Influence of *Saccharomyces cerevisiae* on Bioethanol Production from *Musa paradisiaca* Husk Waste

Leyva-Diaz, Gerson Ianfranco (UPN), Velásquez Marín, Magda Mtr (Licapa Redolfo, Gladys Mtr (UPN), Av. Tingo María 1122, Cercado de Lima, Perú, gleyvad (1 @gmail.com, Magda.velasquez @upn.pe, gladys.licapa @upn.edu.pe, juan.flores @upn.pe

Abstract- Fuel is an essential substance due to its wide range of applications in different productive sectors. As a result, various environmental challenges have arisen, such as climate change and the increase in global temperature. Therefore, the objective of this research was to evaluate the production of bioethanol from Musa paradisiaca shell waste using different amounts of Saccharomyces cerevisiae. To do so, a quantitative approach methodology was applied with a 3×2 factorial experimental design. The procedure included mechanical pretreatment, hydrolysis and fermentation. As a result, it was found that the highest concentration of bioethanol obtained had a value of 6,85 g/L with two grams of yeast. Regarding the Brix, an average of 8,20 was reached in all experiments at the end of hydrolysis. Subsequently, after fermentation with one gram and two grams of yeast, these values were reduced to 3 Brix and 2 Brix. Similarly, in relation to pH, an average decrease was reported from 5,77 to 4,77 and 3,77, respectively. In conclusion, the statistical analysis showed that yeast, independently, significantly influences the bioethanol concentration, *Brix and pH.

Keywords: bioethanol, fermentation, Musa paradisiaca, Saccharomyces cerevisiae.

1

Influencia de *Saccharomyces cerevisiae* en la Producción de Bioetanol a partir de Residuos de Cáscara de *Musa paradisiaca*

Leyva-Diaz, Gerson Ianfranco ¹, Velásquez-Marín, Magda Mtr ¹; Licapa-Redolfo, Gladys Mtr ¹, and Flores-Cerna, Juan Mtr ¹ *Universidad Privada del Norte (UPN), Av. Tingo María 1122, Cercado de Lima, Perú*, gleyvad 1 @gmail.com, Magda.velasquez@upn.pe, gladys.licapa@upn.edu.pe, *juan.flores@upn.pe*

Resumen: El combustible es una sustancia esencial debido a su amplia gama de aplicaciones en los diferentes sectores productivos. Como consecuencia, han surgido diversos desafíos ambientales, como el cambio climático y el aumento de la temperatura global. Por lo cual, el objetivo de esta investigación fue evaluar la producción de bioetanol a partir de residuos de cáscara de Musa paradisiaca mediante distintas cantidades de Saccharomyces cerevisiae. Para ello, se aplicó una metodología de enfoque cuantitativo con diseño experimental de tipo factorial 3×2. El procedimiento incluyó un pretratamiento mecánico, hidrólisis y fermentación. Como resultado, se encontró que la mayor concentración de bioetanol obtenida tuvo un valor de 6,85 g/L con dos gramos de levadura. En cuanto a los Brix, se alcanzó un promedio de 8,20 en todos los experimentos al finalizar la hidrólisis. Posteriormente, tras la fermentación con un gramo y dos gramos de levadura, estos valores se redujeron a 3 Brix y 2 Brix. De manera similar, con relación al pH, se reportó una disminución promedio de 5,77 a 4,77 y 3,77, respectivamente. A manera de conclusión, el análisis estadístico demostró que la levadura, de forma independiente, influye significativamente en la concentración de bioetanol, *Brix y pH.

Palabras clave: bioetanol, fermentación, Musa paradisiaca, Saccharomyces cerevisiae.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el representativo avance de la industrialización, así como la modernización en la forma de vida de todas las personas, ha conllevado un incremento de vehículos en todo el mundo. Actualmente, el 80 % del requerimiento mundial de energía es cubierto por los combustibles fósiles, siendo el petróleo el más importante, con el 33 % del abastecimiento total de energía [1]. Esto ha conllevado al incremento de las emisiones de gases de efecto invernadero, como dióxido de carbono, metano, óxido nitroso y clorofluorocarbonos [2], lo cual ha repercutido en un aumento de la temperatura global en aproximadamente 1,10 °C, acelerando así la pérdida de hielo en los glaciares, el aumento del nivel del mar y la intensificación de fenómenos meteorológicos adversos [3].

Adicionalmente, las disputas geopolíticas a nivel mundial han ocasionado un vaivén en los precios de este valioso recurso, el cual es no renovable y cuya explotación es finita [4]. Para abordar esto y con el fin de proteger la seguridad energética a nivel mundial, se está incentivando el reemplazo de los combustibles fósiles por combustibles más limpios y renovables, siendo indispensable desarrollar una fuente de energía paralela [5]. En este contexto, el Objetivo de Desarrollo Sostenible 12 (ODS 12), denominado "Producción y consumo responsables", propone, entre otros, poner en marcha estrategias de reutilización con el fin de reducir las pérdidas de alimentos en las cadenas de producción y suministro. Esta idea se relaciona directamente con la necesidad de diversificar las fuentes de energía optimizando el uso de recursos que actualmente no son debidamente gestionados, promoviendo así la economía circular y la mitigación del cambio climático, el cual es abordado por el (ODS 13), llamado "Acción por el clima" [6].

La *Musa paradisiaca* (en adelante, plátano), es una de las frutas que más se cultiva alrededor del mundo. Esta ocupa el segundo lugar, con un 16 % de la producción mundial de frutas, situándose solo por debajo de los cítricos y de los cultivos alimentarios como el arroz y el maíz [7]. En el año 2022, la producción mundial alcanzó los 95,50 millones de toneladas, concentrada principalmente en tres continentes: el 51,70 % se produjo en Asia, el 23,80 % en las Américas y el 22,90 % en África. India es el principal productor y contribuye con aproximadamente el 36,15 % de la producción mundial de plátano, seguida de China continental, Indonesia, Nigeria, Brasil y Ecuador [8].

