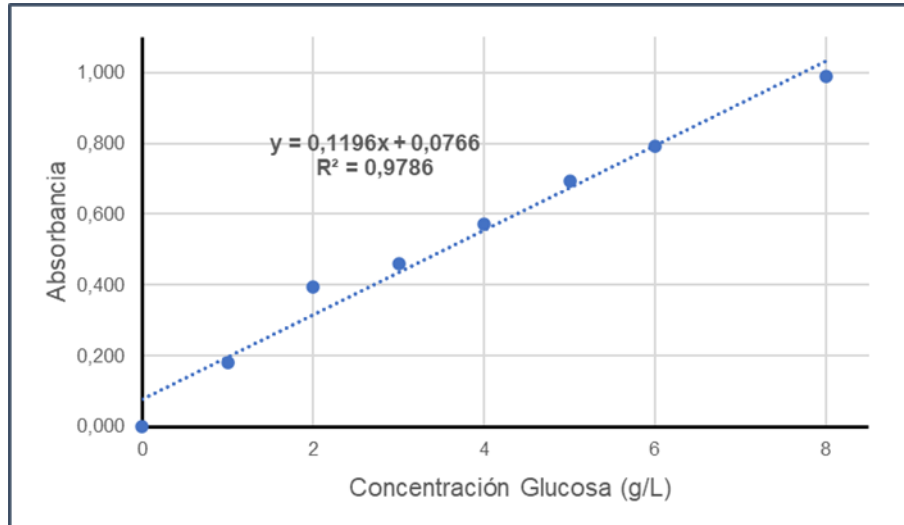
Absorbancia diluida al $\frac{1}{4}$ con las concentraciones de glucosa y azúcar de la biomasa (ensayo hidrolizado)

Concentraciones	Absorbancia
Blanco	0,000
1 g/L	0,182
2,831 g/L	0,395
3 g/L	0,459
4,279 g/L	0,572
5 g/L	0,693
6,080 g/L	0,792
8 g/L	0,988

Nota. En esta tabla se encuentran las cifras calculadas de las diluciones $\frac{1}{4}$ para las concentraciones de glucosa y en color verde, las concentraciones de azúcar en el sustrato teórico. La información demuestra la efectividad de los tratamientos realizados a la biomasa como su alto contenido en azúcares fermentables.

Figura 46

Curva de distribución lineal (ensayo hidrolizado)



Nota. En esta gráfica se representa la curva patrón de glucosa y azúcares reductores del sustrato diluidos.

Por último, las concentraciones diluidas al $\frac{1}{4}$ determinadas experimentalmente deben multiplicarse por el factor aritmético de 4. Los resultados que se generan son las concentraciones reales como aparece en la tabla 31.

Tabla 31

Concentraciones finales del ensayo hidrolizado

Concentraciones diluidas $\frac{1}{4}$ teóricas	Concentraciones reales de azúcar
2,831 g/L	11,324 g/L
4,279 g/L	17,116 g/L
6,080 g/L	24,32 g/L

Nota. En esta tabla se especifican las concentraciones diluidas sin el factor de dilución $\frac{1}{4}$ y con el factor de dilución $\frac{1}{4}$ para medir la cantidad de azúcares reductores existentes en el sustrato de vástago de plátano informando el alto grado de recuperación de azúcares que se obtuvo del proceso de pretratamiento y tratamiento a la biomasa. Asimismo, se confirma que el vástago de plátano sirve como materia prima para la extracción a gran escala de azúcares fermentables para producción de PHA.

6.9 Justificación de los resultados de los azúcares

Los resultados que se lograron en la cuantificación de azúcares reductores del vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) se desarrollaron con el procedimiento del reactivo DNS y siguiendo la metodología de Miller, G. [4]; la cual, es descrita por el autor desde la fase inicial de preparación del reactivo con las cantidades y concentraciones de los compuestos que intervienen en la adecuación del DNS, así como condiciones de temperatura, longitud de onda del espectrofotómetro, entre otros equipos a utilizar. De igual manera, el autor especifica la elaboración de las soluciones patrón de glucosa para extrapolar los datos en una curva de calibración y determinar la concentración de azúcares en las muestras tratadas. Esta técnica es aplicable a todos los procedimientos que contienen medios en soluciones, extractos o cultivos líquidos y sólidos en los que se encuentren moléculas de glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa y otros azúcares reductores.

La metodología de Miller, G. [4] fue aplicada antes y después de la hidrólisis ácida con el fin de valorar la cantidad de azúcares presentes en el vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) virgen y después de realizar el tratamiento con H_2SO_4 . Asimismo, se obtuvo el rendimiento del tratamiento con H_2SO_4 (hidrólisis ácida).

La concentración de azúcares evaluados antes de la hidrólisis para tres muestras fue tasada en 1,66 g/L, 4,59 g/L y 7,31 g/L de azúcares con el factor de dilución, el cual, consistió en disminuir la cantidad de soluto en cada volumen de dilución $\frac{1}{4}$ debido a la alta concentración de las soluciones sobrepasando el rango de lectura del espectrofotómetro. Basado en las muestras diluidas, se multiplicó el factor de dilución y la concentración de azúcares reales fue equivalente a 6,64 g/L, 18,36 g/L y 29,24 g/L lo que se traduce en una alta presencia disuelta de azúcares con solo ejercer una remoción de lignina a través del pretratamiento alcalino (NaOH). Por otro lado, no es posible determinar específicamente qué tipo de compuesto reductor se encuentra (glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa, entre otros) al realizar la metodología de cuantificación con DNS, de manera que, para identificar los azúcares se debe realizar algún método específico para tal fin como cromatografía, espectroscopía infrarroja, entre otros. Luego, se realizó el mismo procedimiento del método DNS, esta vez, con la biomasa tratada con

H₂SO₄. Los resultados de tres ensayos de azúcares obtenidos con el factor de dilución fueron igual a 2,831 g/L, 4,279 g/L y 6,080 g/L. De igual manera, al multiplicar el factor de dilución a los tres ensayos, se obtuvo azúcares reales para la biomasa del vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) hidrolizada en ácido equivalente a 11,324 g/L, 17,116 g/L y 24,32 g/L.

Comparando ambas fases de cuantificación de azúcares, se comprende que efectivamente la extracción de los azúcares una vez se hidroliza el vástago de plátano, fue sustancial. Es decir, el procedimiento hidrolítico con H₂SO₄ en la biomasa del vástago de plátano, evidenció una sobresaliente extracción de polisacáridos que pueden ser analizados para remover y mitigar la aparición de algunos inhibidores comunes que se forman durante la hidrólisis; por ejemplo, los furfurales, ácidos orgánicos, entre otros compuestos químicos que no permiten la sacarificación enzimática ni el metabolismo de microorganismo fermentadores que elaboran PHA. Respecto a lo propuesto por López, L., Acosta, A. y Zambrano, R. [75]; realizaron hidrólisis ácida con H₂SO₄ como parte del pretratamiento y sacarificaron con enzimas del complejo de celulasa para obtener azúcares. En el pretratamiento con H₂SO₄ obtuvieron una tasa alta de concentración de azúcares equivalente a 2,11 g/L, lo cual, demuestra que utilizar H₂SO₄ como pretratamiento o tratamiento para biomasa, ejecuta ambas funciones (tanto deslignificar como sacarificar) de manera que permite extraer buenas tasas de azúcares.

7. RENDIMIENTOS DEL PROCESO DE DESLIGNIFICACIÓN E HIDRÓLISIS ÁCIDA

7.1 Rendimiento de la deslignificación

El cálculo del rendimiento de la deslignificación se basa en la cantidad de lignina removida después del pretratamiento con NaOH al vástago de plátano medido en el numeral 5.4, en relación, con la cantidad de lignina presente en la biomasa original del numeral 5.1. De esta manera, se calculó el rendimiento de deslignificación:

$$\% R_D = \frac{L_i - L_F}{L_i} * 100 \{Rendimiento de la deslignificación: ecuación 18\}^{[64,95,96,97]}$$

Donde $\% R_D$ = porcentaje de rendimiento de la deslignificación; L_i = cálculo de la lignina en la biomasa sin tratamiento alguno y L_F = cálculo de la lignina posterior al pretratamiento.

Reemplazando los datos en la ecuación se tiene:

$$\% R_D = \frac{94,43 \% - 18,87 \%}{94,43 \%} * 100$$

$$\% R_D = 80,01 \%$$

7.2 Justificación del resultado de rendimiento de la deslignificación

La deslignificación del vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) realizado a través del pretratamiento alcalino con NaOH, demostró ser una metodología eficiente tanto en las condiciones de operación como lo realizado en el laboratorio. En el pretratamiento alcalino se cumplió con un 80,01 % del objetivo principal del pretratamiento: descomponer la hemicelulosa y los enlaces éster de la lignina, lo que conduce a la solubilización y remoción parcial de estos componentes de la matriz lignocelulósica. El rendimiento de la deslignificación (80,01 %) representa una eficiencia aceptable respecto a la remoción de lignina de la biomasa. Comparando el resultado obtenido respecto al rendimiento de deslignificación alcanzada por Saratale, G. D., et al. [1]; la cual fue de 70 %, demuestra que las condiciones de operación que describió Saratale, G. D., et al. [1]; al ser aplicadas en el pretratamiento del vástago de plátano, arrojó mayor eliminación de lignina. Esto puede suceder debido a varios factores que intervienen tales como la

naturaleza heterogénea del vástago de plátano con otras biomásas, la presencia de componentes en mayor o menor cantidad ya que la composición como estructura de la biomasa varían ampliamente entre diferentes tipos de materiales lignocelulósicos, las condiciones de pretratamiento para cada tipo de biomasa pueden variar sustancialmente o la generación excesiva de subproductos inhibitorios puede afectar directamente el rendimiento de deslignificación y como consecuencia una menor eficiencia del proceso.

7.3 Rendimiento de la hidrólisis ácida

Para calcular el rendimiento de la hidrólisis ácida en la biomasa lignocelulósica (vástago de plátano), se relaciona la cantidad de azúcares totales presentes en la biomasa antes de la hidrólisis (calculado en el numeral 6.7) con la cantidad de azúcares liberados después del tratamiento ácido (cuantificado en el numeral 6.8). De esta manera, se interpretó el cálculo del rendimiento de la hidrólisis ácida utilizando la siguiente fórmula:

$$\%R_H = \frac{A_2}{A_1} * 100 \{Rendimiento de la hidrólisis ácida: ecuación 19\}^{[98,99,100,101]}$$

Donde $\% R_H$ = porcentaje de rendimiento de la hidrólisis; A_2 = cantidad de azúcares obtenidos después de la hidrólisis (azúcares liberados); A_1 = cantidad de azúcares totales presentes en la biomasa antes de la hidrólisis (azúcares iniciales).

