



Hidrólisis enzimática de bagazo de caña (*Saccharum sp* híbrido) para la producción de azúcares simples

García Efraín y Peralta Darlene

Fundación Centro de Investigaciones del Estado para la Producción Experimental Agroindustrial (Ciepe). Venezuela.

<http://orcid.org/0000-0003-2973-7949> Efrainagarcia6418@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0001-6700-192X> darlene-yohana@hotmail.com

ASA/Artículo

doi: <http://doi.org/10.5281/zenodo.6481849>

Recibido: 23-09-2021

Aceptado: 22-03-2022

RESUMEN

El bagazo de la caña de azúcar (*Saccharum sp* híbrido) es un agro residuo lignocelulósico generado en grandes cantidades por la industria azucarera en Venezuela. El objetivo de este trabajo fue obtener azúcares simples mediante un pre tratamiento físico y posterior tratamiento enzimático sobre el bagazo de caña de azúcar. El método consistió en la utilización de Agua Caliente, a diferentes temperatura y presión sobre el bagazo. Se seleccionó la muestra con mejor rendimiento en cuanto a la liberación de sus azúcares a la que posteriormente, se le aplicó una Hidrólisis Enzimática utilizando un preparado de celulasa tipo comercial proveniente del hongo *Trichoderma Reesei*. El método con una temperatura de 110 °C, 15 Psi, fue diferenciado con tiempos de exposición de 40 y 60 min, resultando con estas condiciones un promedio de glucosa liberada de 0,0346 y 0,0920 g/l respectivamente. En la segunda condición se utilizó temperatura de 121 °C, 15 Psi con tiempos 40 y 60 min; lográndose un contenido promedio de glucosa liberada de 0,2936 y 0,2946 g/l. Estos resultados llevó a seleccionar la condición de 121 °C por 60 min, 15 Psi, el cual mostró mejores resultados en liberación de azúcares, posteriormente se sometió a hidrólisis enzimática con la celulasa, obteniendo un resultado final de concentración de glucosa entre 1,34 a 2,5 g/l.

Palabras Clave: Bagazo de Caña de Azúcar, Celulosa, Hidrolisis Enzimática, Pretratamiento.



Enzymatic Hydrolysis of Cane Bagasse (*Saccharum sp hybrid*) for the Production of Simple Sugars

ABSTRACT

Sugarcane bagasse (*Saccharum sp* híbrido) is a lignocellulosic agro-waste generated in large quantities by the sugar industry in Venezuela. The objective of this work was to obtain simple sugars by means of a physical pre-treatment and subsequent enzymatic treatment on the sugarcane bagasse. The method consisted of the use of Hot Water, at different temperatures and pressure on the bagasse. The sample with the best performance in terms of the release of its sugars was selected to which later, an Enzymatic Hydrolysis was applied using a commercial type cellulase preparation from the SIGMA brand *Trichoderma Reesei* fungus. The method with a temperature of 110 °C, 15 Psi, was differentiated with exposure times of 40 and 60 min, resulting under these conditions an average of glucose released of 0.0346 and 0.0920 g / l. respectively. In the second condition, a temperature of 121 °C, 15 Psi with times 40 and 60 min was used; achieving an average content of glucose released of 0.2936 and 0.2946 g /l. These results led to the selection of the condition of 121 ° C for 60 min, 15 Psi, which showed better results in the release of sugars, later it was subjected to enzymatic hydrolysis with cellulase, obtaining a final result of glucose concentration between 1.34 at 2.5 g / l.

Keywords: Cellulose, lignocellulosic residue, *Trichoderma Reesei*, cane bagasse.

INTRODUCCIÓN

Los residuos agroindustriales cuentan con un alto potencial para ser aprovechados en diferentes procesos, incluyendo la elaboración de nuevos productos, además de dar un valor agregado a estos. Su aprovechamiento posibilita la solución de problemáticas ambientales y económicas y de esta forma, se disminuye el uso de recursos naturales como materia prima para la generación de ciertos productos (Vargas y Pérez, 2018). Para el inicio del siglo XXI Venezuela cuenta con 15 centrales azucareros entre privados y públicos, en diferentes estados de operatividad, la producción de caña se sitúa en diferentes regiones del país (García et al. 2019). Lo que para el periodo 2015-2016 el área cultivada de caña de azúcar fue de 101.350 ha, con un rendimiento promedio de 70 toneladas de caña de azúcar verde. (MAT, 2016; FEDEAGRO, 2016). Por lo que el bagazo de caña es uno de los residuos más abundante. Dicho material lignocelulósico está constituido principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina. El cual se obtiene como subproducto o residuo en los centrales azucareros después de la extracción del jugo de caña de azúcar y representa aproximadamente entre el 25 y 40 % del total de materia procesada. (MPC, 2001).