Existen investigaciones como [9], en su investigación titulada "Obtención artesanal de bioetanol mediante desechos de la cáscara de plátano", se empleó un diseño experimental factorial 3×2 con el objetivo de optimizar el contenido de alcohol. Se analizaron tres concentraciones iniciales de levadura (1,10 gramos (en adelante, g), 5 g y 10 g) combinadas con dos estados de madurez de cáscara de plátano (madura y verde), llevando a cabo el proceso de fermentación durante un período de 8 días, empleando en todos los casos 50 g de biomasa como materia prima. La concentración más alta de etanol se obtuvo a partir de la cáscara madura con 10 g de levadura, alcanzando un valor de 12,21 g/L en el primer experimento y 17,96 g/L en la réplica. En contraste, en la cáscara verde, la concentración de etanol más alta alcanzó un valor de 1,32 g/L y, en la réplica, un valor de 3,40 g/L. La conclusión más relevante fue que la cantidad de levadura

utilizada en el proceso de fermentación afecta directamente en la producción de bioetanol. Asimismo, la cáscara de plátano como materia prima es una alternativa prometedora; sin embargo, la cáscara madura demostró ser más eficiente en la generación de biocombustibles.

Por otro lado [10] en su investigación titulada "El uso de cáscaras de plátano como materia prima para la producción de bioalcohol", llevaron a cabo un estudio de tipo experimental con el objetivo de analizar el potencial de producción de bioalcohol a partir de cáscaras de plátano. Se utilizaron 200 g de cáscara de plátano para cada variedad (raja, agung y nangka), con variaciones de levadura al 1 %, 3 % y 5 % para el proceso de fermentación durante un período de 5 días. En el estudio se probó que los porcentajes más altos de producción de bioetanol a partir de las cáscaras de plátano Raja, Agung y Nangka fueron del 1,05 %, 1,52 % y 1,70 %.

También, [11] en su artículo de investigación científica titulado "Una comparación de la producción de etanol utilizando fermentación por hidrólisis separada y métodos simultáneos de sacarificación y fermentación aplicados a los desechos de cáscara de plátano Tanduk", se enfocaron en la producción de bioetanol aplicando un análisis donde se compararon las técnicas de Fermentación por Hidrólisis Separada (En adelante, SHF) y Sacarificación y Fermentación Simultánea (En adelante, SSF) con distintas cantidades de cáscara de plátano Tanduk: 200, 250 y 300 g/L. La fermentación se efectuó utilizando un cultivo iniciador compuesto por 0.01 g de levadura previamente activada y tuvo una duración de 4 días, realizándose la recolección de muestras a intervalos de 12 horas. En el método SHF, al inicio de la fermentación (t= 0 horas), se observó que la concentración de etanol fue de 42,98 g/L y al finalizar (t= 96 horas), aumentó a 51,11 g/L, superando al método SSF, que al inicio de la fermentación se observó que la concentración de etanol fue de 23,48 g/L y al finalizar fue de 33,67 g/L. Se concluyó que el método SHF es superior al método SSF, ya que produce una mayor cantidad de bioetanol bajo la misma cantidad de materia prima.

Según [12], en su artículo de investigación llamado "Producción de bioetanol a partir de jugo de desechos de fruta de piña utilizando levadura de panadería", emplearon el jugo de desechos de piña como insumo para la obtención de bioetanol, comparando dos métodos en el proceso de fermentación: con y sin levadura. El estudio incluyó un pretratamiento físico, hidrólisis natural, fermentación del jugo de desechos de piña y posterior destilación. Al finalizar la hidrólisis, se produjeron 12,67 grados Brix (En adelante, °Brix) y un pH cerca de los 3,25. Para el proceso de fermentación, se compararon dos tratamientos (En adelante, T): con y sin levadura. El efecto que se observó es que el T con levadura aceleró la producción de bioetanol, disminuyendo de 12,67 °Brix a 5° Brix aproximadamente en solo dos días, en comparación al T sin levadura que le tomó el doble de tiempo alcanzar un nivel similar. En cuanto al pH, se observó que el T con levadura incrementó la reducción del pH, a diferencia del T sin levadura, que también lo redujo, pero en una menor proporción.

Por otra parte [13], en su proyecto de investigación titulado "Determinación del rendimiento en la obtención de bioetanol a partir de la cáscara de tres variedades de la Musa paradisiaca", buscaron la obtención de bioetanol a partir de tres variedades de cáscara de plátano. Llevaron a cabo el proceso de fermentación de levadura utilizando tres tipos de cáscaras de plátano: Palillo, Bellaco y Seda. Se monitorearon el pH y los °Brix durante un periodo de 11 días antes de realizar la destilación. Se encontró que en la variedad Palillo, el pH inicial de 6,50 disminuyó a 4 al finalizar el undécimo día, mientras que los °Brix bajaron de 6 a 3. En el caso de la variedad Bellaco, el pH comenzó en 5,50 y se redujo a 4 al día 11; los °Brix pasaron de 8 a 3 en el mismo periodo. Por último, para la variedad Seda. el pH empezó en 5,50 y también disminuyó a 4 al día 11, mientras que los °Brix descendieron de 7 a 3. Se concluyó que es factible la producción de bioetanol, sin embargo, esta no depende de la variedad plátano, debido a que no se presentaron diferencias significativas, lo que plantea una equivalencia en la composición química entre estas variedades.