Operando con la ecuación del porcentaje de rendimiento para las muestras, se obtuvieron los resultados descritos en la tabla 32. El desarrollo de los cálculos se encuentra en el anexo 5.

Tabla 32*Cantidad de azúcares extraídos de la biomasa y sus rendimientos*

A_2/A_1	Rendimiento hidrolítico
$11,324 \frac{g}{L} / 6,64 \frac{g}{L}$	170,54 %
$17,116 \frac{g}{L} / 18,36 \frac{g}{L}$	93,22 %
$24,32 \frac{g}{L} / 29,24 \frac{g}{L}$	83,17 %

Nota. En esta tabla se especifican las concentraciones reales de azúcar obtenidas antes y después de la hidrólisis (A_2/A_1) y los resultados obtenidos al calcular los rendimientos hidrolíticos para cada sección, siendo la relación $11,324 \text{ g/L}$ y $6,64 \text{ g/L}$ un rendimiento erróneo debido al mal procesamiento de los datos en la regresión lineal, arrojando un punto de dispersión entre la absorbancia y los azúcares, mayor después de la hidrólisis.

7.4 Justificación de los resultados del rendimiento de la hidrólisis ácida

Los rendimientos obtenidos respecto al tratamiento con y sin H_2SO_4 en el vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) arrojó cifras sobresalientes, aunque, solo en dos de los tres ensayos. Como se visualizó en la tabla 32, el primer rendimiento dio un valor de 170,54 %, lo cual, es prácticamente imposible obtener un rendimiento igual o mayor al 100 % debido a que nunca, en ningún proceso de transformación o producción industrial de cualquier actividad económica; se puede generar una eficiencia igual o mayor al 100 % ya que sería un sistema ideal donde no afecta ninguna variable y es lógico que hay factores que afectan la eficiencia del proceso como variables controlables, estado de los equipos y errores humanos al momento de realizar mediciones. Por el contrario, los rendimientos de 93,22 % y 83,17 % conceptualizan que la metodología utilizada (tratamiento hidrolítico con H_2SO_4) permite el rompimiento de las cadenas celulósicas para transformarlas en monosacáridos, esto significa que, la liberación de azúcares sobrepasa los 93 puntos porcentuales al igual que el otro ensayo en donde sobrepasa los 83 puntos porcentuales. Estos rendimientos indican que la eficiencia de la hidrólisis ácida para liberar azúcares fermentables es un método hidrolítico muy bueno.

Este estudio se comparó con los reportes realizados por Annamalai, N. y Sivakumar, N. [102]; donde obtuvieron azúcares fermentables a partir de salvado de trigo para producción

de polihidroxitiratos por hidrólisis enzimática, la cual, les proporcionó un rendimiento de la hidrólisis enzimática igual a 83,75 %. En esa misma conjetura, Saratale, G. D., et al. ^[1]; obtuvo un rendimiento de hidrólisis igual a 84,5 %. Por último, Saratale, G. y Oh, M. ^[103]; realizaron una hidrólisis enzimática utilizando celulasa comercial de *Trichoderma reesei* sobre biomasa de paja de arroz y obtuvieron una eficiencia del rendimiento hidrolítico de 84,19 %. Estos referentes muestran altas cifras en el proceso de hidrólisis, sin embargo, el tratamiento ácido efectuado al vástago de plátano fue mayor por lo menos en un solo ensayo (93,22 % de rendimiento en el ensayo especificado para la hidrólisis ácida del vástago de plátano) respecto a los tratamientos hidrolíticos enzimáticos realizados por los autores.

8. COMPARACIÓN Y ELECCIÓN DE LA CEPA *RALSTONIA EUTROPHA* Y OTROS MICROORGANISMOS

8.1 Matriz de microorganismos comparados

Los agentes biológicos productores de polihidroxicanoatos son objeto de estudio debido a la gran cantidad de microorganismos que pueden sintetizar biopolímeros intracelulares. Sin embargo, su proceso de producción aún representa elevados costos monetarios, lo cual, puede mejorar con el incremento de pruebas científicas enfocadas en el desarrollo de metodologías biotecnológicas industriales, investigación e innovación.

En el presente apartado se informa tres diferentes cepas bacterianas más utilizadas en la producción de biopolímeros: *Ralstonia Eutropha*, *Pseudomonas Oleovorans* y *Paracoccus Denitrificans*. En la tabla 33 se describen las características más relevantes para establecer puntuación sobre las cepas.

Tabla 33

Matriz de los microorganismos analizados

Microorganismo	Temperaturas de crecimiento	Rendimiento	Producción celular en seco	Puntuación
<i>Ralstonia Eutropha</i>	30 °C a 37 °C [104, 105]	101,4 g/L [106]	80% [106]	27
<i>Pseudomonas Oleovorans</i>	25 °C a 35 °C [104, 105]	39,5 g/L [106]	64% [106]	22
<i>Paracoccus Denitrificans</i>	20 °C a 26 °C [104, 105]	37,1 g/L [106]	30% [106]	20

Nota. En esta tabla se encuentran las tres principales variables que impactan en las condiciones fermentativas de los microorganismos. En el análisis bacteriano se analizó el rendimiento, el cual, hace referencia a la concentración del PHA metabolizado (esta medida es útil para evaluar el éxito del proceso biotecnológico o fermentativo y comparar diferentes condiciones de cultivo o diferentes cepas de microorganismos). La producción celular en seco hace referencia a la biomasa celular en seco, la cual, cuantifica la cantidad de células microbianas presentes en el cultivo o muestra y evaluar el éxito de los microorganismos comparando la eficiencia de un cultivo en términos de producción de células – metabolito PHA.

En la matriz de selección de la tabla 22 el microorganismo *Ralstonia Eutropha* alcanzó un rendimiento de 101,4 g/L, siendo el más alto respecto al de los microorganismos *Pseudomonas Oleovorans* y *Paracoccus Denitrificans*. De esta manera, un rendimiento alto, indica una mayor producción del compuesto de interés (PHA) por volumen de medio de cultivo. Esto demuestra el beneficio desde un enfoque económico y de eficiencia del proceso si se desea escalar el proceso a una planta piloto con la cepa *Ralstonia Eutropha*. Por otro lado, el microorganismo en cuestión es altamente versátil al sobrevivir en medios contaminados con compuestos inhibidores para otras cepas como *Pseudomonas Oleovorans* y *Paracoccus Denitrificans*. Estos compuestos casi siempre se generan como subproductos paralelos no deseados del pretratamiento alcalino y la hidrólisis acida o enzimática. Algunos de los compuestos son hidroximetilfurfural (HMF), furfural, ácidos orgánicos, entre otros.

8.2 Métodos para la extracción de biopolímeros

Los principales métodos extractivos de los biopolímeros bacterianos pueden ser físicos, químicos, mecánicos o fisicoquímicos.

- Método por solventes

“Es una técnica utilizada para extraer sustancias o productos La extracción con disolventes es la técnica de separación de un compuesto a partir de una mezcla sólida o líquida, aprovechando las diferencias de solubilidad de los componentes de la mezcla en un disolvente adecuado” [107]. Se utiliza generalmente cloroformo, etanol y hexano, logrando una alta remoción de impurezas y residuos del producto de la fermentación. Es un método altamente contaminante debido a la naturaleza y cantidad de las sustancias químicas utilizadas [107].

- Método de fluidos supercríticos

“El método por fluidos supercríticos que utiliza CO₂ es un proceso de bajo costo con altos rendimientos, aunque se debe tener condiciones de presión alrededor de 350 bar para la extracción” [107].

- Método de surfactantes

“Los surfactantes de origen sintético son de cadenas carbonadas saturadas o insaturadas están en un rango de carbonos de 12 y 20, pero se caracterizan porque poseen una cabeza polar con grupos o estructura química atípicos en la naturaleza y se clasifican en 4 grandes grupos: Aniónicos, catiónicos, no iónicos y anfóteros” [107].

8.3 Adecuación del medio celular, rendimientos de la biomasa y del producto

Los cultivos bacterianos, incluyendo la *Ralstonia Eutropha* se activan en caldo de cultivo que, para el presente proyecto, se elaboró a escala laboratorio como se describe en la tabla 34.

Tabla 34

Composición para la adecuación del medio de cultivo bacteriano

Compuesto o mezcla	Composición (g/L)
Agar	15,0
Peptona	5,0
Extracto de carne	3,0
Agua destilada	Pura

Nota. En esta tabla se representa el caldo de cultivo más usado en la activación de bacterias dado que es rico en fuente de carbono y nitrógeno. Asimismo, las condiciones de crecimiento como la temperatura, debe encontrarse en el intervalo de 26 a 30°C y velocidad de agitación igual a 150 rpm. Tomado de: L F Silva, M K Taciro, M. Michelin Ramos “Poly-3-hydroxybutyrate (P3HB) production by bacteria from xylose, glucose and sugarcane bagasse hydrolysate” lib Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, Volume 31, Issue 6, 1 July 2004.

Por otro lado, se compararon los rendimientos de la biomasa y producto respecto al sustrato de cuatro fuentes de carbono diferentes al vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) y poder ampliar el espectro de eficiencia del bioproceso teóricamente para el vástago de plátano. En la tabla 35 se ilustra lo descrito.