Es importante destacar que hasta ahora existen varios procesos de pre tratamiento basados en la eficiencia enzimática de la biomasa lignocelulósica, entre ellos se pueden encontrar: hidrólisis ácida y líquidos iónicos (Vele *et al.* 2021), hidrólisis alcalina (Castillo *et al.* 2019), pre tratamiento de agua líquida caliente (Martínez, 2016) y procesos biológicos (Cano y Suárez, 2011). Presentándose el pre tratamiento de agua líquida caliente atractivo debido a que no requiere catálisis y es de bajo potencial de corrosión, mostrado remover hemicelulosa durante su aplicación, lo cual hace la celulosa más accesible para la enzima (Wei *et al.* 2013). Este consiste en que el agua a alta presión y temperatura penetra la biomasa, hidrata la celulosa, hidroliza entre un 80-100 % la hemicelulosa y solubiliza parcialmente la lignina.

El tratamiento térmico es altamente efectivo en el incremento del área de superficie accesible de la celulosa y, por tanto su degradabilidad enzimática (Zheng *et al.* 2014). El objetivo de este trabajo fue evaluar la viabilidad de producir azúcares simples, a través de un pre tratamiento físico no mecánico denominado Método hidrotérmico de Agua Líquida Caliente, posterior a tratamiento enzimático sobre el bagazo de caña.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima: Se utilizó bagazo de caña de azúcar procedente del Central Azucarero Carora, ubicado en el Municipio Torres Estado Lara. Se realizó la molienda del mismo a través de un molino de rodillo dentado con la finalidad de reducir de su tamaño, luego se sometió a secado utilizando una temperatura de 90 °C durante tres horas y posterior a esto, se realizó un tamizado en malla N° 8 obteniendo un tamaño de partícula aproximado de 2,38 mm.

Análisis físico químico del bagazo: A las muestras tamizadas de bagazo se le determinó el contenido de humedad y cenizas de acuerdo al método descrito en las Normas COVENIN 1156-79 y 1155-79. Se realizó la determinación de fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina ácido detergente (LAD) según Goering y Van Soest (1970). (Pernalet *et al.* 2008). El contenido de celulosa, hemicelulosa y solubles se determinó aplicando las ecuaciones (Goering y Van Soest, 1970), por lo que se utilizó las fórmulas siguientes:

$$\text{Celulosa (\%)} = \text{FAD (\%)} - \text{LAD (\%)}$$

$$\text{Hemicelulosa (\%)} = \text{FND (\%)} - \text{FAD (\%)}$$

$$\text{Solubles (\%)} = 100 - \% \text{ FND}$$

Pre tratamiento del Bagazo de Caña

En esta fase se aplicó el “Método Hidrotérmico de Agua Caliente” (MHAC) sobre el bagazo de caña, por lo que se prepararon por triplicado fiolas de 500 ml, agregando sobre ellas la cantidad de 200ml de agua, con una carga de sólidos menor a 20%. Se tomaron alrededor de 10 g de muestra previamente molida y tamizada con un tamaño de partícula aproximado de 2,38 mm, utilizando para ellas temperaturas a 80 y 121 °C con tiempos de 40 y 60 min y una presión de 15 Psi en autoclave. Una vez finalizada cada una de estas etapas, se despresurizó el equipo y se enfrió a temperatura ambiente las muestras, tomando alícuotas de la fase líquida para analizarla ya que es posible la liberación de azúcares producto de la solubilización de la hemicelulosa en esta etapa, para su determinación se utilizó el método 3,5 dinitrosalicílico (Miller, 1959). Siendo estos promedios de las réplicas de cada tratamiento los que permitieron seleccionar a través de un análisis de varianza, el mejor pre tratamiento y así continuar con el posterior tratamiento enzimático.

