

# Cuantificación de azúcares reductores en las cáscaras de naranja y banano

## Quantification of reducing sugars from orange and banana Shell

William Giovanni Cortes Ortiz, José Francisco Ibla Gordillo, Lina María Calderón Velásquez, Andrés Felipe Herrera Bueno et Altri.

### Resumen

**E**n este trabajo se evaluó la hidrólisis ácida de la cáscara de banano y de naranja para la extracción de azúcares presentes en la biomasa de dicho material, para ello se cuantificó la cantidad de azúcares reductores presentes en las muestras de cáscara de naranja y cáscara de banano.

Este proceso inició con un pre-tratamiento físico de los residuos: lavado y reducción de las muestras, para luego llevar a cabo la eliminación de la lignina (polímero que protege los azúcares presentes en la biomasa ligno-celulósica) presente en las cáscaras de naranja y banano mediante una inmersión en solución básica de NaOH 0,100 M, obteniendo muestras con presencia de celulosa (bio-polímero compuesto principalmente de glucosa) y carentes de lignina; posteriormente se llevo a cabo un proceso de hidrólisis ácida con una solución de  $H_2SO_4$  al 5,0 N bajo 3 condiciones diferentes de calentamiento y agitación con el fin de comparar y encontrar el método más efectivo para la separación o fragmentación de dicha celulosa en moléculas de glucosa. Luego se realiza el ajuste del pH, para finalmente determinar los azúcares reductores mediante una técnica de colorimetría denominada DNS.

**Palabras clave:** Azúcares Reductores, Biomasa, Colorimetría, DNS, Hidrólisis, Lignina, pH.

### Abstract

**I**n this work the acid hydrolysis of orange and banana peels was studied to improve the extraction of reducing sugar present into biomass of this kind of organic samples. This process was started with physics pretreatment, washing and cutting were made and then a reaction with NaOH 0,100 M was done to eliminate the lignin present in each sample. The result was a samples with cellulose (glucose biopolymer). Then, the acid hydrolysis was started using aqueous solution of sulfuric acid 5,0 N, under three different heating and shaking condition to find the most effective method to break down the cellulose to glucose. The pH was fixed in all samples to determinate the concentration of reducing sugar by DNS method.

**Keywords:** Biomass, Colorimetry, DNS, Hydrolysis, Lignin, pH, Reducing sugars.

**Recibido:** Febrero 27 de 2013 **Aprobado:** Noviembre 18 de 2013

**Tipo de artículo:** Investigación científica y tecnológica terminada.

**Afiliación Institucional de los autores:** Programa de Ingeniería Ambiental, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia.

*Los autores declaran que no tienen conflicto de interés.*

## Introducción

La biomasa ligno-celulósica de la cual están compuestos los residuos de cáscara de naranja y banano, tiene una estructura compleja que consta de dos polímeros de carbohidratos, la celulosa (35-50%) y la hemicelulosa (15-25%), y un polímero fenólico; la lignina (20-25%). A partir de la celulosa y la hemicelulosa, se pueden obtener unidades monoméricas de glucosa, lo que le confiere un gran potencial a la biomasa ligno-celulósica como materia prima para la producción de glucosa que puede ser aprovechada en diversos usos industriales [1], [2].

Se plantean dos tipos de residuos ligno-celulósicos: cáscara de naranja y de banano, por la representatividad en producción que tienen a nivel mundial, en donde el banano producido en Colombia ocupa el lugar diez a nivel mundial con 2.034.340 Ton. Por parte de los cítricos, Colombia ocupa el lugar diecisiete en producción a nivel mundial con 1.257.839 Ton y de los cuales aproximadamente el 70% es de naranja y el 30% restante representa la parte de producción de mandarina y limón. [3]

Además de la producción de estas dos frutas, el estudio surge a partir de la problemática que abarcan los residuos orgánicos que se generan después del consumo. En Colombia se producen 27.500 Ton/día de los cuales el 65% son residuos orgánicos y en Bogotá se producen 6.500 Ton/día de residuos sólidos. [4] A partir de la disposición de residuos orgánicos, tales como las cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) y banano (*Musa sapientum*) se plantea como alternativa y objetivo de este proyecto la obtención de azúcares reductores a partir de biomasa ligno-celulósica por medio de la implementación de hidrólisis ácida, para su posible utilización en diversos usos industriales como por ejemplo la producción de bioetanol. [4]

El bioetanol es el resultado de la fermentación de materia orgánica por medio de la acción de microorganismos. Este producto puede ser empleado como biocombustible (como alternativa ante el consumo energético de combustible fósil en el sector de transporte), además se puede utilizar para producir subproductos de industrias como la farmacéutica, química, cosmética, licoreras, entre otras. [5], [6], [7], [8]