Asimismo [14], en su artículo de investigación científica titulado "Producción de bioetanol a partir de residuos orgánicos vegetales", evaluaron la producción de bioetanol a partir de cáscaras de mandarina, maracuyá y hojas de eucalipto, mediante un proceso de hidrólisis con ácido clorhídrico a una temperatura de 100 °C por 5 horas, seguido de fermentación con levadura. Los "Brix obtenidos después del tratamiento ácido fueron de 14 para la cáscara de mandarina, 20 para la cáscara de maracuyá y 22 para las hojas de eucalipto. La fermentación se llevó a cabo durante 7 días y, al finalizar, alcanzó un pH de 4 para la cáscara de mandarina, un pH de 4 para la cáscara de maracuyá y un pH de 4,50 para las hojas de eucalipto.

Finalmente, en el trabajo [15] titulado "Obtención de bioetanol a partir del banano orgánico (Musa paradisiaca) no exportable", con el fin de obtener bioetanol a partir de un fermentado de pulpa residual, se analizaron los parámetros fisicoquímicos de "Brix y pH en diferentes diluciones de mosto de plátano con agua (1:0,50, 1:1 y 1:1,50) y a temperaturas de 25 °C y 37 °C. El mayor valor de "Brix a 25 °C y 37 °C se reportó en la dilución 1:0,50 con un valor para ambos de 14, disminuyendo a 5° Brix tras la fermentación. Por otro lado, el pH a 25 °C y 37 °C mostró una disminución, pasando de valores iniciales de 5,30 a 3,80 en promedio. La conclusión, tomando como referencia el análisis estadístico, demostró que existen diferencias significativas con relación a la levadura empleada y la disminución de "Brix.

La presente investigación adquirió especial relevancia al abordar el incremento de la producción de plátano en la actualidad y la falta de gestión de sus desechos orgánicos, lo que ha conllevado a serios problemas y retos medioambientales. Todos los residuos que se generan a partir de su consumo, como pseudotallos, hojas, frutos y principalmente cáscaras, son

arrojados sin ningún control a fuentes de agua como ríos, lagunas y océanos. Esta mala costumbre no solo tiene un impacto en las fuentes de agua, sino que también contribuye a la emisión de gases de efecto invernadero, empeorando así el cambio climático. Al mismo tiempo, el proyecto resulta conveniente porque plantea la producción de bioetanol a partir de residuos de cáscara de plátano mediante distintas cantidades de levadura, lo cual ayudará a disminuir los residuos que se generan actualmente y que no tienen una correcta disposición final. De esta manera, se aprovecha el potencial energético de la biomasa, transformándola así en un biocombustible.

Por todo lo antes mencionado la presente investigación tiene como objetivo evaluar la influencia de *Saccharomyces Cerevisiae* en la producción de bioetanol a partir de residuos de cáscara de *Musa paradisiaca*.

II. METODOLOGÍA

A. Diseño y nivel de investigación

De manera que, según lo señalado por [16], el diseño experimental se centra en la evaluación de las condiciones experimentales y la respuesta obtenida, mediante el control de las variables independientes. Por consiguiente, la presente investigación es de diseño experimental de tipo factorial 3×2 con tres repeticiones; los experimentos consistieron en la combinación de tres variedades de cáscara de plátano (seda, isla y bellaco) y dos cantidades de levadura (1g y 2g). Asimismo, se sostiene que según [17], la presente investigación se enmarca dentro del nivel explicativo porque su propósito fundamental es identificar y analizar la relación que hay entre la causa y el efecto de un determinado hecho o fenómeno natural. En ese sentido, se desea evaluar la influencia de *Saccharomyces Cerevisiae* (causa) en la producción de bioetanol (efecto) a partir de residuos de cáscara de *Musa paradisiaca*.

B. Población, muestra y muestreo

"La población se define como la asociación de elementos cuyos atributos deseamos estudiar" [19]. Por consiguiente, se consideró como población un 1 kg de cáscara de plátano de seda, 1 kg de cáscara de plátano de isla y 1 kg de cáscara de plátano bellaco que fueron recolectadas del mercado Mayorista en los puestos de jugo de frutas, ubicados en el distrito de Trujillo. Para elegir de manera correcta la muestra, primero se tiene que hacer la elección de un subgrupo de la población o universo en el que se va a realizar la investigación, y se debe garantizar que la muestra sea representativa si se desea inferir resultados precisos y confiables [18]. De modo que, la muestra que se tomó en cuenta fue 70 g de cáscara de plátano de seda, 70 g de cáscara de plátano de isla y 70 g de cáscara de plátano bellaco. En última instancia, se incorporó el muestreo no probabilístico intencional, debido a que la muestra se eligió de acuerdo con criterio del investigador, seleccionando

únicamente cáscaras sin presencia de manchas oscuras, de moho y desintegración [20].

C. Técnica e instrumento

En relación con lo que mencionan [18], se sostiene que en esta investigación se utilizó la técnica de observación experimental, porque el investigador tiene la capacidad de manipular las variables y establecer condiciones controladas para obtener datos precisos y consistentes. Ahora bien, los instrumentos son todos aquellos recursos tangibles que tienen como propósito la recolección de toda la información determinante a lo largo del proceso de estudio [21]. Por consiguiente, se sostiene que en esta investigación se utilizó la balanza digital, refractómetro analógico marca KERN®, pHmetro, espectrofotómetro UV-Vis marca Vernier para la obtención de los datos, y para la anotación se empleó la ficha de registro.

D. Procedimiento experimental

D.1. Pretratamiento mecánico

Las cáscaras de plátano se recolectaron del mercado Mayorista ubicado en la Av. María Eguren, distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, región La Libertad. Se seleccionaron y separaron en tres tipos de cáscara (seda, isla y bellaco) en óptimas condiciones, libres de impurezas y manchas. Luego, se cortaron las cáscaras en tamaños de 2 a 3 cm y se prepararon 6 envases de una capacidad de 460 ml; se separaron dos envases para cáscara de plátano de tipo seda, dos envases para cáscara de plátano de tipo isla y dos envases para cáscara de plátano de tipo bellaco. Se rotularon y se agregaron 70 gr de cáscara a cada envase según su tipo. Después, se llevaron todas las muestras a una estufa esterilizadora para una explosión de vapor a 121 °C por 15 minutos.