Hidrólisis Enzimática

Se seleccionó el bagazo pre tratado de mayor liberación de glucosa que correspondió al tratamiento con temperatura 121 °C, 60 min y 15 Psi. La enzima utilizada procedió de una

preparación líquida producida por fermentación sumergida de la cepa del hongo *Trichoderma reesei* con una actividad de 700 UEG/g. Condiciones óptima de pH 5 y temperatura 37 °C. Iniciándose la hidrólisis con una relación sólido líquido del 5%. El sustrato se hizo reaccionar con la enzima en tubos Falcón de 50 ml en las cantidades de 0,2 y 1 ml; La reacción se llevó a cabo en baño termostático a la temperatura de 37 °C. Al transcurrir los tiempos se tomaron alícuotas y se determinó el contenido de azúcares reductores mediante DNS a 540 nanómetros. Estas mediciones permitieron obtener valores que fueron extrapolados en la curva patrón de glucosa logrando cuantificar la cantidad de azúcares reductores para cada uno de los tiempos.

Análisis Estadístico

Pretaramiento sobre el Bagazo de Caña de Azúcar

Los datos obtenidos se procesaron con la utilización del paquete estadístico Infostat 2022, el cual permitió aplicar los supuestos de varianza normalidad a través de Shapiro Wild y Homogeneidad a través del estadístico de Levene, su aprobación permitió aplicar el Anavar con el estadístico Tukey a un nivel de significancia del 95 % y con ello determinar el cumplimiento de la

hipótesis nula en caso de que los tratamientos sean iguales o verificar si hay efecto de tratamiento sobre la liberación de los azúcares reductores con lo cual se aceptaría la hipótesis alterna.

Hidrólisis enzimática de la Celulasa sobre el Bagazo de Caña Pretratado

Se aplicaron tres condiciones variando la concentración de enzima y los tiempos de reacción enzimática y determinar a través del método de superficie de respuesta del momento central cual son las condiciones óptimas para la producción de azúcares reductores. Mediante el análisis de varianza se determinó que variables tienen efecto significativo sobre la producción de azúcares.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización Química del Bagazo de Caña

En el Cuadro 1 se presentan los resultados analíticos de evaluación química, evidenciándose el contenido de sus componentes estructurales: celulosa, hemicelulosa y lignina.

Cuadro 1. Composición química y componentes estructurales del Bagazo de caña (*Saccharum sp* híbrido).

COMPONENTES	Composición (% p/p)
Humedad	14,16
Cenizas	9,61
Celulosa	52,98
Hemicelulosa	26,53
Lignina	15,72

Los resultados obtenidos mostraron diferencias a los reseñados en estudio de bagazo de caña realizado por Moncada (2016) al ser comparados, el cual logró como resultado un contenido de celulosa de 36,11%, Hemicelulosa 10,39% y lignina 26,15%. Pudiéndose evidenciar que el resultado celulosa y hemicelulosa se encuentra por debajo y la lignina por encima de los logrados. Estas diferencias pueden deberse a la aplicación a la variedad o procedencia de la materia prima utilizada, la diferencia del contenido de celulosa es muy marcada lo cual lleva a inferir que la variedad pueda ser el fenómeno que justifiquen estos resultados. El alto contenido de celulosa favorece la posterior disponibilidad de mayor cantidad de sustrato propiciaría una mayor

producción de azúcares reductores.

Pre-tratamiento aplicado al bagazo de caña de azúcar

Una vez obtenida las absorbancias y procesada en la base estadística se obtuvo los siguientes resultados de concentración de glucosa.

En el Cuadro 2. Se observan los tratamientos y concentración de glucosa resultante.

Cuadro 2. Contenido de Azúcares Reductores obtenido para cada uno de los diferentes tipos de tratamientos aplicado al bagazo de Caña.

Tratamientos (°C/min)	Replicas	Absorbancia DNS	Glucosa (mg/ml)
Sin Pretratamiento	R1	0,234	0,338
	R2	0,253	0,364
	R3	0,245	0,353
80/40	R1	0,340	0,483
	R2	0,347	0,492
	R3	0,344	0,488
80/60	R1	0,388	0,548
	R2	0,388	0,548
	R3	0,373	0,528
121/40	R1	0,537	0,752
	R2	0,552	0,772
	R3	0,545	0,763
121/60	R1	0,526	0,737
	R2	0,564	0,789
	R3	0,546	0,764

Estos valores fueron sometidos al estadístico de prueba de Shapiro Wild, con el cual se determinó que los azúcares reductores obtenidos después de haber aplicado los diferentes tratamientos térmicos sobre el bagazo de caña cumplen con el supuesto de Normalidad, el valor de probabilidad obtenido fue de 0,0104 el cual está por encima del 0,0100 considerado en el estudio (ver Cuadro 3), por lo tanto estos valores pueden ser sometidos a análisis de varianza.