Las cáscaras con las cuales se trabajó experimentalmente, fueron recolectadas de la plaza de mercado del

barrio Restrepo, debido a la inadecuada disposición que los residuos orgánicos tienen; en donde debido a la falta de separación en la fuente por parte de las centrales de abastos, estos residuos son contaminados con residuos de tipo industrial como pilas, residuos plásticos, entre otros, representando una pérdida del 90% de materia prima para la posible realización de la producción de bioetanol. [9]

## Procedimiento

El proceso para la determinación de azúcares reductores en la cáscara de banano y naranja se realizó en una serie de pasos que se mencionan a continuación:

- a. Eliminación de lignina.
- b. Hidrólisis Ácida.
- c. Determinación de azúcares reductores.

Se tomaron seis muestras dentro de las cuales se asignan tres de estas, para cada tipo de cáscara, definidas como muestra de naranja, N1, N2, N3 y las cáscaras de banano como B1, B2, B3, respectivamente, las cuales fueron sometidas a procesos iguales con el fin de garantizar que los resultados obtenidos correspondan a la cantidad de azúcares presentes en cada una de las muestras.

- a. **Eliminación de lignina:** Las cáscaras de la naranja y el banano fueron reducidas a un tamaño entre 0,3 y 0,5 cm; con la finalidad de facilitar el manejo del material. Posteriormente se pesaron 50 g para cada una de las seis muestras y se sumergieron en 100 mL de una solución de Hidróxido de Sodio al 0,100 M para realizar la eliminación de la lignina durante un periodo de 24 horas. Después se filtró cada una de las muestras y se realizó la separación del hidróxido de sodio con lignina y los azúcares presentes en las muestras. [10]
- b. **Hidrólisis ácida:** Para las muestras 1 (B1, N1) se realizó la hidrólisis ácida a temperatura ambiente sin agitación. Agregando 100 mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) al 5,0 N por cada 50 g de cáscara sin lignina. Para las muestras 2 (B2, N2) se realizó la hidrólisis ácida a una temperatura de 56°C con agitación constante, utilizando la plancha de calentamiento –hot plate-stirrer hp220- a 300 r.p.m. Agregando 100 mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) al 5,0 N por cada 50 g de cáscara sin lignina.

Para las muestras 3 (B3, N3) se realizó la hidrólisis ácida a una temperatura de 68°C con agitación constante, utilizando la plancha de calentamiento –hot plate-stirrer hp220- a 300 r.p.m. Agregando 100 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 5,0 N por cada 50 g de cáscara sin lignina. Las seis muestras se dejaron reaccionar durante 30 minutos.

Después de cada uno de los procedimientos anteriores se realizó una filtración con el fin de separar la solución de ácido sulfúrico con hidróxido de sodio. [11], [12]

**c. Determinación de azúcares reductores:** Para la determinación de azúcares reductores se aplicó el método de colorimetría DNS (Acido 3,5 dinitrosalicílico) usando el espectrofotómetro -Thermo spectronic- se realizó la cuantificación de los azúcares presentes en cada una de las seis muestras, para lo cual se creó una curva de calibración a partir de una solución de glucosa (2,002 g/L), la cual está representada en la figura 1.

Inmediatamente después se procedió a realizar la neutralización de las muestras, ya que el medio se encontraba con un pH de 2, adicionando 10.5 g de carbonato de sodio (NaCO<sub>3</sub>) por cada 100 mL de muestra.

Posteriormente se procede a realizar el método DNS con la curva de calibración, el cual se realiza de la siguiente forma:

Para la curva de calibración se toman seis muestras de la solución patrón que se llevaron al espectrofotómetro, en la primera muestra se toman únicamente 1000 µL de agua destilada, en la segunda muestra se diluyen 200 µL de solución patrón en 800 µL de agua destilada, en la tercera muestra se diluyen 400 µL de solución patrón en 600 µL de agua destilada, en la cuarta se diluyen 600 µL de solución patrón en 400 µL de agua destilada, en la quinta se diluyen 800 µL de solución patrón en 200 µL de agua destilada y en la sexta se agrega 1000 µL de la solución patrón.

A cada una de estas diluciones se les adiciona 1000 µL de DNS y 10 mL de agua destilada.

Posterior a la realización de las diluciones, estas se llevaron a baño de maría para que el DNS reaccionara con el azúcar de las muestras. Luego se introdujeron en el espectrofotó-

metro, y se realizó la curva de calibración; seguido a esto se tomaron 1000 µL de cada una de las 6 muestras y se le adicionaron 1000 µL de DNS, luego se agregó 10 mL de agua destilada y se llevaron a baño de maría, a continuación se trasladaron al espectrofotómetro y se cuantificó el azúcar presente en cada una de las muestras.