D.2. Hidrólisis Alcalina

El pretratamiento alcalino se llevó a cabo según el método de [9], con algunas modificaciones. La biomasa presente en todos los envases se sumergió en una solución de Hidróxido de sodio (En adelante, NaOH) al 4 % durante 180 minutos con una relación sólido-líquido de 1:5 a temperatura ambiente. Una vez transcurridos los 180 minutos, se procedió a hacer un lavado con agua destilada con el fin de neutralizar el pH.

D.3. Pretratamiento Ácida

Para la hidrólisis ácida, se aplicó la metodología de [22], también con algunas variaciones. Se agregaron 350 ml de ácido fosfórico (En adelante, $H_3(PO)_4$) al 7 % con una relación sólido-líquido de 1:5 en todas las muestras. La hidrólisis se

realizó en una autoclave a 121 °C en un lapso de 15 min para todos los experimentos. Una vez finalizada la hidrólisis, se agregó NaOH a todas las muestras hasta llegar a un rango de pH de 5 a 5,50, considerado como el pH inicial del mosto. A continuación, se determinó la concentración inicial de azúcar en todas las muestras utilizando el método de refractometría, empleando un refractómetro analógico de la marca KERN®, así como el pH inicial de la muestra con un pH-metro.

D. Fermentación

Antes de comenzar el proceso de fermentación, se procedió a activar la levadura añadiendo 1g de levadura en tres envases y 2 g en otros tres. Posteriormente, se incorporaron 3 g de azúcar en cada envase junto con 50 ml de agua destilada. La mezcla se agitó hasta obtener una consistencia homogénea y se dejó reposar durante 15 minutos. Luego, se añadió el jarabe y el mosto resultante de la hidrólisis en los envases. Estos se sellaron y en la tapa se realizó una apertura donde se conectó un extremo de una manguera, mientras que el otro extremo se sumergió en agua para permitir la liberación de gases. El proceso se mantuvo durante un periodo de 7 días [9]. Cabe resaltar que no se consideró el efecto de la temperatura ni el tiempo de fermentación como variables de análisis, ya que estos factores se mantuvieron constantes en todas los tratamientos. Al finalizar la fermentación, se llevó a cabo el filtrado de todas las muestras para separar el jarabe del mosto. Posteriormente, se evaluaron con un espectrofotómetro UV-Vis de la marca Vernier para medir la absorbancia. Finalmente, se aplicó la fórmula proporcionada por el instrumento, lo que permitió calcular la concentración de etanol en función de los valores obtenidos. Además, se midió el °Brix y el pH finales de cada muestra.

E. Análisis de datos

Se emplearon principalmente dos programas informáticos: Excel y Jamovi. Los mismos que estuvieron orientados a la recolección, análisis y procesamiento de los datos obtenidos producto de la aplicación de técnicas cuantitativas en el laboratorio. Los citados programas, mediante cálculos avanzados, otorgaron como resultado tablas, gráficos y figuras, etc. [23]. Se emplearon diversas pruebas estadísticas inferenciales como la prueba de Shapiro-Wilk, prueba de Levene, anova de dos vías y comparaciones Post-Hoc.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1, representa que la variedad de plátano de seda, fermentada con un gramo de levadura, obtuvo una concentración de bioetanol con un valor de 5,64 g/L. Asimismo, la variedad de plátano bellaco, con dos gramos de levadura alcanzó la mayor concentración de bioetanol con un valor de 6,85 g/L.

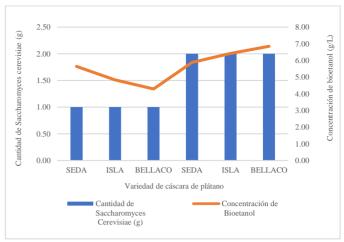


Fig. 1. Relación entre la cantidad de levadura y la concentración de bioetanol para diferentes variedades de cáscara de plátano.

Las pruebas de bondad de ajuste se utilizan para contrastar si los datos de la muestra pueden considerarse que proceden de una determinada distribución o modelo de probabilidad. Cuando el tamaño de la muestra es menor o igual a 50, la prueba de contraste de bondad de ajuste a una distribución normal es la prueba de Shapiro-Wilks [24].

Cuando se realiza en el software indicado la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, se genera un valor de p, el cual se compara con el error alfa (complemento del grado de confianza) [25]. El valor de "a", por acuerdo, suele disponerse que, si la probabilidad es menor al 5 % (0,05), se considera que es poco probable que el resultado sea producto del azar, lo que por consecuencia ocasiona el rechazo de la hipótesis nula y afirma que hay diferencias significativas. De lo contrario, si este valor de probabilidad es mayor al 5%, no se tendrá la suficiente confianza como para negar que la variación observada sea producto de la aleatoriedad [26].

TABLA 1 PRUEBA DE NORMALIDAD (SHAPIRO – WILK)

| Estadístico | p |
|-------------|------|
| 0,96 | 0,56 |

En la Tabla 1 se puede contemplar que el valor de p de Shapiro-Wilk es mayor a 0,05, entonces, eso significa que no hay evidencia significativa para rechazar la hipótesis nula, por lo tanto, se debe continuar realizando pruebas paramétricas como ANOVA.

Adicionalmente, se realizó la prueba de Levene (supuesto de homogeneidad), que es una prueba estadística que se utiliza a un 95% de confianza, con una significancia del 5 % (0,05) [27]. La prueba evalúa la hipótesis nula que establece que las varianzas poblacionales son equivalentes. Si el F-valor resultante de la prueba de Levene es inferior al nivel de significación (0,05), la hipótesis nula de igualdad de varianzas

se rechaza y se concluye que hay una diferencia entre las variaciones en la población. De lo contrario, se acepta la hipótesis nula y es posible afirmar que las varianzas de las diferentes muestras son iguales [28].