Cuadro 3. *Supuesto de Normalidad mediante el estadístico de prueba de Shapiro wild para los resultados del pretratamiento térmico sobre el Bagazo de Caña*

Variable	n	Media	D.E.	W	P	Pc
Glucosa	15	0,58	0,17	0,83	0,0100	0,0104

Análisis de varianza

Cuadro 4. *Resultados del análisis de varianza tratamiento térmico sobre el bagazo de caña y su efecto sobre la liberación de azúcares.*

Fuente de variación	Suma de cuadrado	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor de F	P. tabulado	P. calculado
Modelo	0,39	4	0,10	439,52	0,0104	0,01
Tratamiento	0,39	4	0,10	439,52		
Error	$2,2 \times 10^{-3}$	10	$2,2 \times 10^{-4}$			
Total	0,39	14				

El análisis de varianza aplicado a los

tratamientos sobre el bagazo de caña se pueden reflejar en el Cuadro 4 donde el valor probabilístico calculado, es menor al valor de probabilidad de 0,5 %, ubicándose en la zona de rechazo, indicando que no todos los tratamientos son iguales, lo cual se refleja a su vez en la Figura 1 y en la misma se observa, según la comparación de media del estadístico de Tukey (Cuadro 5) se aprecia que cuatro tratamientos son diferentes, el tratamiento 4 y 5 son iguales (0,76) y los valores de azúcares reductores fueron los valores de media más alto, donde se determina que a mayor temperatura y mayor tiempo de reacción es mejor para una mayor liberación de azúcares reductores, el tratamiento más intenso induce un mayor rompimiento de la molécula de lignina y hemicelulosa con la consecuente liberación de una mayor cantidad de azúcares reductores.

Cuadro 5. *Comparación de media de cada tratamiento aplicando el estadístico de Tukey*

	Media	n	E.E	Grupo
Sin tratamiento	0,35	3	0,01	A
Tratamiento (80/40)	0,49	3	0,01	B
Tratamiento (80/60)	0,54	3	0,01	C
Tratamiento (121/40)	0,76	3	0,01	D
Tratamiento (121/60)	0,76	3	0,01	D

Los grupos con una misma letra son iguales, la diferencia mínima significativa (DMS) igual a 0,03987

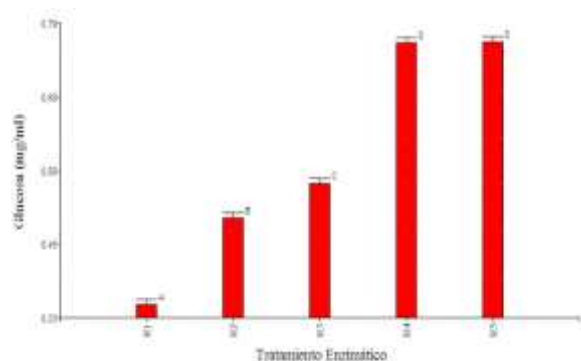


Figura 1. Representación gráfica los azúcares liberados en el pretratamiento sobre el bagazo a diferentes tratamientos

Las condiciones de las variables controladas de tiempo y temperatura muestran los valores obtenidos del contenido de azúcares reductores. A medida que se incrementa la temperatura y el tiempo el efecto es directamente proporcional, hay una mayor liberación de azúcares reductores presente, bien sea derivados de las macromoléculas hemicelulosa y de la lignina. Para este estudio el mayor resultado de azúcares se logró con las condiciones de temperatura de 121 °C, y los tiempos de 40 y 60 minutos. Los valores promedios obtenido son de 0,76 mg/ml de glucosa. Estos resultados comparado con lo obtenido por Quintana (2012), referente al pretratamiento con agua líquida caliente sobre el Raquis de Banano, presentó un contenido de glucosa de 82%, alternando con temperatura de 180 y 220 °C, con tiempos de reacción de 10, 30 y 60 min, siendo este valor relativamente alto, con respecto al obtenido en esta investigación y es producto de que los