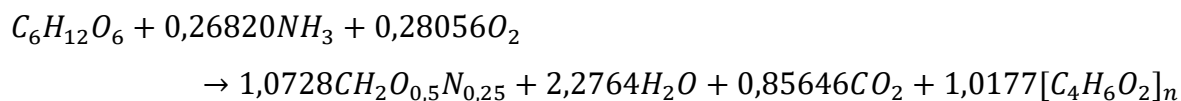
Tabla 35

Esquema de diferentes medios de cultivo bacteriano

Fuentes de Carbono	Fuentes Nitrógeno	$Y_{x/s}$	$Y_{p/s}$	Bibliografía
(16g/L) Bagazo de caña de azúcar	5 g/L Peptona 3 g/L extracto de carne	1,31 g	0,39 g	Silva, L. F., et al. (2004) ^[108]
(10g/L) xilosa	5 g/L Peptona 3 g/L extracto de carne	0,46 g	0,11 g	Silva, L. F., et al. (2004) ^[108]
(15g/L) Fructuosa	9g/L Extracto de levadura 5 g/L Triptona 5 g/L extracto de levadura 1 g/L K ₂ HPO ₄	0,48 g	0,22 g	Barbosa, M., et al. (2005) ^[109]
(10 g/L) Harina De Yuca	7 g/L Triptona 3 g/L peptona de soya 2,5 g/L K ₂ HPO ₄	0,55 g	0,36 g	Janjaroen, W., Harnsamut, N. y Reungsang, A. (2010) ^[110]

Nota. En esta tabla se representa los principales medios de cultivo y su relación C/N y $Y_{x/s}$ = rendimiento de la biomasa con respecto al sustrato y $Y_{p/s}$ = rendimiento del producto al sustrato, lo cual, es determinante para analizar la acumulación de PHB intracelular.

Inicialmente, para los rendimientos del bioproceso se realizó un balance teórico de la ecuación química de los elementos que reaccionan en el medio fermentativo, siguiendo la metodología propuesta por Yang, S. ^[106]:



Los coeficientes del balance de la reacción se resolvieron a través del software gratuito GNU Octave versión 8.2.0, el cual, se ilustra en el anexo 6. El rendimiento de la biomasa respecto al sustrato se cuantificó de la siguiente forma:

$$Y_{X/S} = \frac{\text{coeficiente de biomasa} * \text{peso molar de biomasa}}{\text{peso molar de sustrato}}$$

{Rendimiento de la biomasa respecto al sustrato: ecuación 20} ^[106]

La ecuación muestra la variación de la biomasa con respecto al sustrato, basado en lo proyectado por la reacción química. Cuando el análisis es teórico, como en el presente proyecto de valorización del vástago de plátano, el sustrato tipificado es la glucosa, como lo estipula Yang, S. [106]. Al reemplazar los valores del coeficiente de la biomasa y hallar el peso molar de la biomasa ($CH_2O_{0,5}N_{0,25}$) como del sustrato ($C_6H_{12}O_6$), se calcula $Y_{X/S}$. El peso molar del $CH_2O_{0,5}N_{0,25}$ se debe calcular en gramos por centimol al tener fracciones menores a 1 mol. El peso molar de los elementos C, H, O y N son:

$$C \approx 12,01 \text{ g/mol} - H \approx 1,01 \text{ g/mol} - O \approx 16,00 \text{ g/mol} - N \approx 14,01 \text{ g/mol}$$

El peso molar de la fórmula química $CH_2O_{0,5}N_{0,25}$ es igual a $25,53 \text{ g/Cmol}$ y del $C_6H_{12}O_6$ es $180,18 \text{ g/mol}$

$$Y_{x/s} = \frac{1,0728 * 25,53 \text{ g/Cmol}}{180,18 \text{ g/mol}}$$

$$Y_{X/S} = 0,152 \text{ g}$$

Por último, se calculó el rendimiento del producto deseado respecto al sustrato, así:

$$Y_{P/S} = \frac{\text{coeficiente de producto} * \text{peso molar de producto}}{\text{peso molar de sustrato}}$$

{Rendimiento del producto respecto al sustrato: ecuación 21}[106]

Con la ecuación 21 se calculó el producto deseado respecto al sustrato, es decir, el comportamiento de la síntesis de PHB tomando como referencia de medición, la alimentación y existencia de glucosa en el medio. Asimismo, fue descrita la metodología del rendimiento del producto deseado respecto al sustrato, según Yang, S. [106].

El peso molar de la fórmula química $C_4H_6O_2$ es igual a $86,10 \text{ g/mol}$

$$Y_{P/S} = \frac{1,0177 * 86,10 \text{ g/mol}}{180,18 \text{ g/mol}}$$

$$Y_{P/S} = 0,486 \text{ g}$$

8.4 Justificación de los rendimientos del bioproceso

Inicialmente, para los rendimientos del bioproceso se realizó un balance de la ecuación química de los elementos que reaccionan en el medio fermentativo, siguiendo la metodología de Yang, S. [106]. Los resultados prácticos de los rendimientos del bioproceso respecto a los obtenidos de manera teórica en el presente proyecto, se evidenció un mayor rendimiento en las biomásas respecto al sustrato en aquellos residuos lignocelulósicos ricos en azúcares como celulosa, almidón, hemicelulosa y sacarosa. Esto se debe a sus composiciones y a la eficiencia con la que utilizan los nutrientes presentes en el sustrato, en términos generales, estas biomásas producen rendimientos altos con respecto al sustrato debido a sus características particulares.

Se evidenció un rendimiento del bioproceso aceptable de la biomasa al encontrarse afectado por la aparición de compuestos tóxicos en el proceso de hidrólisis ácida como el ácido acético, el furfural, el hidroximetilfurfural, entre otros. Es posible mejorar el proceso hidrolítico y minimizar la aparición de compuestos tóxicos a través de tratamientos de limpieza previos para obtener sustratos más puros. Además, es importante tener en cuenta que un mayor rendimiento no solo depende de la biomasa sino de factores como temperaturas, el pH, la concentración de nutrientes y las condiciones de cultivo.

Por otro lado, el rendimiento del producto deseado con respecto al sustrato obtenido es adecuado según la estandarización metodológica analizada y realizada por Yang, S. [106]. La tasa de producción fue teóricamente alta respecto a la glucosa (fuente de carbono), considerado como el azúcar extraído del vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*). Por otro lado, la capacidad microbiológica de almacenamiento del biopolímero como el proceso extractivo, se afecta en términos de rendimiento del bioproceso por las condiciones lógicas a optimizar del cultivo, es decir, el ajuste de “parámetros como la temperatura, el pH, la concentración de nutrientes, el oxígeno, agitación y tiempo de cultivo debido a su importante impacto en la producción de los polihidroxicanoatos” [111].

Es vital tener en cuenta estrategias para eliminar aquellos componentes inhibidores como los ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido acético, ácido fórmico, ácido levulínico y ácido furfúrico, entre otros), hidroximetilfurfural, furfural, azúcares inhibidores (por

ejemplo, la celobiosa), compuestos fenólicos, entre otros compuestos degradativos y contaminantes en la etapa de fermentación utilizando fases de destilación y extracción líquido – líquido a través de solventes (como el acetona y éter etílico). Por otro lado, se debe tener en consideración que adicionar etapas de proceso para tal fin, requiere más gasto energético y de reactivos lo que se traduce en un incremento de gasto monetario. De manera que, el uso de bacterias resistentes a cantidades o fracciones moderadas de inhibidores, supone una solución en el proceso de producción fermentativa de polihidroxicanoatos. Por ejemplo, la *Ralstonia Eutropha* es una de las pocas cepas microbianas cuyo metabolismo no se ve afectado con bajas cantidades de subproductos en el medio fermentativo.

9. POTENCIAL ECONÓMICO Y VALORIZACIÓN

Es necesario efectuar un análisis económico de lo realizado a escala laboratorio, el cual, pueda iniciar un punto de referencia para escalar el proceso industrialmente y obtener un potencial económico de viabilidad. Según Singh, A., et al. [112]; el costo del PHB en el 2019 se cuantificó entre US\$ 2,75/lb y US\$ 2,25/lb en comparación con los plásticos comerciales que se trazaron entre US\$ 0,87/lb y US\$ 0,60/lb. Por otro lado, al promediar el costo del PHB se obtiene un valor de US\$ 2,5/lb y los plásticos comerciales US\$ 0,74/lb. De esta manera, los polihidroxicanoatos doblan su costo respecto a los plásticos comerciales aproximadamente un 1,77 %. Considerando un aumento progresivo de los costos al año 2023 de un 50 % por factores devaluativos de la moneda y la mecánica económica post COVID, el valor del PHB en el 2023 es de US\$ 3,75/lb y los plásticos convencionales de US\$ 1,10/lb.

En la tabla 36 se ilustró cálculos estimados del costo de las materias primas utilizadas en el presente proyecto de valorización a escala laboratorio, con el fin de tener parámetros para especular sobre el costo de producción de 100 kg en dólares y sin considerar el margen de ganancia, es decir, costeo sobre la línea de fabricación.

Tabla 36

Costo estimado de los reactivos para la valorización del proceso sin escalar

	Compuestos									
	Agar ^[113]	Peptonas ^[114]	Extracto de carne ^[115]	H ₂ SO ₄ ^[116]	Agua desionizada	NaOH ^[117]	Extracto de levadura ^[118]	DNS ^[119]	<i>Ralstonia Eutropha</i> ^[120]	PHA
kg/kg	0,015	0,007	0,0045	0,05	0,01	0,05	0,0015	0,01	1	0,5
US\$/kg	3,65	0,76	0,67	1,59	0,07	0,003	0,14	0,02	430	
Produccion de 100 kg	365,04	76,69	67,97	159,6	7,54	0,32	14,93	2,8	430	100
US\$ total	1124,91									

Nota. En esta tabla se representa los compuestos y/o materias primas que se utilizaron durante todo el proceso para la extracción de azúcares fermentables de la biomasa lignocelulósica de vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) a escala laboratorio. El costo final de US\$ 1124,91 por 100 kg demuestra una cifra de producción poco viable desde un enfoque industrial, dado que la producción especulativa de 100 kg en laboratorio es alta por los reactivos y elementos utilizados a nivel analítico, es decir, la pureza y los proveedores entregan los materiales para estudios específicos. Si se desea escalar el proceso en un ámbito industrial, los costos de los reactivos y elementos serán menores y, por ende, el costo final de producción de PHA se reduce en un 65 % (US\$ 731,19 por 100 kg). Todas las cifras previamente calculadas corresponden al año 2023 y se debe considerar el incremento de los precios a futuro.

10. CONCLUSIONES

Los resultados del pH 6,49, 7,09 y 7,19 obtenidos en el pretratamiento alcalino del vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) para las muestras cuyo diámetro de partícula es $\pm 0,4$ mm y concentraciones de NaOH de 0,5 % p/v, 2 % p/v y 3 % p/v no cambiaron después de la filtración debido al uso de bajas concentraciones de NaOH sobre la biomasa como lo estipulo Saratale, G. D., et al. [1] y la pulverización del vástago de plátano según la norma ASTM E11 “Standard Specification for Woven Wire Test Sieve Cloth and Test Sieves”. Esto permite descomponer la biomasa al punto de extraer la lignina y facilitar la hidrólisis enzimática o química.