TABLA 2 PRUEBA DE LEVENE DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

| F | gl1 | gl2 | p |
|------|-----|-----|------|
| 1,19 | 5 | 12 | 0,37 |

Como se observa en la Tabla 2, los resultados indican que bajo la prueba de Levene las varianzas son homogéneas, debido a que el F es mayor al nivel de significancia(α =0,05), por lo tanto, no se puede rechazar la hipótesis nula porque no hay diferencias significativas, cumpliéndose así el principio de homogeneidad de varianzas.

Para el análisis de la diferencia observada ente los grupos se utilizó ANOVA de dos vías y PostHoc de Tukey con un nivel de significancia de 5%.

TABLA 3 ANOVA DE DOS VÍAS – CONCENTRACIÓN DE BIOETANOL

| | Suma de Cuadrados | gl | Media Cuadrática | F | p |
|--|----------------------|----|---------------------|------|------|
| Variedad de cáscara de plátano | 0,12 | 2 | 0,06 | 0,03 | 0,97 |
| Cantidad de Levadura | 9,60 | 1 | 9,59 | 5,70 | 0,03 |
| Variedad de cáscara de plátano ×Cantidad de levadura | 4,06 | 2 | 2,03 | 1,21 | 0,33 |
| Residuos | 20,20 | 12 | 1,68 | | |

En la tabla 3 se muestran los resultados del ANOVA de dos vías con respecto a la variedad de cáscara de plátano obtuvieron un valor de p=0,97. Este valor demuestra que las diferencias observadas no son estadísticamente significativas, es decir, no influye directamente sobre la concentración de bioetanol. De la misma forma, la interacción entre la variedad de cáscara de plátano con respecto a la cantidad de levadura tampoco tuvo diferencias significativas, esto se evidencia en el valor de p=0,33, lo que refleja que no existe una sinergia entre ambas variables que impacten directamente sobre la concentración de bioetanol. Por el contrario, la cantidad de levadura, operando de manera autónoma, obtuvo un valor de p=0,03, lo que como resultado significa que tiene un impacto significativo en la concentración de bioetanol.

TABLA 4
ANOVA DE DOS VÍAS COMPARACIONES POST-HOC – CANTIDAD
DE LEVADURA

| Cantidad de levadura | Cantidad de levadura | Diferencia de Medias | EE | gl | t | P _{tukey} |
|----------------------------|----------------------------|-------------------------|------|----|------|--------------------|
| 1 | 2 | -1,46 | 0,61 | 12 | 2,39 | 0,03 |

Como se puede observar en la tabla 4, el p de Tukey tiene un valor de 0,03. Con este resultado se demuestra que una mayor cantidad de levadura resulta en un aumento de la concentración de bioetanol.

La figura 2, indica un promedio de 8,20 °Brix después de la hidrólisis en todos los experimentos. Ahora bien, se puede identificar que las muestras fermentadas con un gramo de levadura, los °Brix disminuyeron hasta un promedio de tres. Por otra parte, las muestras fermentadas con el doble de levadura registraron una disminución adicional, situándose a un promedio de dos.

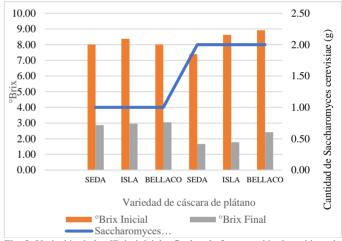


Fig. 2. Variación de los °Brix inicial y final en la fermentación de residuos de tres variedades de cáscara de *Musa paradisiaca* con diferentes cantidades de *Saccharomyces Cerevisiae*.

Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para saber si los datos °Brix finales siguen una distribución normal. Estos resultados se pueden observar en la tabla 5.

TABLA 5 PRUEBA DE NORMALIDAD (SHAPIRO WILK)

| Estadístico | p |
|-------------|------|
| 2.41 | 0,51 |

En la Tabla 5 se puede observar que el valor de p es mayor a 0,05, por lo tanto, se deben hacer pruebas paramétricas como ANOVA. Adicionalmente, se realizó la prueba de Levene para verificar la homogeneidad de varianzas.

TABLA 6 PRUEBA DE LEVENE PARA HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

| F | gl1 | g12 | p | |
|------|-----|-----|------|--|
| 2,41 | 5 | 12 | 0,10 | |

Como se observa en la Tabla 6, el valor de F es mayor al valor de nivel de significancia (α =0,05). Esto significa que las varianzas son homogéneas. En consecuencia, se utilizará ANOVA de dos vías.

TABLA 7 ANOVA DE DOS VÍAS - °BRIX FINAL

| ANOV | A DL DOS VI | LAD - 1 | DIGIATINAL | | |
|--|----------------------|---------|---------------------|-------|-------|
| | Suma de Cuadrados | gl | Media Cuadrática | F | p |
| Variedad de cáscara de plátano | 0,62 | 2 | 0,31 | 0,98 | 0,40 |
| Cantidad de Levadura | 5,42 | 1 | 5,42 | 17,09 | 0,001 |
| Variedad de cáscara de plátano ×Cantidad de levadura | 0,40 | 2 | 0,20 | 0,63 | 0,55 |
| Residuos | 3,81 | 12 | 0,32 | | |

En la tabla 7 se muestran los resultados del ANOVA. Estos valores demuestran que la variedad de cáscara de plátano y la interacción entre la variedad de cáscara de plátano en conjunción con la cantidad de levadura no tienen un efecto significativo en la disminución de los °Brix, debido a que el valor de p es mayor a 0,05. Sin embargo, la cantidad de levadura, de forma independiente, obtuvo un valor de p=0,001, el cual demuestra que la cantidad de levadura tiene un efecto significativo sobre la disminución de °Brix finales.