tratamiento térmicos son mucho más intenso que el aquí aplicado. En el mismo orden de idea y haciendo referencia a trabajo realizado por Ruíz et al. (2012), quienes trabajaron con la producción de bioetanol a partir de tallos de girasol, para lo cual emplearon un reactor de alta presión y altas temperaturas entre 180 °C y 230 °C, logrando niveles de 93 % de recuperación de glucosa cuando la condición era de 220 °C por 72 h. Igualmente hay que destacar en investigación desarrollada por Gaibor (2014), quien evaluó un proceso físico químico para la producción de azúcares reductores a partir del residuo de la extracción del aceite de piñon (*Jatropha curcas*), utilizando el pretratamiento hidrotérmico, logrando obtener a 190 °C por 15 minutos un contenido de 0,46 g de azúcares reductores / g de celulosa. Lo que se evidencia que los resultados de investigaciones anteriores muestran valores relativamente altos con respecto a la investigación actual. Estas diferencias, pueden ser producto por lo indicado por Taherzadeh y Karimi, (2008). Ellos hacen mención que con las temperaturas superiores a 220 °C y tiempos cortos de reacción consideran que el agua y la presión de vapor son más efectivo al penetra en la biomasa, hidrolizando los azúcares de la hemicelulosa y la lignina y dejando más disponibles a la celulosa para posteriores hidrolisis enzimático. Finalmente queda

demostrado que el alto valores de temperatura así como la presión son efectivos en una mayor liberación de azúcares en la biomasa tratada.

Hidrólisis enzimática

En el Cuadro 6 se muestran los diferentes tratamientos enzimáticos aplicados a la mejor biomasa de bagazo de caña pretratada y los valores de azúcares reductores generados, producto de la hidrólisis por parte de la enzima celulasa. Se puede observar que el tratamiento 4 presentó la mayor concentración de glucosa, siendo este de 2,520 mg/ml.

Resultados del Análisis Estadístico

Cuadro 6. Resultado del tratamiento enzimático aplicado al bagazo de caña

Tratamiento	Concentración de enzima	Tiempo de reacción (min)	Glucosa (mg/ml)
T1	0,2	30	1,391
T2	0,2	210	2,226
T3	0,2	120	2,038
T4	1,0	30	2,520
T5	1,0	210	2,239
T6	1,0	120	2,148
T7	0,6	30	2,047
T8	0,6	210	2,438
T9	0,6	120	2,301

Las Figuras 2 y 3 muestran las representaciones gráficas, de cómo el contenido de azúcares liberado de la acción

enzimática, se aprecia como a medida que aumenta el tiempo de reacción y la concentración de la enzima hay mayor producción de azúcares reductores a partir de la celulosa. En ella se puede evidenciar que el tiempo máximo de la hidrólisis enzimática fue de 210 minutos, con una cantidad de enzima de 0,6 mg/ml, logrando un contenido de glucosa superior a 2,4 g/l. En la figura 4 se aprecia los valores óptimos de concentración enzimática de 0,5152 mg/ml y 210 minutos de reacción, para la obtención de un valor óptimo de 2,42 g/ml de azúcares reductores.

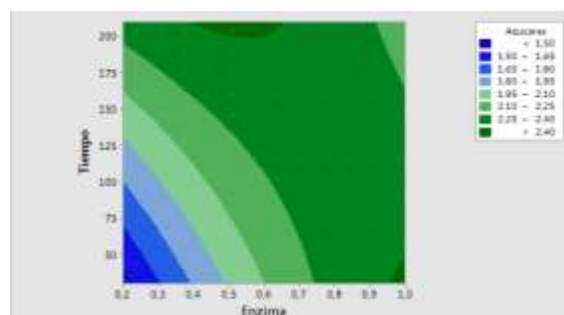


Figura 2. Representación gráfica bidimensional de los azúcares reductores generados en la hidrólisis con respecto a la concentración de enzima y el tiempo de reacción.

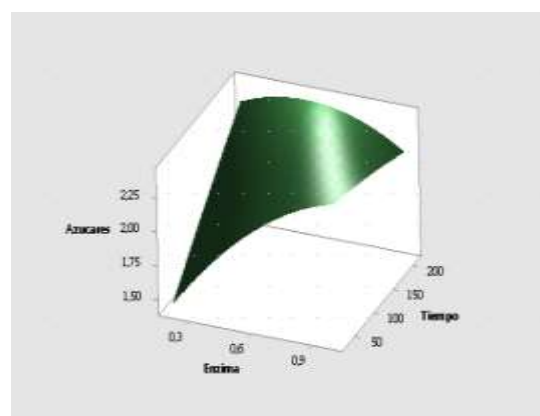


Figura 3. Representación gráfica tridimensional de los azúcares reductores generados en la hidrólisis con respecto a la concentración de enzima y el tiempo de reacción.