## Resultados

Figura 1. Curva de calibración de glucosa

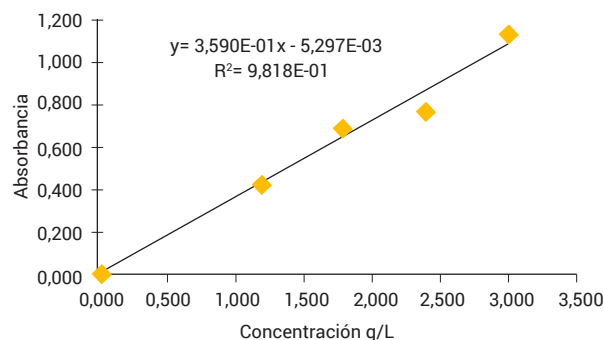


Tabla 1. Cuantificación de azúcares reductores en las cáscaras de naranja y banana

Muestras	Absorbancia	Concentración * Fd (g/L)
B 1	1,383	38,77
B 2	0,989	27,72
B 3	1,250	35,04
N 1	1,434	40,20
N 2	0,900	25,23
N 3	2,136	59,88

## Discusión

Al aplicar la técnica DNS, se pudo determinar que la mayor cantidad de azúcares se encuentran en las cáscaras de naranja, pues su valor más alto se reportó en la muestra N3 (ver tabla 1), es decir, esta muestra contenía 59,88 g/L de glucosa. Sin embargo, la cantidad de azúcares que se reportaron en las muestras de banana son significativamente altas a las reportadas por Hoyos y Pérez (2003) [7], con un valor de 38,77 g/L de azúcares reductores mostrados en la tabla 1.

La concentración de azúcares reductores que se obtuvieron muestran un valor alto, debido a que el tiempo que permanecieron las muestras sumergidas en Hidróxido de

Sodio (NaOH) para la eliminación de lignina fue de 24 horas, en cambio en la investigación realizada por Hoyos y Pérez el tiempo que permanecieron sumergidas las muestras fue de 15 min, por lo tanto se infiere que el tiempo es un factor importante en la eliminación del polímero de las cáscaras. De la misma manera durante la hidrólisis se extrajo mayor cantidad de azúcares presentes en las muestras. Para el caso de las cáscaras de banano, el resultado obtenido por Hoyos y Perez (2003) [7] fue de 20 g/L en comparación a la cantidad de azúcares en las tres muestras de cáscara de banano que fueron superiores. (ver tabla 1). Realizando un análisis a los resultados obtenidos en la cuantificación de azúcares de las diferentes muestras, se pudo observar que las mayores cantidades de azúcar se encontraron en las muestras N1, N3, B1 y B3 (tabla 1). Para las muestras B2 y N2 la diferencia de concentración no es significativa con respecto a las otras, lo cual indica que en este caso la hidrólisis no es más eficiente al incrementar la temperatura o generar agitación, por lo cual se infiere que el proceso fue producto de la reacción de la materia prima y los compuestos presentes y la temperatura y la agitación no funcionan como catalizadores significativos en la reacción.

Comparando los datos obtenidos de la concentración de azúcares reductores en las cáscaras de banano con los resultados de otra investigación realizada por Hoyos y Pérez [7], que obtuvo un valor de 20 g/L en relación al resultado obtenido en la muestra B3 fue de 35,04 g/L, por lo tanto se puede inferir que se obtuvo mayor cantidad de azúcares reductores debido a que las muestras permanecieron sumergidas en la solución de NaOH durante 24 horas para la eliminación de la lignina, lo cual facilitó la obtención de dichos azúcares.

Si se quisiera producir glucosa en masa o en mayores cantidades a partir de biomasa ligno-celulósica, la diferencia de concentración no justifica que se lleve a cabo el método utilizado en las muestras B3 y N3, ya que este método requiere agitación e incrementar la temperatura de la muestra en el proceso de hidrólisis (lo que implica un gasto de energía), lo cual incrementaría en gran medida el costo de producción de glucosa, en contraposición al método utilizado en las muestras B1 y N1, en las cuales la hidrólisis se llevó a cabo a temperatura ambiente y sin agitación, evitando dicho sobre costo en términos de energía.

## Conclusiones

En el estudio realizado se evidencia que el tiempo es un factor determinante durante la eliminación de lignina en las cáscaras de banano, ya que durante las pruebas se obtuvo una eliminación efectiva del polímero, lo cual en comparación con el estudio realizado [10], la obtención de los azúcares reductores fue mayor.

En este estudio se evidencia que las cáscaras de naranja tienen mayor cantidad de azúcares reductores con respecto a las cáscaras de banano en las condiciones metodológicas usadas en este trabajo.