TABLA 8
COMPARACIONES POST -HOC - CANTIDAD DE LEVADURA.

| Cantidad de levadura | | Cantidad de levadura | Diferenci a de Medias | EE | gl | t | p_{tuke} |
|----------------------------|---|----------------------------|-----------------------------|------|----|------|-------------------|
| 1 | - | 2 | 1,10 | 0,27 | 12 | 4,13 | 0,001 |

Como se puede observar en la tabla 8, el p de Tukey tiene un valor de 0,001. Con este resultado se demuestra que una mayor cantidad levadura consume más azucares durante la fermentación, lo que resulta en una mayor disminución de los °Brix.

En la figura 3, se observa al inicio de la fermentación, un pH promedio de 5,77 en todos los experimentos. Al finalizar, los que tenían un gramo de levadura, se pudo verificar una disminución del pH hasta 4,47. Simultáneamente, los experimentos que tenían dos gramos de levadura indicaron una disminución mayor del pH hasta un valor promedio de 3,77.

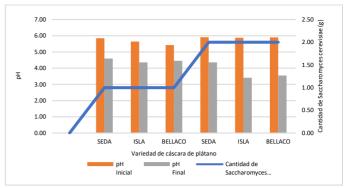


Fig. 3. Variación del pH inicial y final en la fermentación de residuos de tres variedades de Musa paradisiaca con diferentes cantidades de *Saccharomyces cerevisiae*

Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para saber si los datos pH final siguen una distribución normal. Estos resultados se pueden observar en la tabla 9.

TABLA 9. PRUEBA DE NORMALIDAD (SHAPIRO-WILK)

| Estadístico | p | |
|-------------|------|--|
| 0.97 | 0,50 | |

El valor de p superó el umbral de 0,05 (p>0,05). Asimismo, se realizó la prueba de Levene para comprobar si las varianzas son homogéneas.

TABLA 10. PRUEBA DE LEVENE PARA HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

| F | gl1 | gl2 | р |
|------|-----|-----|------|
| 0,78 | 5 | 12 | 0,59 |

Como el valor de F en la prueba de Levene es mayor al valor de p como se observa en la Tabla 10, debido a ello, las varianzas son homogéneas. Por lo tanto, se justifica el uso de la prueba paramétrica ANOVA de dos vías, respaldada adicionalmente por un valor de p de Shapiro-Wilk mayor a 0.05.

TABLA 11. ANOVA DE DOS VÍAS - PH FINAL.

| | Suma de Cuadrados | gl | Media Cuadrática | F | p |
|--|----------------------|----|---------------------|------|------|
| Variedad de cáscara de plátano | 1,20 | 2 | 0,60 | 2,19 | 0,16 |
| Cantidad de Levadura | 2,17 | 1 | 2,17 | 7,94 | 0,02 |
| Variedad de cáscara de plátano ×Cantidad de levadura | 0,48 | 2 | 0,24 | 0,88 | 0,44 |
| Residuos | 3,28 | 12 | 0,27 | | |

Los resultados del ANOVA en la tabla 11 demuestran que la variedad de cáscara de plátano no tiene influencia

significativa en la disminución del pH, ya que el valor de p igual a 0,16. De manera semejante, la correlación entre la variedad de cáscara de plátano y cantidad de levadura tampoco fue significativa al poseer un valor de p igual a 0,44. Finalmente, la levadura proporcionó un p igual a 0,02, el cual demuestra una interacción significativa por parte de la levadura en la disminución del pH.

La variedad seda presentó la mayor concentración de bioetanol con un valor de 5,64 g/L utilizando 1 g de levadura, mientras que la variedad bellaco obtuvo 6,85 g/L al emplear 2 g de levadura. Esta diferencia en las concentraciones de bioetanol se debió a que los azucares que principalmente son metabolizados por *Saccharomyces Cerevisiae* para la producción de bioetanol fueron la glucosa, sacarosa, fructosa, manosa, galactosa, maltosa y maltotriosa. En ese sentido, al incrementarse la cantidad de levadura, también se incrementó el número de microorganismos activos capaces de fermentar dichos azúcares, lo que amplifica el proceso de conversión y contribuye a una mayor concentración de bioetanol [29].

Ahora bien, la variedad Isla presentó el mayor valor de °Brix con una cantidad de 1 g de levadura, registrando 8,38 °Brix. Tras terminar los 7 días de fermentación, este disminuyó a 2,96 °Brix. Ahora bien, la variedad Bellaco presentó el mayor °Brix con 2 gramos de levadura, con un valor de 8,92 °Brix, y al finalizar la fermentación esta se redujo a 2,42 °Brix. Estos resultados indican que la cantidad inicial de °Brix aparentemente podría disminuir si se incrementa la cantidad de levadura en el proceso de fermentación. Estos resultados fueron semejantes al proyecto de investigación de [13], donde también se analizaron los °Brix a lo largo de la fermentación, pero por un periodo de 11 días en tres variedades de cáscara de plátano. La variedad palillo al inicio tuvo un valor de 6 °Brix y finalizó con 3 °Brix; por su parte, la variedad Bellaco inició con 8 °Brix y finalizó también con 3 °Brix; y por último, la variedad Seda presentó un valor inicial de 7 °Brix, que descendió a 3 °Brix al concluir el proceso. Es importante destacar que en esta investigación no se llevó a cabo un proceso de hidrólisis para descomponer la lignina, celulosa y hemicelulosa, lo que pudo haber influido en valores iniciales de °Brix más bajos. Estos resultados con respecto a los °Brix fueron inferiores a los reportados en este estudio, debido a que la ausencia de una hidrólisis alcalina pudo haber interferido en la liberación de azúcares a causa de no haber sido removida correctamente la lignina [30]. Por otro lado, [14] en su artículo de investigación, presentaron resultados considerablemente superiores a este estudio, documentando 14 °Brix en cáscara de mandarina, 20 °Brix en cáscara de maracuyá y 22 °Brix en hojas de eucalipto. Esto pudo ser causado porque el ácido clorhídrico es mucho más efectivo que el ácido fosfórico en romper la estructura lignocelulósica y liberar azúcares fermentables [31]. Sumado a esto, las condiciones en la que se ejecutó el tratamiento, como la temperatura y el tiempo de exposición, también influirían en la eficiencia del proceso [32]. Por otro lado, [12], fermentaron iugo de piña evidenciando una reducción de ^oBrix de 12.67 a 5 en los dos tratamientos, sin embargo, el T con fermentación natural a diferencia del T con levadura, la reducción fue más lenta. Igualmente, [10] formularon 4 tratamientos, donde se registró que el mayor °Brix se dio en el T con cáscara de plátano con un valor de 18,66 y luego de la fermentación esta se redujo a 11,66 °Brix. En cambio, en el T con cáscara de naranja hubo una reducción de °Brix de 15,33 a 11,67.