Figura 4. Representación gráfica de los valores óptimos de los azúcares reductores producidos por efecto de la concentración enzimática y el tiempo de reacción.

El Modelo matemático que definen la producción de azúcares bajo las condiciones definidas de concentración de celulosa y tiempo de reacción enzimática es:

$$\text{Azúcares} = 0,781 + 2,714 E + 0,00696 T - 1,052E^2 - 0,000002T^2 - 0,00775 ET$$

Se puede evidenciar que a medida que transcurre el tiempo de reacción enzimática y se aumenta la concentración de la enzima celulasa para hidrolizar el sustrato celulósico, hay la tendencia a aumenta la cantidad de glucosa liberada, lograndose un valor mayor a los 2,4 g/l, los valores obtenidos superan en un 50 % a los obtenidos por Jiménez et al. (2016) de 1,52 g/l con la diferencia de que el tratamiento aplicado era menos intenso a 50 °C durante 15 min y posteriormente la hidrólisis enzimática durante 72 h, por lo tanto su efecto sobre la lignina y hemicelulosa

afecta al efecto enzimático, teniendo conocimiento de que la lignina es inhibidora del sitio activo de la celulasa, lo cual hace que su acción disminuya la efectividad en la hidrólisis de la celulosa, contribuyendo a su baja producción de azúcares.

Se puede destacar que en trabajo desarrollado por López, et al. (2018), relacionada con la aplicación de pretratamiento de digestión anaeróbica sobre la biomasa lignocelulosa, la mejor condición lograda fue a la temperaturas mayores de 130 °C. Condición que supera a las aplicadas en este estudio.

De la misma manera en trabajo desarrollado por Batallas, et al. (2018) sobre hidrólisis enzimática del bagazo de caña para la obtención de etanol haciendo uso de enzimas comerciales, donde lograron una concentración de glucosa de 2,63 mg/ml, valor muy parecido al obtenido en esta investigación, lo que lleva a validar resultados encontrados con investigaciones similares.

CONCLUSIONES

El bagazo de caña representa un material lignocelulósico con alto potencial para su aprovechamiento industrial por el alto contenido de celulosa lo cual lo hace atractivo como sustrato para la producción de glucosa vía hidrólisis enzimática.

La discrepancia presentada entre la caracterización del bagazo de caña utilizado con respecto a los estudios realizados por otros autores, pudiesen estar influenciados por factores genéticos, climáticos, calidad del suelo, zona de crecimiento, manejo agrícola y variedad.

El pretratamiento sobre el bagazo de caña favorece la eliminación de los elementos estructurales hemicelulosa y lignina, mientras más intenso en el tratamiento térmico mayor es la cantidad de azúcares liberados, lo cual favorece la mayor disponibilidad de celulosa para ser utilizada como sustrato enzimático.

El tratamiento enzimático de la celulosa sobre el bagazo de caña pretratado se ve favorecido por aumentar la concentración de la enzima y aumentar el tiempo de reacción, lo cual aumenta el contenido de glucosa, el cual sería beneficioso como sustrato para microorganismos para la producción de metabolitos de interés industrial.

REFERENCIAS

Batallas Merino, F., Salvador Pinos, C. A., Villavicencio Montoya, J., González Gavilánez, H., & González Suárez, E. (2018). Hidrólisis enzimática del bagazo de caña para la obtención de etanol empleando enzimas nativas y

comerciales. *Revista Centro Azúcar*, 45(4), 11. Recuperado a partir de http://centrozucar.uclv.edu.cu/index.php/centro_azucar/article/view/84.

Cano, N.A. y Suárez, C.A. (2011). Optimización de la hidrólisis enzimática de material lignocelulósico del banano. Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación – Colciencias. Programa Jóvenes Investigadores e Innovadores “Virginia Gutiérrez de Pineda”.