La descomposición de la biomasa lignocelulósica se identifica al remover la mayor cantidad de lignina. Un pretratamiento alcalino aceptable se cuantifica a través del rendimiento de deslignificación, el cual, para el pretratamiento del vástago de plátano fue equivalente a 80,01 %. Un rendimiento más alto indica una mayor remoción de lignina y en efecto, mayor eficiencia del proceso.

Lograr un pH cercano a la neutralidad durante el pretratamiento alcalino demuestra la reducción de generación de subproductos como compuestos fenólicos, ácidos orgánicos, entre otros derivados no deseados para la hidrólisis ácida. Asimismo, las muestras con pH neutro son útiles para sustituir la hidrólisis ácida por enzimática con *Trichoderma reesei*, la cual, necesita un medio neutro para realizar la sacarificación de la celulosa en azúcares fermentables.

La biomasa del vástago de plátano (*Musa Paradisiaca L.*) confiere dureza a la planta al ser compuesta de filamentos alargados que ganan humedad, motivo por el cual se tuvo que efectuar varios procesos de molienda y deshumidificación para lograr romper y manipular el material con facilidad.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] G. D. Saratale, et al. (2020). “*Development of ultrasound aided chemical pretreatment methods to enrich saccharification of wheat waste biomass for polyhydroxybutyrate production and its characterization*”. *Industrial Crops and Products*. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669020303411?via%3Dihub>
- [2] K. K. Brar, et al. (2020). “*Enhanced hydrolysis of hydrothermally and autohydrolytically treated sugarcane bagasse and understanding the structural changes leading to improved saccharification*”. *Biomass & Bioenergy*. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0961953420301732?via%3Dihub>
- [3] M. Li y M. R. Wilkins. (2020). “*Recent advances in polyhydroxyalkanoate production: Feedstocks, strains and process developments*”. *International Journal of Biological Macromolecules*. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014181302032938X?via%3Dihub>
- [4] G. L. Miller. (1959). “*Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar*”. *Analytical Chemistry* (Washington). Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac60147a030>
- [5] Tekman, M. B., Walther, B. A., Peter, C., Gutow, L. and Bergmann, M. (2022). “*Impacts of plastic pollution in the oceans on marine species, biodiversity and ecosystems*”. WWF Germany, Berlin. Disponible en: <https://zenodo.org/record/5898684>
- [6] R. Geyer, J. R. Jambeck y K. L. Law. (2017). “*Production, use, and fate of all plastics ever made*”. *Science Advances*. Disponible en: <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.1700782>
- [7] Rhodes, C. (2018). “*Plastic pollution and potential solutions*”. *Science Progress* (1916). Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/10.3184/003685018X15294876706211>

- [8] Comisión europea, Centro común de investigación. Instituto de Prospectiva Tecnológica. “*Prevención y control integrado de la contaminación: Documento de referencia sobre las mejores técnicas disponibles para la fabricación de polímeros*”. Sevilla, España. 2006. DOI: <https://prtr-es.es/data/images/resumen%20ejecutivo%20bref.%20fabricaci%C3%B3n%20de%20pol%C3%ADmeros-b104469ce2380b55.pdf>
- [9] E. R. Zettler., T. J. Mincer y L. A. Amaral-Zettler. (2013). “*Life in the Plastisphere: Microbial Communities on Plastic Marine Debris*”. Environmental Science & Technology. DOI: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es401288x>
- [10] The Nature Conservancy, “*Es ahora o para siempre, detengamos el flujo de residuos plásticos*”. Condado de Arlington, Virginia, EUA. 2021. DOI: <https://www.nature.org/es-us/que-hacemos/nuestras-prioridades/ciudades-saludables/detener-residuos-plasticos/>
- [11] J. Reisser, et al. (2014). “*Millimeter-Sized Marine Plastics: A New Pelagic Habitat for Microorganisms and Invertebrates*”. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0100289>
- [12] P. L. Corcoran y K. Jazvac. (2020). “*The consequence that is plastiglomerate*”. Nature Reviews. Earth & Environment. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s43017-019-0010-9>
- [13] Corcoran, P.L. (2021). “*Degradation of Microplastics in the Environment*”. In: Rocha-Santos, T., Costa, M., Mouneyrac, C. (eds) Handbook of Microplastics in the Environment. Springer, Cham. DOI: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-3-030-10618-8_10-1
- [14] NATIONAL GEOGRAPHIC, “*La Gran mancha de basura del Pacífico*”. Washington DC, EUA. 2023. DOI: <https://education.nationalgeographic.org/resource/la-gran-mancha-de-basura-del-pacifico/>

- [15] P. J. Kole, et al. (2017). “*Wear and Tear of Tyres: A Stealthy Source of Microplastics in the Environment*”. International Journal of Environmental Research and Public Health. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1660-4601/14/10/1265>
- [16] S. L. Wright, et al. (2015). “*Bioaccumulation and biological effects of cigarette litter in marine worms*”. Scientific Reports. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/srep14119>
- [17] Fendall, L. S. and M. A. Sewell, (2009). “*Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers*”. Marine Pollution Bulletin. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025326X09001799>
- [18] Sharma, S. and S. Chatterjee, (2017). “*Microplastic pollution, a threat to marine ecosystem and human health: a short review*”. Environ Sci Pollut Res. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-017-9910-8>
- [19] Saenz, I. (2018). “*Iniciativas legislativas para reducir la contaminación marina por residuos plásticos*”. Mirada Legislativa No. 146. Ciudad de México. Instituto Belisario Domínguez, Senado de la República, 18p. Disponible en: <http://bibliodigitalibd.senado.gob.mx/handle/123456789/3968>
- [20] M. Cole, et al. (2011). “*Microplastics as contaminants in the marine environment: A review*”. Marine Pollution Bulletin. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X11005133?via%3Dihub>
- [21] Frias, J. P. G. L. and R. Nash, (2019). “*Microplastics: Finding a consensus on the definition*”. Marine Pollution Bulletin. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025326X18307999>
- [22] Dick Vethaak, A. y J. Legler, (Jul 31, 2020). “*Dispatches from the pandemic: Read additional Science coverage of the pandemic at sciencemag.org/tags/coronavirus*”. Science (American Association for the Advancement of Science). Disponible en: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abe5041>

- [23] Christopher Blair Crawford and Brian Quinn. (2017). “7 - *the biological impacts and effects of contaminated microplastics*”. Microplastic Pollutants. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128094068000074?via%3Dihub>
- [24] Albalat-Oliver, B. (2020). “*Ahogados en plástico: La contaminación por microplásticos en el medio marino*”. Disponible en: <https://metode.es/wp-content/uploads/2020/04/104ES-ahogados-plastico.pdf>
- [25] B. Y. Chung, et al. (2019). “*Risk assessment of phthalates in pharmaceuticals*”. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15287394.2019.1598053?journalCode=uteh20>
- [26] Browne, M.A., Galloway, T., Thompson, R. (2007). “*Microplastic – ¿An emerging contaminant of potential concern?*”. Integrated Environmental Assessment and Management. Disponible en: <https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ieam.5630030412>
- [27] Andrade, C., Ovando, F. (2017). “*Fist record of microplastic in stomach content of the southern king crab Lithodes santolla (Anomura: Lithodidae), nassau bay, cape horn, Chile*”. Anales Instituto Patagonia. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-686X2017000300059&lng=en&nrm=iso&tlng=en
- [28] Kole, P.J., Löhr, A.J., Van Belleghem, F., Ragas, A. (2017). “*Wear and tear of tyres: A stealthy source of microplastic in the environment*”. International Journal of Environmental Research and Public Health. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1660-4601/14/10/1265>
- [29] Dris, R., Gasperi, J., Saad, M., Mirande-Bret, C., Tassin, B. (2016). “*Synthetic fibers in atmospheric fallout: ¿A source of microplastic in the environment?*”. Marine Pollution Bulletin. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025326X16300066?via%3Dihub>

- [30] Oberbeckmann, S., M. G. J. Löder and M. Labrenz. (2015). “*Marine microplastic-associated biofilms – a review*”. Environmental Chemistry. Disponible en: <https://www.publish.csiro.au/en/EN15069>
- [31] F. Zhang, et al. (2020). “*Direct and indirect effects of microplastics on bivalves, with a focus on edible species: A mini-review*”. Critical Reviews in Environmental Science and Technology. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1080/10643389.2019.1700752?needAccess=true&role=button>
- [32] P. Li, et al. (2021). “*Characteristics of Plastic Pollution in the Environment: A Review*”. Bull Environ Contam Toxicol. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00128-020-02820-1>
- [33] YOSHIKAWA, T. y K. ASOH, (junio 1, 2004). “*Entanglement of monofilament fishing lines and coral death*”. Biological Conservation. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2003.09.025>
- [34] Parga Martínez, K. B., M. B. Tekman and M. Bergmann, (Mayo 19, 2020). “*Temporal Trends in Marine Litter at Three Stations of the HAUSGARTEN Observatory in the Arctic Deep Sea*”. Frontiers in Marine Science. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00321>
- [35] Naidoo, T. and D. Glassom, (Aug 1, 2019). “*Decreased growth and survival in small juvenile fish, after chronic exposure to environmentally relevant concentrations of microplastic*”. Marine Pollution Bulletin. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.02.037>
- [36] T. Haetrakul, et al. (2009). “*A case report: Stomach foreign object in whaleshark (rhincodon typus) stranded in thailand*”. pp. 83-85. Disponible en: <https://repository.kulib.kyoto-u.ac.jp/dspace/handle/2433/71015>
- [37] Wilcox, C., E. Van Sebille and B. D. Hardesty, (septiembre 22, 2015). “*Threat of plastic pollution to seabirds is global, pervasive, and increasing*”. Proceedings of the

National Academy of Sciences – PNAS. Disponible en:
<https://doi.org/10.1073/pnas.1502108112>

- [38] Q. A. Schuyler, et al. (2016). “*Risk analysis reveals global hotspots for marine debris ingestion by sea turtles*”. Global Change Biology. Disponible en:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/gcb.13078>
- [39] Kastelein, R. and M. Lavaleije, (enero 1, 1992), “*Foreign bodies in the stomach of a female harbour porpoise (Phocoena phocoena) from the North Sea*”. Aquatic Mammals. Disponible en: <https://porpoise.org/library/foreign-bodies-in-the-stomach-of-a-female-harbour-porpoise-phocoena-phocoena-from-the-north-sea/>
- [40] Baird, R. W. and S. K. Hooker, (agosto 1, 2000). “*Ingestion of Plastic and Unusual Prey by a Juvenile Harbour Porpoise*”. Marine Pollution Bulletin. Disponible en:
<https://porpoise.org/library/ingestion-plastic-unusual-prey-juvenile-harbour-porpoise/>
- [41] A. L. Lusher, et al. (2018). “*Incidence of marine debris in cetaceans stranded and bycaught in Ireland: Recent findings and a review of historical knowledge*”. Environmental Pollution. Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.070>
- [42] R. De Stephanis, et al. (2013). “*As main meal for sperm whales: Plastics debris*”. Marine Pollution Bulletin. Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.01.033>
- [43] Dickerman, R. W. and R. G. Goellet. (1987). “*Northern Gannet starvation after swallowing styrofoam*”. Marine Pollution Bulletin. Disponible en:
[https://doi.org/10.1016/0025-326X\(87\)90508-X](https://doi.org/10.1016/0025-326X(87)90508-X)
- [44] I. Acosta – Coley, et al. (2019). “*Trace elements in microplastics in Cartagena: A hotspot for plastic pollution at the Caribbean*”. Marine Pollution Bulletin. Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.12.016>
- [45] Revista Semana, “*Se requieren acciones urgentes para frenar la contaminación por plásticos, advierte la ONU*”. Marzo 17, 2021. {En línea}. {Acceso: junio 1, 2023}.