Los valores que se obtuvieron de pH oscilaron entre 5.77 v 4.12, observándose disminuciones al finalizar el proceso de fermentación, diferenciándose algunas variedades de otras por tener variaciones más notables. Por su parte, [22] obtuvieron las mayores concentraciones de bioetanol a pH ácidos 4 y 6. De igual manera, [13] mostraron en su proyecto de investigación que en la etapa de fermentación en las tres variedades de plátano se inició con pH de 6,50 a 5,50; luego de transcurridos los 11 días, el pH se redujo hasta 4. Finalmente, en la investigación de [15], también notificó una disminución del pH en sus experimentos de 5,30 a 3,80, esta disminución se contemplo en condiciones de temperatura de 25 °C y 37 °C durante la fermentación. A raíz de ello, [31], señala que en todos estos estudios se puede contemplar que la levadura durante el proceso de fermentación es mas eficiente cuando se utiliza un medio ácido porque inhibe el crecimiento de otros microorganismos. reduciendo así la competencia y el riesgo de subproductos no deseados. De forma similar, [33], manifestaron que el pH ideal se encuentra en el rango de 4 a 5, condición en la cual los microrganismos fermentadores como la Saccharomyces cerevisiae pueden desenvolverse de manera óptima. Asimismo, [34] y [35], sostuvieron que la disminución del pH se debe a que, durante la fermentación, la levadura produce ácidos orgánicos como el ácido láctico a partir de los azúcares y de la degradación de pectinas presentes en el mosto.

En relación con la posibilidad de llevar el proceso a nivel industrial, y tomando como referencia que es viable la producción de bioetanol a partir de residuos orgánicos, va se está elaborando un plan de implementación que contemple el escalamiento del modelo más allá de la cáscara de plátano, incluyendo otros tipos de frutas que generen residuos con alto contenido de azúcares fermentables. Este plan considera hacer convenios de compra con empresas agroindustriales y mercados mayoristas que desechan grandes cantidades de este tipo de residuos, lo cual permitiría obtener la materia prima a bajo costo y de manera constante, asegurando la sostenibilidad del proceso. Se proyecta emplear reactores más sofisticados, con una mayor capacidad para los procesos de pretratamiento mecánico, hidrólisis alcalina y pretratamiento ácido con control de pH, °Brix, temperatura y aireación, garantizando condiciones óptimas para el crecimiento y actividad de las levaduras. En última instancia, para el proceso de separación del bioetanol se modernizaría mediante técnicas de destilación continua.

IV CONCLUSIONES

Se concluye que es factible la producción de bioetanol a partir de residuos de cáscara de plátano mediante distintas cantidades de levadura, sin embargo, en este estudio, exclusivamente la cantidad de levadura en el proceso de fermentación es un factor determinante, dado que se demostró que al utilizar 1 gramo se obtuvo una concentración de bioetanol promedio de 4,92 g/L, en comparación a 2 g, que como consecuencia, resulto en una mayor concentración de bioetanol con un valor de 6,38 g/L, incrementándose el rendimiento en un 29,66%. Se comprobó también que la variedad de cáscara de plátano, así como, la correlación de esta con la levadura no influye significativamente en el proceso, esto implica que cualquier variedad puede ser utilizada como materia prima sin que comprometa la eficiencia en la obtención de bioetanol.

Asimismo, se demuestra que la levadura influye en el proceso de fermentación, esto se refleja en la disminución de °Brix donde se contempló una reducción del 63,60% en base al °Brix inicial que se situó en un promedio de 8,13 al hacer uso de un gramo de levadura, de manera similar, al utilizar dos gramos de levadura, se reportó una reducción de 76,47% respecto al °Brix inicial. Finalmente, la disminución del pH únicamente se logró gracias a la acción de la levadura. Los resultados contemplaron una reducción del 27,60% al utilizar 1 gramo en el proceso de fermentación, y un descenso del 56,28% al utilizar 2 gramos.