Castillo García, Yasmin; Juscamaita Morales, Juan; Jorge Montalvo, Paola A. Y Visitación Figueroa, Lizardo. (2019). Pretratamiento e hidrólisis enzimática de la cascarilla de arroz. *Rev. Soc. Quím. Perú* [online]. Vol. 85, n.4, pp.476-488. ISSN 1810-634X. Recuperado de <http://dx.doi.org/10.37761/rsqp.v85i4.261>.

Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) 1156 -79 (1979). Alimentos para animales determinación de humedad. Fondonorma. Caracas, Venezuela.

Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) 1155-79. (1979). Alimentos para animales determinación de cenizas. Fondonorma. Caracas, Venezuela.

FEDEAGRO (Confederación de Asociaciones de Productores Agropecuarios). 2016. Federación Nacional de Asociaciones de Cañicultores de Venezuela (FESOCA). Vanguardia integrada de entes asociativos del sector agrícola. Organizaciones asociadas. Datos estadísticos de superficie cosechada,

- rendimiento y producción del cultivo de la caña de azúcar en Venezuela. 2-6 pp.
- Gaibor J. (2014). Diseño de un proceso Físico Químico para la producción de azúcares reductores a partir del residuo de la extracción del aceite de piñon (*Jatropha curcas*). Proyecto previo a la obtención del título de Ingeniería química. Escuela politécnica nacional. Quito.
- Jiménez et al (2016). Hidrólisis enzimática de bagazo de caña de azúcar para la producción de jarabes glucosados. Libro de resúmenes Nuevo panorama de la ciencia, la tecnología y la innovación. Edición EAN. Pág 50.
- López González, Lisbet Mailin, Pereda Reyes, Ileana, Escobar Román, Raylen, Pedraza Garciga, Julio, & Romero Romero, Osvaldo. (2018). Efecto de la aplicación de métodos de pre-tratamientos en el proceso de digestión anaerobia de la biomasa lignocelulósica. *Tecnología Química*, 38(2), 324-334. Recuperado en 16 de agosto de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S222461852018000200010&lng=es&tlng=pt.
- Ministerio de Producción y Comercio (MPC). (2001). Estadísticas Agrícolas, Caracas, Venezuela.
- Ministerio de Agricultura y Tierras (MAT). 2016. Memoria y Cuenta del Directorio. Estadísticas agropecuarias y económicas. Cultivos Tropicales Tradicionales. Cifras oficiales y Hoja de Balance de alimentos 2-4 pp.
- Miller, G. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31 (3), 426-428.
- Moncada - Cueto, O; Gutiérrez, Stefany Vanessa. (2016). Caracterización de mezclas de residuos lignocelulósicos, raquis de palma africana y bagazo de caña, para visualizar su potencial en la producción de etanol de segunda generación.
- Pernalet, Z.; Piña, F.; Suarez, M.; Ferrer, A.; Aiello, C. (2008). Fraccionamiento Del Bagazo De Caña De Azúcar Mediante Tratamiento Amoniacal : Efecto De La Humedad Del Bagazo Y La Carga De Amoníaco. *Bioagro* 2008, 20 (1), 3-10.
- Quintana J. (2012). Pretratamiento con Agua líquida caliente de Raquis de banana. Universidad Nacional de Colombia.
- Taherzadeh Taherzadeh, M., y Karimi, K. (2008). "Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review". *Int. J. Mol. Sci.*, 9, 1621-1651.
- Vargas Corredor, Y. A., y Pérez Pérez, L. (2018). Aprovechamiento de residuos agroindustriales en el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista Facultad De Ciencias Básicas*, 1(1), 59-72. <https://doi.org/10.18359/rfcb.3108>.
- Vele Salto, A. M., Abril González, M. F., Zalamea Piedra, T. S., & Pinos Vélez, V. P. (2021). Mini-Revisión: Aplicación de líquidos iónicos en hidrólisis ácida de material lignocelulósico para la obtención de azúcares. *Ciencia En Desarrollo*,

12(1), 55–67.
<https://doi.org/10.19053/01217488.v12.n1.2021.12477>

Wei, W.Q., Wu, S.B., Liu, L.G.(2013). Combination of liquid hot water pretreatment and wet disk milling to improve the efficiency of the enzymatic hydrolysis of eucalyptus. *Bioresour. Technol.* 128, 725–730.

Zheng, Y., Zhao, J., Fuqing Xu, Yebo Li. (2014) "Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production". *Prog Energy Combust Sci* , vol 42, num 1, p. 35-53.