Disponible en: <https://www.semana.com/sostenibilidad/articulo/se-requieren-acciones-urgentes-para-frenar-la-contaminacion-por-plasticos-advierte-la-onu/202136/>

- [46] Quirós-Rodríguez, J. A., C. Nisperuza-Pérez and J. Yepes-Escobar. (septiembre 23, 2021). “*Los microplásticos, una amenaza desconocida para los ecosistemas marinos de Colombia: perspectivas y desafíos a enfrentar*”. *Gestión Y Ambiente*. Disponible en: <https://doi.org/10.15446/ga.v24n1.91615>
- [47] ZSCHIMMER & SCHWARZ, “¿Qué son los biopolímeros y para que se utilizan en la industria?”. Abril 6, 2022. {En línea}. {Acceso: junio 1, 2023}. Disponible en: <https://www.zschimmer-schwarz.es/noticias/que-son-los-biopolimeros/>
- [48] M. F. Valero Valdivieso, Y. Ortegón, Y. Uscategui. “*Biopolímeros: avances y perspectivas*”. *DYNA*, vol. 80, n.º 181, pp. 171–180, sep, 2013. {Acceso; junio 1, 2023}. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/dyna/article/view/20642>
- [49] J. Ramperez Barraón, “*El ácido poli láctico (PLA): Un material innovador en la actualidad*”. Universidad de Almería. Almería, España. {En línea}. Disponible en: <https://www.claraboyas.es/wp-content/uploads/2021/04/Trabajo-PLA.pdf>
- [50] L. Florez, “*Bioplásticos: ¿hacia dónde va el mercado?*”. Tecnología del plástico. Bogotá, Colombia. {En línea}. Disponible en: <https://www.plastico.com/es/noticias/bioplásticos-hacia-donde-va-el-mercado>
- [51] Amigos de la Tierra|Asociados, “*Impactos sociales y ambientales de los bioplásticos*”. Amigos de la Tierra|Asociados. {En línea}. Disponible en: <https://www.tierra.org/impactos-sociales-y-ambientales-de-los-bio-plasticos/>
- [52] T. Mckee, J. Mckee. “*Biochemistry: The molecular basis of life*”. Oxford, UK. Oxford University Press. The McGraw-Hill Companies, Inc. 5th edition. 2013.
- [53] Instituto de Centro de Envases y Embalajes de Chile. “¿*Biopolímero o polímero biodegradable?*”. Institución de Centro de Envases y Embalajes de Chile- CENEM,

- {En Línea}. {Acceso; junio 2, 2023}. Disponible en: <https://biopolcom.cl/index.php/2020/05/15/biopolimero-o-polimero-biodegradable/>
- [54] E. Rodríguez, et al. (2021). “*La Ciencia de los Polímeros Biodegradables*”. Congreso XXVI verano de la ciencia, Universidad de Guanajuato, ciudad de México, volumen 10. {En Línea}. Disponible en: <http://repositorio.uqto.mx/bitstream/20.500.12059/6021/1/La%20Ciencia%20de%20los%20Pol%C3%ADmeros%20Biodegradables.pdf>
- [55] Mexpolimeros, “*biopolímeros*”. Mexpolimeros. {En Línea}. {Acceso; junio 2, 2023}. Disponible en: <https://www.mexpolimeros.com/biopol%C3%ADmeros.html>
- [56] Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC). “*Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012)*”, Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), {En Línea}. {Acceso; 2, 2023}. Disponible en: <https://web.archive.org/web/20150319032817/http://pac.iupac.org/publications/pac/pdf/2012/pdf/8402x0377.pdf>
- [57] A. Krieger. (2019). “*¿Are bioplastics better for the environment than conventional plastics?*”. University of Minnesota’s Institute on the Environment (ensia media). Minnesota, EE. UU. {En Línea}. {Acceso; junio 2, 2023}. Disponible en: <https://ensia.com/features/bioplastics-bio-based-biodegradable-environment/>
- [58] J. Robbins. (2020). “*why bioplastics will not solve the world’s plastics problem*”. Yale School of the Environment. {En Línea}. {Acceso; junio 2, 2023}. Disponible en: <https://e360.yale.edu/features/why-bioplastics-will-not-solve-the-worlds-plastics-problem>
- [59] Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MinAgricultura). (junio 29, 2021). “*Cadena de platano*”. Direccion de Cadenas Agricolas y Forestales. {En línea}. {Acceso: junio 2, 2023}. Disponible en: <https://sioc.minagricultura.gov.co/Platano/Pages/default.aspx>

- [60] Dirección de Impuestos y Aduanas Nacionales, DIAN. (diciembre 29, 2022). “*Avance de comercio exterior*”. Disponible en: <https://www.dian.gov.co/dian/cifras/Paginas/EstadisticasComEx.aspx>
- [61] Agencia de Renovación del Territorio, ART. (enero 1, 2017). “*Programas de Desarrollo con Enfoque Territorial (PDET)*”. Disponible en: https://www.renovacionterritoio.gov.co/especiales/especial_PDET/
- [62] Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación, MinCiencias. (junio 9, 2014). “*Planes y Acuerdos Estratégicos Departamentales (PAED) en Ciencia, Tecnología e Innovación (CTeI)*”. Disponible en: <https://minciencias.gov.co/gestion-territorial/planes-estrategicos-departamentales-en-ciencia-tecnologia-e-innovacion-pedcti>
- [63] Caracol Radio, “*Los residuos del plátano se pueden aprovechar eficientemente*”. Marzo 4, 2011. {En línea}. {Acceso: junio 1, 2023}. Disponible en: https://caracol.com.co/radio/2011/03/04/ecologia/1299231060_434552.html
- [64] Klason, P. T. (1894). “*Über die Cellulose in den Pflanzen und ihre Konstitution*”. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 27(2), 3421-3435. Disponible en: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/toc/10990682b/43/2>
- [65] Su, J., et al. (2019). “*A comprehensive comparison of lignin quantification methods via enzymatic, gravimetric, spectrophotometric, and 31P NMR analyses*”. *BioEnergy Research*, 12(2), 484-502.
- [66] Sluiter, A., et al. (2008). “*Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass*”. NREL Laboratory Analytical Procedure, NREL/TP-510-42618.
- [67] Chen, Y., et al. (2013). “*Understanding of alkaline pretreatment parameters for corn stover enzymatic saccharification*”. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1), 1-15.
- [68] L. McCabe, C. Smith y P. Harriott. “*Unit Operations of Chemical Engineering*”. The McGraw-Hill Companies, Inc. 4th edition. 1985.
- [69] Arcila Echavarría, D. C. (2016). “*Aprovechamiento de subproductos de la industria colombiana de aceite de palma para la producción de un biopolímero del tipo PHA*”.

- {Tesis de maestría}. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Disponible en: <https://bibliotecadigital.udea.edu.co/handle/10495/5742>
- [70] Chen, H., y Liu, J. (2020). “*Recent Advances in Lignin Valorization via Alkaline Catalytic Processes*”. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 59(40), 17621-17636.
- [71] Sun, S., y Sun, S. (2021). “*Valorization of lignin by-products from lignocellulosic biomass: A review of extraction, structure, and applications*”. *Journal of Cleaner Production*, 311, 127457.
- [72] Shinde, S. D., & Dhepe, P. L. (2019). “*Lignin Valorization: Progress and Opportunities*”. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 15, 47-54.
- [73] D. Jimenez Islas, et al. (2012). “*Obtención de azúcares fermentables mediante hidrólisis ácida de Beta vulgaris L.*”. *Revista Internacional De Contaminación Ambiental*. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992012000200006
- [74] Nuraya, A. S., A. Baharin and A. R. Azura, (2016). “*Effect of Ball Milling Time on Treated Banana Stem Fibre on the Mechanical Properties of Natural Rubber (NR) Latex Films*”. *Journal of Polymer Materials*. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/303701818_Effect_of_Ball_Milling_Time_on_Treated_Banana_Stem_Fibre_on_the_Mechanical_Properties_of_Natural_Rubber_NR_Latex_Films
- [75] López, L.; Acosta, A.; Zambrano, R. (2013). Evaluación de pretratamientos químicos para la hidrólisis enzimática de residuos lignocelulósicos de yuca (Manihot esculenta Crantz). *Revista Facultad Ingenieria Universidad de Antioquia*, 69, 317-326. Disponible en: https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/5461/1/NinoLilibeth_2013_EvaluacionPretratamientosQuimicos.pdf