## Bibliografía

- [1] L. Olsson y B. Hahn. "Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production, (enzyme and microbial technology) 18: pp. 312-321.
- [2] L. TEJADA, C. TEJADA, A.VILLABONA, M.AIVEAR, C.CASTILLO, D.HENAO, W.MARIMON, N.MADARIAGA y A.TARON. "Producción de bioetanol a partir de la fermentación alcohólica de jarabes glucosados derivados de cáscaras de naranja y piña, (Revista Educación en Ingeniería)". Cartagena, Colombia. 2010, pp 2-4.
- [3] FINAGRO. Noviembre 30, 2012. LOS CÍTRICOS EN EL MUNDO Online [[http://www.finagro.com.co/html/i\\_portals/index.php?p\\_origin=internal&p\\_name=content&p\\_id=MI-265&p\\_options=](http://www.finagro.com.co/html/i_portals/index.php?p_origin=internal&p_name=content&p_id=MI-265&p_options=)].
- [4] G, JARAMILLO, L. M, ZAPATA. "Aprovechamiento de los residuos sólidos orgánicos en Colombia, (Universidad de Medellín)," tesis. 2008, pp. 20-106.
- [5] J. MONSALVE, V. MEDINA, A. RUIZ. "producción de etanol a partir de las cáscaras de banano y de almidón de yuca, (universidad nacional de colombia)," vol. 73. medellín, 2006, pp. 21-27.
- [6] J. SÁNCHEZ. "Producción de etanol a partir de basura orgánica. El programa PERSEO aplicado a México, (Universidad Juárez del Estado de Durango)," . México, 2010.
- [7] A.M, SÁNCHEZ, A.I, GUTIERREZ, J.A, MUÑOZ Y C.A, BARRERO. "Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos, (Revista Tumbaga)," . Mayo 2010, pp. 61-91.

- [8] L. TEJEDA, J. QUINTANA, J. PÉREZ, H. YOUNG. “Obtención de etanol a partir de residuos de poda, mediante hidrólisis ácida e hidrólisis enzimática, (Fundación Universitaria Tecnológico Comfenalco),”. Rev. U.D.C.A. Cartagena, 2011, pp. 111-116.
- [9] *Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial viceministerio de ambiente*. 2008. Construcción de criterios técnicos para el aprovechamiento y valorización de residuos sólidos orgánicos con alta tasa de biodegradación, plásticos, vidrio, papel y cartón, pp. 6-12. Online [[http://www.minambiente.gov.co/documentos/4077\\_170909\\_criterios\\_tec\\_residuos\\_org.pdf](http://www.minambiente.gov.co/documentos/4077_170909_criterios_tec_residuos_org.pdf)].
- [10] L. HOYOS, Y. PEREZ, “pretratamiento del material lignocelulósicos de la planta de banano y su fruto para la producción de jarabe, (universidad nacional de colombia),” medellín, 2003.
- [11] G. BELDMAN, A. G. J. VORAGEN, F. M. ROMBOUTS, W. PILNIK. “Synergism in cellulose hydrolysis by endoglucanases and exoglucanases purified from trichoderma viride, (biotechnology and bioengineering),” vol. 31. february 1988, pp. 173-178.
- [12] C.A, CARDONA, O.J, SÁNCHEZ, M.I, MONTOYA, J.A, QUINTERO. “Producción de etanol carburante: material lignocelulósicos una nueva alternativa, (Universidad del Valle),”. Vol. II, núm. 1, 2005, pp. 47-55.

## Los Autores



### William Giovanni Cortés Ortiz

Licenciado en Química y Magister en Ciencias Ambientales con experiencia en análisis cromatográficos; enfoca sus estudios en el aprovechamiento de residuos agroindustriales con el fin de obtener materias primas para la obtención de diferentes productos químicos.



### Jose Francisco Ibla Gordillo

Químico de la Universidad Nacional de Colombia, cPhD en Ciencias Química de la Universidad Nacional de Colombia en el área de Termodinámica de soluciones de sistemas biológicos. Experiencia en manejo de residuos industriales y procesos a altas presiones y temperaturas.



### Calderon Velasquez Lina Maria

Bachiller Académico del Colegio La Presentación de Ocaña, Premio en las Olimpiadas de Matemáticas de la Universidad El Bosque en el año 2011. Curso Intensivo de Ingles en la misma universidad.



### Herrera Bueno Andres Felipe

Bachiller Académico del Colegio Instituto Henao y Arrubla, medalla mejor ICFES y medalla honorífica “Pedro Nel Mateus” promoción 2008. Seleccionado por la beca “Quiero Estudiar” Universidad de los Andes, 2009. Curso Intensivo En Ingles, Universidad Pedagógica Nacional, Bogotá D.C, 2011.