REFERENCIAS

- [1] Z. Gajera, K. Verma, S. Tekade y Sawarkar. Kinetics of co-gasification of rice husk biomass and high sulphur petroleum coke with oxygen as gasifying medium via TGA. Bioresource Technology Reports, 11, 100479. June 2020.
- [2] A. Saravanan, P. Kumar, S. Jeevanantham, S. Karishma y D.V.N. Vo. Recent advances and sustainable development of biofuels production from lignocellulosic biomass. Bioresource Technology, 344, 126203. December 2021.
- [3] B. Lara. Calentamiento global y desarrollo sostenible, avances y retos actuales en la política pública de México. Ciencia económica, 15, 25-41. May 2021.
- [4] M. Kumar, Y. Sun, R. Rathour, A. Pandey, I. Thakur y D. Tsang. Algae as potential feedstock for the production of biofuels and value-added products: Opportunities and challenges. Science of The Total Environment, 716, 137116. May 2020.
- [5] K. Mishra, M. Rathore, J. Tickoo y A. Singh. Production of bioethanol from fruit waste. *Materials Today: Proceedings*, 68, 1167-1171. November 2022.
- [6] Naciones Unidas. Informe de los objetivos de Desarrollo Sostenible. 2023.
- [7] S. Alzate, A. Díaz, F. López. y G. Tovar. Recovery of Banana Waste-Loss from Production and Processing: A Contribution to a Circular Economy. Molecules, 26, 5282. August 2021.
- [8] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Cultivos y productos de ganadería. 2024.
- [9] G. Gómez y G. Martin. Obtención artesanal de bioetanol mediante desechos de la cáscara de plátano [Tesis de titulación, Fundación universidad de América]. 2021. https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/8687/1/61515 13-2021-2-IQ.pdf.
- [10] I. Munfarida, M. Munir y A. Rezagama. The use of banana peels as raw materials of bio-alcohol production. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 896, 012019. 2021.
- [11] Keryanti, R. Manfaati, I. Pra, R. Hernawaty y A. Safaat. A Comparison of ethanol production utilizing separated hydrolysis fermentation and simultaneous saccharification and fermentation methods applied to Tanduk banana peel waste. E3S Web of Conferences, 479, 04005. January 2024.

- [12] T. Shedrack, L. MTashobya y J. Emmanuel. Producción de bioetanol a partir de jugo de desechos de fruta de piña utilizando levadura de panadería. Helyon, volume 10. Issue 19e38172. October 2024.
- [13] F. Navarro y O. Vela. Determinación del rendimiento en la obtención del bioetanol a partir de la cáscara de tres variedades de la Musa paradisiaca. 2022.
 - https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/9354250.
- [14] L. Llenque-Díaz, A. Quintana, L. Torres y R. Segura. Producción de bioetanol a partir de residuos orgánicos vegetales. Revista de Investigación Científica REBIOL, 40(1), 21-29. June 2020.
- [15] I. Araneda, C. Correa y F. Irazabal. Obtención de bioetanol a partir del banano orgánico (Musa paradisiaca) No exportable.2019. https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/RUMP_497a096ad9864c8e 3d5c9debb84c1bb9
- [16] E. Vásquez y G. Ortiz. Estadística inferencial en la lógica de la investigación científica (1ra ed.). Editorial Universitaria. 2022. https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/10542
- [17] J. Ochoa-Pachas y Y. Yunkor-Romero. Los estudios explicativos en el campo de las ciencias sociales. Acta Jurídica Peruana, 4(1), 95-113. January 2022. http://revistas.autonoma.edu.pe/index.php/AJP/article/view/277/242
- [18] R. Hernández-Sampieri y C. Mendoza. Metodología de la investigación: Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta (1ra ed.). McGraw-Hill. 2018.
- [19] Salazar, C. y Del Castillo, S. Fundamentos básicos de estadística (1ra ed.). 2018.
- [20] O. Hernández. Aproximación a los distintos tipos de muestreo no probabilístico que existen. Revista Cubana de Medicina General Integral, 37(3), e1442. July 2020.
- [21] I. Suárez, C. Varguillas y C. Ronceros. Técnicas e Instrumentos de Investigación. Diseño y Validación desde la Perspectiva Cuantitativa. August 2022.
- [22] M. Amir, A. Alias y N. Ahmad, N. Production of Biofuel (Bio-Ethanol) From Fruitwaste: Banana Peels. *International Journal of Engineering and Advanced Technology*, 9(1), 5897-5901. October 2019.
- [23] R. Hernández, C. Fernández y P. Baptista. Metodología de la investigación (6ª ed.). McGraw-Hill. 2014.
- [24] M. Romero-Saldaña. Pruebas de bondad de ajuste a una distribución normal. Revista Enfermería del Trabajo, 6(3), 105-114. 2016.
- [25] J. Cardona-Arias. Ortodoxia y fisuras en el diseño y ejecución de estudios descriptivos. Revista Med, 23(1), 40-51. 2015.
- [26] M. Molina. ¿Que significa realmente el valor de p? Rev. Pediatr Aten Primaria, 19(76). December 2017.
- [27] H. Levene. Robust tests for equality of variances. Contributions to probability and statistics. Essays in honor of Harold Hotelling, 279-292. 1960
- [28] G. Garcia, M. Piccolo y V. Bohn, V.Y. Implementación de datos meteorológicos modelados en el norte patagónico argentino (1982-2017). *Investigaciones Geográficas*, (78), 67-87. July 2022.
- [29] C. Drapcho, N. Nghiêm y T. Walker. Biofuels Engineering Process Technology (2 a ed.). McGraw-Hill. 2020
- [30] N. Rinah, O. Adewale, A. Tonna y A. Jideani. Banana Bioactives: Absorption, Utilisation and Health Benefits, *Intech*, 32, 137-144. 2019.
- [31] P. Rodríguez-Palenzuela. Los ácidos orgánicos como agentes antimicrobianos. Curso de Especilización FEDNA: Avances in Nutrición y Alimentación Animal, 16, 155-167. 2019.
- [32] A. Limayem y S. Ricke. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives potential issues and future prospects. *Progress in Energy and Combustion Science*, 2012.
- [33] B. Diógenes y S. Carmo. Desempenho da Saccharomyces cerevisiae ao estresse ácido no proceso de fermentação alcoólica, *Research, Society and Development*, 10(10), e232101018716. August 2021. https://doi.org/10.33448/rsd-v10i10.18716
- [34] N. Córdoba y J. Guerrero. Caracterización de los procesos tradicionales de fermentación de café en el departamento de Nariño. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 14(2), 75-83. August 2016.
- [35] A. Peñuela, C. Oliveros y J. Sanz. Remoción del mucílago de café a través de fermentación natural. *Cenicafe*, 61(2), 159-173. 2010.