- [95] Sannigrahi, P., Kim, D. H., y Ragauskas, A. J. (2011). Biorefinery: From biomass to chemicals and fuels. *Advances in Applied Microbiology*, 74, 77-263.
- [96] Sjöström, E. (1993). *Wood Chemistry: Fundamentals and Applications* (2nd ed.). Academic Press.
- [97] Zhao, X., Zhang, L., Liu, D., y Yu, J. (2012). A novel method to calculate the degree of delignification in lignocellulosic materials based on near infrared spectroscopy. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 6(2), 217-222.
- [98] Monlau, F., et al. (2015). New opportunities for agricultural digestate valorization: Current situation and perspectives. *Energy & Environmental Science*, 8(9), 2600-2621.
- [99] Siqueira, G., et al. (2016). Chemical composition and enzymatic digestibility of hydrothermal pretreated sugarcane bagasse. *Chemical Engineering Transactions*, 49, 295-300.
- [100] Kootstra, A. M., Beefink, H. H., y Scott, E. L. (2009). Pretreatment: the key to efficient utilization of lignocellulosic materials. *Biotechnology Advances*, 27(3), 256-261.
- [101] Himmel, M. E., et al. (2007). Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production. *Science*, 315(5813), 804-807.
- [102] Annamalai, N y N. Sivakumar. (2016). "*Production of polyhydroxybutyrate from wheat bran hydrolysate using Ralstonia eutropha through microbial fermentation*". *Journal of Biotechnology*. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168165616314894?via%3Dihub>
- [103] Saratale, G. D. y M. Oh, (2015). "*Characterization of poly-3-hydroxybutyrate (PHB) produced from Ralstonia eutropha using an alkali-pretreated biomass feedstock*". *International Journal of Biological Macromolecules*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.07.034>

- [104] Rainer, C. (2008). “*Genomic View of Energy Metabolism in Ralstonia eutropha H16*”. Karger. Disponible en: <https://karger.com/mmb/article/16/1-2/38/197037/Genomic-View-of-Energy-Metabolism-in-Ralstonia>
- [105] M. Pötter, et al. (2004). “*The complex structure of polyhydroxybutyrate (PHB) granules: four orthologous and paralogous phasins occur in Ralstonia eutropha*”. Microbiology (Society for General Microbiology). Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.26970-0>
- [106] S. Yang. (2007). “*Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources - New Technologies and Applications*”. Oxford: Elsevier. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/book/9780444521149/bioprocessing-for-value-added-products-from-renewable-resources>
- [107] M. A. Guancha, M. E. Realpe-Delgado, y J. García-Celis. (2021). “*Obtención polihidroxicanoatos (PHA) a partir de biomasa lignocelulósica: un estudio de revisión*”. Informador técnico del SENA. Disponible en: <https://doi.org/10.23850/22565035.3692>
- [108] Silva, L. F., et al. (2004). “*Poly-3-hydroxybutyrate (P3HB) production by bacteria from xylose, glucose and sugarcane bagasse hydrolysate*”. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology. Volumen 31, paginas 245 – 254. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10295-004-0136-7>
- [109] Barbosa, M., et al. (2005). “*Producción de poli-β-hidroxibutirato por R. eutropha*”. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Disponible en: <https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/download/4936/3811>
- [110] Janjaroen, W., Harnsamut, N. y Reungsang, A. (2010). “*Utilization of cassava starch hydrolysate for polyhydroxybutyrate production by recombinant Escherichia coli*”. Bioresource Technology, 101(17), 6679-6686.
- [111] Instituto de Biotecnología de las Plantas, Biotecnología Vegetal (2019) “*Optimización del medio de cultivo y las condiciones de fermentación para la*

- producción de un biofertilizante a base de Pseudomonas fluorescens*” (Vol 19) [En línea]. Disponible: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/624/html>
- [112] Singh, A. K., et al. (2019). “*Biomedical applications of microbially engineered polyhydroxyalkanoates: an insight into recent advances, bottlenecks, and solutions*”. Applied Microbiology and Biotechnology. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-018-09604-y>
- [113] Blamis dotaciones de laboratorio “*Agar Ogye, Base Segun Iso Para Microbiologia (500g)*” Disponible en: <https://blamis.com.co/productos/microbiologia/agares/agar-ogye-base-segun-iso-para-microbiologia-500g>
- [114] Blamis dotaciones de laboratorio “*Peptona Universal M 66 Para Microbiologia (1kg)*” Disponible en: <https://blamis.com.co/peptona-universal-m-66-para-microbiologia-1kg>
- [115] Bioser.com “*Extracto de Carne Bacteriológico*” [En línea]. Disponible en: <https://www.bioser.com/productos/extracto-de-carne-bacteriolgico-198p/>
- [116] El crisol Dotaciones de laboratorio “*SULFURIC ACID 1N. 1L. HYCELL*” [En línea]. Disponible en: <https://elcrisol.com.mx/acido-sulfurico-1n-1l-hycel.html>
- [117] Mercalab suministros de laboratorio online “*SODIUM HYDROXIDE PEARLS RA ACS 500 G*” [En línea]. Disponible en: <https://mercalab.com/hidroxido-de-sodio-perlas-ra-ac-s-500-g-mac--m7708--10>
- [118] Bioser.com “*Extracto de Levadura Bacteriológico*” [En línea]. Disponible en: <https://www.bioser.com/productos/bacteriological-yeast-extract1x25-kg/>
- [119] Fisher scientific “*Ácido 3,5-dinitrosalicílico, 98 %, Thermo Scientific Chemicals*” [En línea]. Disponible en: <https://www.fishersci.es/shop/products/3-5-dinitrosalicylic-acid-98-thermo-scientific/10654632>
- [120] Cupriavidus necator- 29713 | ATCC. Disponible en: <https://www.atcc.org/products/17699>

ANEXOS

ANEXO 1

CÁLCULOS DE LA FRACCIÓN MÁSCICA RETENIDA

➤ Malla 10

$$\frac{70,21 \text{ g}}{500 \text{ g}} = 0,14042$$

➤ Malla 30

$$\frac{142,95 \text{ g}}{500 \text{ g}} = 0,2859 \text{ g}$$

➤ Malla 70

$$\frac{115,66 \text{ g}}{500 \text{ g}} = 0,23132 \text{ g}$$

➤ Malla 100

$$\frac{91,65 \text{ g}}{500 \text{ g}} = 0,1833 \text{ g}$$

➤ Malla 140

$$\frac{37,42 \text{ g}}{500 \text{ g}} = 0,07484$$

➤ Malla 0 (tapadera)

$$\frac{1,24 \text{ g}}{500 \text{ g}} = 2,48 \times 10^{-3} \text{ g}$$

ANEXO 2

DIÁMETRO MEDIO DE LAS PARTÍCULAS

- Malla 0 (tapadera)

$$\frac{0 + 0,10414}{2} = 0,05207$$

- Malla 140

$$\frac{0,10414 + 0,14986}{2} = 0,127$$

- Malla 100

$$\frac{0,14986 + 0,21082}{2} = 0,18034$$

- Malla 70

$$\frac{0,21082 + 0,59436}{2} = 0,40259$$

- Malla 30

$$\frac{0,59436 + 1,99898}{2} = 1,29667$$

- Malla 10

$$\frac{1,99898 + 3,35}{2} = 2,67449$$

ANEXO 3

FRACCIÓN ACUMULATIVA INFERIOR

➤ Malla 100

$$0,07732 + 0,1833 = 0,26062$$

➤ Malla 70

$$0,26062 + 0,23132 = 0,49194$$

➤ Malla 30

$$0,49194 + 0,2859 = 0,77784$$

➤ Malla 10

$$0,77784 + 0,14042 = 0,91826$$

➤ Malla 6

$$0,91826 + 0,08174 = 1$$

ANEXO 4

MASA ACUMULADA

➤ Malla 30

$$111,08 \text{ gramos} + 142,95 \text{ gramos} = 254,03 \text{ gramos}$$

➤ Malla 70

$$254,03 \text{ gramos} + 115,66 \text{ gramos} = 369,69 \text{ gramos}$$

➤ Malla 100

$$369,69 \text{ gramos} + 91,65 \text{ gramos} = 461,34 \text{ gramos}$$

➤ Malla 140

$$461,34 \text{ gramos} + 37,42 \text{ gramos} = 498,76 \text{ gramos}$$

➤ Tapadera (malla 0)

$$498,76 \text{ gramos} + 1,24 \text{ gramos} = 500 \text{ gramos}$$

ANEXO 5

PORCENTAJE ACUMULADO

➤ Malla 10

$$\frac{111,08 \text{ gramos}}{500 \text{ gramos}} * 100 = 22,216 \%$$

➤ Malla 30

$$\frac{254,03 \text{ gramos}}{500 \text{ gramos}} * 100 = 50,806 \%$$

➤ Malla 70

$$\frac{369,69 \text{ gramos}}{500 \text{ gramos}} * 100 = 73,938 \%$$

➤ Malla 100

$$\frac{461,34 \text{ gramos}}{500 \text{ gramos}} * 100 = 92,268 \%$$

➤ Malla 140

$$\frac{498,76 \text{ gramos}}{500 \text{ gramos}} * 100 = 99,752 \%$$

➤ Tapadera (malla 0)

$$\frac{500 \text{ gramos}}{500 \text{ gramos}} * 100 = 100 \%$$

ANEXO 6

PORCENTAJE RETENIDO

➤ Malla 10

$$\frac{70,21 \text{ gramos}}{500 \text{ gramos}} * 100 = 14,042 \%$$

➤ Malla 30

$$\frac{142,95 \text{ gramos}}{500 \text{ gramos}} * 100 = 28,59 \%$$

➤ Malla 70

$$\frac{115,66 \text{ gramos}}{500 \text{ gramos}} * 100 = 23,132 \%$$

➤ Malla 100

$$\frac{91,65 \text{ gramos}}{500 \text{ gramos}} * 100 = 18,33 \%$$

➤ Malla 140

$$\frac{37,42 \text{ gramos}}{500 \text{ gramos}} * 100 = 7,484 \%$$

➤ Tapadera (malla 0)

$$\frac{1,24 \text{ gramos}}{500 \text{ gramos}} * 100 = 0,248 \%$$

ANEXO 7

PORCENTAJE DE MAYORES

➤ Malla 6

8,174 %

➤ Malla 10

8,174 % + 14,042 % = 22,216 %

➤ Malla 30

22,216 % + 28,59 % = 50,806 %

➤ Malla 70

50,806 % + 23,132 % = 73,938 %

➤ Malla 100

73,938 % + 18,33 % = 92,268 %

➤ Malla 140

92,268 % + 7,484 % = 99,752 %

ANEXO 8

PORCENTAJE DE MENORES

➤ Malla 10

$$100 \% - 22,216 \% = 77,784 \%$$

➤ Malla 30

$$100 \% - 50,806 \% = 49,194 \%$$

➤ Malla 70

$$100 \% - 73,938 \% = 26,062 \%$$

➤ Malla 100

$$100 \% - 92,268 \% = 7,732 \%$$

➤ Malla 140

$$100 \% - 99,752 \% = 0,248 \%$$

➤ Tapadera (malla 0)

$$100 \% - 100 \% = 0$$

ANEXO 9

ANÁLISIS PROXIMAL

✚ Porcentaje de humedad.

Cajas de Petri vacías y desecadas		
Cantidad	Peso (g)	Temperatura (°C)
1	42,1	103
2	49,78	
3	49,94	

✓ Caja de Petri n° 1 → Malla 30 ($\bar{D}_{pi} = \pm 1,29 \text{ mm}$)

$C1_{T \neq T_{amb}}$ = Caja de Petri vacía y desecada

w_{humedo} = Biomasa sin deshumidificar (gr)

w_{seco} = Biomasa deshumidificada (gr)

m_{humedo} = Masa de solido húmedo (gr)

m_{seco} = Masa de solido seco (gr)

Para el cálculo de la masa del solido húmedo se opera de la siguiente manera:

$$m_{humedo} = C1_{T \neq T_{amb}} + w_{humedo}$$

$$m_{humedo} = 42,1 \text{ g} + 20 \text{ g}$$

$$m_{humedo} = 62,1 \text{ g}$$

Para el cálculo de la masa del solido seco se opera de la siguiente manera:

$$m_{seco} = C1_{T \neq T_{amb}} + w_{seco}$$

$$m_{seco} = 42,1 \text{ g} + 10,8 \text{ g}$$

$$m_{seco} = 52,9 \text{ g}$$

El porcentaje de humedad se calcula como:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{m_{humedo} - m_{seco}}{m_{seco}} * 100$$

$$\% \text{ Humedad} = \frac{62,1 \text{ g} - 52,9 \text{ g}}{52,9 \text{ g}} * 100$$

$$\% \text{ Humedad} = 17,39$$

✓ Caja de Petri n° 2 → Malla 70 ($\bar{D}_{pi} = \pm 0,40 \text{ mm}$)

$C2_{T \neq T_{amb}}$ = Caja de Petri vacía y desecada

w_{humedo} = Biomasa sin deshumidificar (gr)

w_{seco} = Biomasa deshumidificada (gr)

m_{humedo} = Masa de solido húmedo (gr)

m_{seco} = Masa de solido seco (gr)

Para el cálculo de la masa del solido húmedo se opera de la siguiente manera:

$$m_{humedo} = C2_{T \neq T_{amb}} + w_{humedo}$$

$$m_{humedo} = 49,78 \text{ g} + 20 \text{ g}$$

$$m_{humedo} = 69,78 \text{ g}$$

Para el cálculo de la masa del solido seco se opera de la siguiente manera:

$$m_{seco} = C2_{T \neq T_{amb}} + w_{seco}$$

$$m_{seco} = 49,78 \text{ g} + 9,6 \text{ g}$$

$$m_{seco} = 59,38 \text{ g}$$

El porcentaje de humedad se calcula como:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{m_{humedo} - m_{seco}}{m_{seco}} * 100$$

$$\% \text{ Humedad} = \frac{69,78 \text{ g} - 59,38 \text{ g}}{59,38 \text{ g}} * 100$$

$$\% \text{ Humedad} = 17,51$$

✓ Caja de Petri n° 3 → Malla 100 ($\bar{D}_{pi} = \pm 0,18 \text{ mm}$)

$C3_{T \neq T_{amb}}$ = Caja de Petri vacía y desecada

w_{humedo} = Biomasa sin deshumidificar (gr)

w_{seco} = Biomasa deshumidificada (gr)

m_{humedo} = Masa de solido húmedo (gr)

m_{seco} = Masa de solido seco (gr)

Para el cálculo de la masa del solido húmedo se opera de la siguiente manera:

$$m_{humedo} = C3_{T \neq T_{amb}} + w_{humedo}$$

$$m_{humedo} = 49,94 \text{ g} + 20 \text{ g}$$

$$m_{humedo} = 69,94 \text{ g}$$

Para el cálculo de la masa del sólido seco se opera de la siguiente manera:

$$m_{seco} = C3_{T \neq T_{amb}} + w_{seco}$$

$$m_{seco} = 49,94 \text{ g} + 9,5 \text{ g}$$

$$m_{seco} = 59,44 \text{ g}$$

El porcentaje de humedad se calcula como:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{m_{humedo} - m_{seco}}{m_{seco}} * 100$$

$$\% \text{ Humedad} = \frac{69,94 \text{ g} - 59,44 \text{ g}}{59,44 \text{ g}} * 100$$

$$\% \text{ Humedad} = 17,66$$

✚ Material volátil.

Crisoles vacíos y no desecados		
Cantidad	Peso (g)	Temperatura (°C)
1	19,01	ambiente
2	19,07	
3	18,06	

Crisoles vacíos y desecados		
Cantidad	Peso (g)	Temperatura (°C)
1	17,77	950
2	17,81	
3	16,49	

Crisol n° 1 → Malla 30 ($\bar{D}_{pi} = \pm 1,29 \text{ mm}$)

$X1_{T=T_{amb}}$ = Masa del crisol vacío y no desecado.

$S1_{T \neq T_{amb}}$ = Masa del crisol vacío y desecado.

w_1 = Biomasa sin calentar (gr)

w_2 = Biomasa calentada (gr)

m_1 = Masa del crisol vacío y no desecado + Biomasa sin calentar (gr)

m_2 = Masa del crisol vacío y desecado + Biomasa calentada (gr)

Para realizar el cálculo de m_1 se reemplaza datos en la siguiente formula:

$$m_1 = X1_{T=T_{amb}} + w_1$$

$$m_1 = 19,01 \text{ g} + 20 \text{ g}$$

$$m_1 = 39,01 \text{ g}$$

Para hallar m_2 se realiza el mismo procedimiento efectuado para m_1 :

$$m_2 = S1_{T \neq T_{amb}} + w_2$$

$$m_2 = 17,77 \text{ g} + 10,5 \text{ g}$$

$$m_2 = 28,27 \text{ g}$$

Para hallar el porcentaje de material volátil se demuestra a continuación:

$$\% \text{ Material volátil} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - X1_{T=T_{amb}}} * 100$$

$$\% \text{ Material volátil} = \frac{39,01 \text{ g} - 28,27 \text{ g}}{39,01 \text{ g} - 19,01 \text{ g}} * 100$$

$$\% \text{ Material volátil} = 53,7$$

Crisol n° 2 → Malla 70 ($\bar{D}_{pi} = \pm 0,40 \text{ mm}$)

$X2_{T=T_{amb}}$ = Masa del crisol vacío y no desecado.

$S2_{T \neq T_{amb}}$ = Masa del crisol vacío y desecado.

$w_{1,1}$ = Biomasa sin calentar (gr)

$w_{2,2}$ = Biomasa calentada (gr)

$m_{1,1}$ = Masa del crisol vacío y no desecado + Biomasa sin calentar (gr)

$m_{2,2}$ = Masa del crisol vacío y desecado + Biomasa calentada (gr)

Para realizar el cálculo de $m_{1,1}$ se reemplaza datos en la siguiente formula:

$$m_{1,1} = X2_{T=T_{amb}} + w_{1,1}$$

$$m_{1,1} = 19,07 \text{ g} + 20 \text{ g}$$

$$m_{1,1} = 39,07 \text{ g}$$

Para hallar $m_{2,2}$ se realiza el mismo procedimiento efectuado para $m_{1,1}$:

$$m_{2,2} = S2_{T \neq T_{amb}} + w_{2,2}$$

$$m_{2,2} = 17,81 \text{ g} + 9,7 \text{ g}$$

$$m_{2,2} = 27,51 \text{ g}$$

Para hallar el porcentaje de material volátil se demuestra a continuación:

$$\% \text{ Material volátil} = \frac{m_{1,1} - m_{2,2}}{m_{1,1} - X_{2T=T_{amb}}} * 100$$

$$\% \text{ Material volátil} = \frac{39,07 \text{ g} - 27,51 \text{ g}}{39,07 \text{ g} - 19,07 \text{ g}} * 100$$

$$\% \text{ Material volátil} = 57,8$$

Crisol n° 3 → Malla 100 ($\bar{D}_{pi} = \pm 0,18 \text{ mm}$)

$X_{3T=T_{amb}}$ = Masa del crisol vacío y no desecado.

$S_{3T \neq T_{amb}}$ = Masa del crisol vacío y desecado.

$w_{1,1,1}$ = Biomasa sin calentar (gr)

$w_{2,2,2}$ = Biomasa calentada (gr)

$m_{1,1,1}$ = Masa del crisol vacío y no desecado + Biomasa sin calentar (gr)

$m_{2,2,2}$ = Masa del crisol vacío y desecado + Biomasa calentada (gr)

Para realizar el cálculo de $m_{1,1,1}$ se reemplaza datos en la siguiente formula:

$$m_{1,1,1} = X_{3T=T_{amb}} + w_{1,1,1}$$

$$m_{1,1,1} = 18,06 \text{ g} + 20 \text{ g}$$

$$m_{1,1,1} = 38,06 \text{ g}$$

Para hallar $m_{2,2,2}$ se realiza el mismo procedimiento efectuado para $m_{1,1,1}$:

$$m_{2,2,2} = S_{3T \neq T_{amb}} + w_{2,2,2}$$

$$m_{2,2,2} = 16,49 \text{ g} + 10,5 \text{ g}$$

$$m_{2,2,2} = 26,99 \text{ g}$$

Para hallar el porcentaje de material volátil se demuestra a continuación:

$$\% \text{ Material volátil} = \frac{m_{1,1,1} - m_{2,2,2}}{m_{1,1,1} - X_{3T=T_{amb}}} * 100$$

$$\% \text{ Material volátil} = \frac{38,06 \text{ g} - 26,99 \text{ g}}{38,06 \text{ g} - 18,06 \text{ g}} * 100$$

$$\% \text{ Material volátil} = 55,35$$

Cuantificación de cenizas.

Crisoles vacíos y desecados		
Cantidad	Peso (g)	Temperatura (°C)
1	17,77	950
2	17,81	
3	16,49	

Crisol n° 1 → Malla 30 ($\bar{D}_{pi} = \pm 1,29 \text{ mm}$)

$Z1_{T \neq T_{amb}}$ = Masa del crisol vacío y desecado

O_1 = Biomasa sin calentar (gr)

O_2 = Biomasa ceniza (gr)

m_1 = Masa del crisol vacío y desecado + Biomasa sin calentar (gr)

m_2 = Masa del crisol vacío y desecado + Biomasa ceniza (gr)

El procedimiento para calcular m_1 se demuestra a continuación:

$$m_1 = Z1_{T \neq T_{amb}} + O_1$$

$$m_1 = 17,77 \text{ g} + 20 \text{ g}$$

$$m_1 = 37,77 \text{ g}$$

Para hallar m_2 se realiza el mismo procedimiento efectuado para m_1 :

$$m_2 = Z1_{T \neq T_{amb}} + O_2$$

$$m_2 = 17,77 \text{ g} + 0,6918 \text{ g}$$

$$m_2 = 18,46 \text{ g}$$

Para cuantificar las cenizas en la biomasa se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Cenizas} = \frac{m_1 - Z1_{T \neq T_{amb}}}{m_2 - Z1_{T \neq T_{amb}}}$$

$$\text{Cenizas} = \frac{37,77 \text{ g} - 17,77 \text{ g}}{18,46 \text{ g} - 17,77 \text{ g}}$$

$$\text{Cenizas} = 28,91 \text{ g}$$

Crisol n° 2 → Malla 70 ($\bar{D}_{pi} = \pm 0,40 \text{ mm}$)

$Z2_{T \neq T_{amb}}$ = Masa del crisol vacío y desecado

$O_{1,1}$ = Biomasa sin calentar (gr)

$O_{2,2}$ = Biomasa ceniza (gr)

$m_{1,1}$ = Masa del crisol vacío y desecado + Biomasa sin calentar (gr)

$m_{2,2}$ = Masa del crisol vacío y desecado + Biomasa ceniza (gr)

El procedimiento para calcular $m_{1,1}$ se demuestra a continuación:

$$m_{1,1} = Z_{2_{T \neq T_{amb}}} + O_{1,1}$$

$$m_{1,1} = 17,81 \text{ g} + 20 \text{ g}$$

$$m_{1,1} = 37,81 \text{ g}$$

Para hallar $m_{2,2}$ se realiza el mismo procedimiento efectuado para $m_{1,1}$:

$$m_{2,2} = Z_{2_{T \neq T_{amb}}} + O_{2,2}$$

$$m_{2,2} = 17,81 \text{ g} + 0,81 \text{ g}$$

$$m_{2,2} = 18,62 \text{ g}$$

Para cuantificar las cenizas en la biomasa se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Cenizas} = \frac{m_{1,1} - Z_{2_{T \neq T_{amb}}}}{m_{2,2} - Z_{2_{T \neq T_{amb}}}}$$

$$\text{Cenizas} = \frac{37,81 \text{ g} - 17,81 \text{ g}}{18,62 \text{ g} - 17,81 \text{ g}}$$

$$\text{Cenizas} = 24,69 \text{ g}$$

Crisol n° 3 → Malla 100 ($\bar{D}_{pi} = \pm 0,18 \text{ mm}$)

$Z_{3_{T \neq T_{amb}}}$ = Masa del crisol vacío y desecado

$O_{1,1,1}$ = Biomasa sin calentar (gr)

$O_{2,2,2}$ = Biomasa ceniza (gr)

$m_{1,1,1}$ = Masa del crisol vacío y desecado + Biomasa sin calentar (gr)

$m_{2,2,2}$ = Masa del crisol vacío y desecado + Biomasa ceniza (gr)

El procedimiento para calcular $m_{1,1,1}$ se demuestra a continuación:

$$m_{1,1,1} = Z_{3_{T \neq T_{amb}}} + O_{1,1,1}$$

$$m_{1,1,1} = 16,49 \text{ g} + 20 \text{ g}$$

$$m_{1,1,1} = 36,49 \text{ g}$$

Para hallar $m_{2,2,2}$ se realiza el mismo procedimiento efectuado para $m_{1,1,1}$:

$$m_{2,2,2} = Z_{3_{T \neq T_{amb}}} + O_{2,2,2}$$

$$m_{2,2,2} = 16,49 \text{ g} + 1,79 \text{ g}$$

$$m_{2,2,2} = 18,28 \text{ g}$$

Para cuantificar las cenizas en la biomasa se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Cenizas} = \frac{m_{1,1,1} - Z_{3_{T \neq T_{amb}}}}{m_{2,2,2} - Z_{3_{T \neq T_{amb}}}}$$

$$\text{Cenizas} = \frac{36,49 \text{ g} - 16,49 \text{ g}}{18,28 \text{ g} - 16,49 \text{ g}}$$

$$\text{Cenizas} = 11,14 \text{ g}$$

✚ Carbono fijo.

Para determinar el carbono fijo de las tres muestras y sus respectivos ensayos, se realiza las siguientes operaciones:

Malla 30 ($\bar{D}_{pi} = \pm 1,29 \text{ mm}$)

% H_1 = Porcentaje de Humedad ensayo n° 1 malla 30

% MV_1 = Porcentaje de Material Volátil ensayo n° 1 malla 30

% C_1 = Porcentaje de cenizas ensayo n° 1 malla 30

$m_{malla\ 30}$ = Masa retenida en la malla 30 (cantidad de biomasa del flujo masico estático)

$$\% CF_1 = m_{malla\ 30} - (\% H_1 + \% MV_1 + \% C_1)$$

$$\% CF_1 = 142,95 - (17,39 + 53,70 + 28,91)$$

$$\% CF_1 = 42,95$$

Malla 70 ($\bar{D}_{pi} = \pm 0,40 \text{ mm}$)

% H_2 = Porcentaje de Humedad ensayo n° 2 malla 70

% MV_2 = Porcentaje de Material Volatil ensayo n° 2 malla 70

% C_2 = Porcentaje de cenizas ensayo n° 2 malla 70

$m_{malla\ 70}$ = Masa retenida en la malla 70 (cantidad de biomasa del flujo masico estático)

$$\% CF_2 = m_{malla\ 70} - (\% H_2 + \% MV_2 + \% C_2)$$

$$\% CF_2 = 115,66 - (17,51 + 57,80 + 24,69)$$

$$\% CF_2 = 15,66$$

Malla 100 ($\bar{D}_{pi} = \pm 0,18 \text{ mm}$)

$\% H_3$ = Porcentaje de Humedad ensayo n° 3 malla 100

$\% MV_3$ = Porcentaje de Material Volatil ensayo n° 3 malla 100

$\% C_3$ = Porcentaje de cenizas ensayo n° 3 malla 100

$m_{malla\ 100}$ = Masa retenida en la malla 100 (cantidad de biomasa del flujo masico estático)

$$\% CF_3 = m_{malla\ 100} - (\% H_3 + \% MV_3 + \% C_3)$$

$$\% CF_3 = 91,65 - (17,66 + 55,35 + 11,14)$$

$$\% CF_3 = 7,5$$

ANEXO 10

CÁLCULOS DEL RENDIMIENTO DE LA HIDRÓLISIS ÁCIDA

- Rendimiento para el ensayo n° 1

$$\frac{A_2}{A_1} \equiv \frac{11,324 \text{ g/L}}{6,64 \text{ g/L}}$$

La ecuación del rendimiento de la hidrolisis acida se describe como:

$$\% R_H = \frac{A_2}{A_1} * 100$$

Reemplazando datos:

$$\% R_H = \frac{11,324 \text{ g/L}}{6,64 \text{ g/L}} * 100$$

$$\% R_H = 170,54 \%$$

- Rendimiento para el ensayo n° 2

$$\frac{A_2}{A_1} \equiv \frac{17,116 \text{ g/L}}{18,36 \text{ g/L}}$$

La ecuación del rendimiento de la hidrolisis acida se describe como:

$$\% R_H = \frac{A_2}{A_1} * 100$$

Reemplazando datos:

$$\% R_H = \frac{17,116 \text{ g/L}}{18,36 \text{ g/L}} * 100$$

$$\% R_H = 93,22 \%$$

- Rendimiento para el ensayo n° 3

$$\frac{A_2}{A_1} \equiv \frac{24,32 \text{ g/L}}{29,24 \text{ g/L}}$$

La ecuación del rendimiento de la hidrólisis acida se describe como:

$$\% R_H = \frac{A_2}{A_1} * 100$$

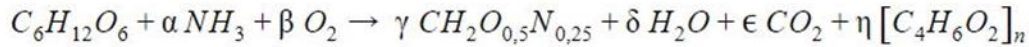
Reemplazando datos:

$$\% R_H = \frac{24,32 \text{ g/L}}{29,24 \text{ g/L}} * 100$$

$$\% R_H = 83,17 \%$$

ANEXO 11

RESOLUCIÓN EN EL SOFTWARE OCTAVE



Solucionando el balance por medio de un software como OCTAVE:

$$C : 6 = \gamma + \epsilon + 4\eta$$

$$H : 12 + 3\alpha = 2\gamma + 2\delta + 6\eta$$

$$O : 6 + 2\beta = 0,5\gamma + \delta + 2\epsilon + 2\eta$$

$$N : \alpha = 0,25\gamma$$

```
ejercicio.m x soluciones.m x
1 clc, clear all
2 Xo=[1,1,1,1,1,1]; %valores para iniciar iteracion%
3 [X,feval,flag]=fsolve('soluciones',Xo); %linea de solucion%
4 %X=[gamma(1),epsilon(2),nu(3),alfa(4),delta(5),beta(6)]%
5 gamma=X(1)
6 epsilon=X(2)
7 nu=X(3)
8 alfa=X(4)
9 delta=X(5)
10 beta=X(6)
```

```
ejercicio.m x soluciones.m x
1 function [F] = soluciones (X)
2 %X=[gamma(1),epsilon(2),nu(3),alfa(4),delta(5),beta(6)]%
3 %datos iniciales%
4
5 F(1)=X(1)+X(2)+4*X(3)-6;
6 F(2)=12+3*X(4)-2*X(1)-2*X(5)-6*X(3);
7 F(3)=6+2*X(6)-0.5*X(1)-X(5)-2*X(2)-2*X(3);
8 F(4)=X(4)-0.25*X(1);
9
10 endfunction
```

```
Octave
File Edit Debug Window Help News
Current Directory: C:
Command Window
gamma = 1.0728
epsilon = 0.85646
nu = 1.0177
alfa = 0.26820
delta = 2.2764
beta = 0.28056
>> soluciones
```