



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA Y TECNOLOGIA
Maestría en Agroindustria con Mención en Gestión de Calidad y Seguridad
Alimentaria Cohorte II - Resolución del CES: RCP-SO-03N° 058-2020

Artículo profesional de alto nivel
previo a la obtención de Máster En
Agroindustria, con Mención
Gestión de Calidad y Seguridad
Alimentaria.

Título

OBTENCIÓN DE AZÚCARES SIMPLES A PARTIR DE RACIMOS VACÍOS DE PALMA
(*ELAEIS GUINEENSIS*) UTILIZANDO ENZIMAS LIGNOCELULOSAS

Autor

JAVIER NICOLAS CHAVEZ SOLORZANO

Tutor

JENIFFER PAULINA ESPINOZA ZAMBRANO

MANTA - MANABÍ - ECUADOR

2021 - 2022

Sección (Marcar)

Artículo científico __X__

Revisión Bibliográfica ____

Punto de vista ____

Special Issue" Ciencias de los Recursos Naturales" ____

Obtención de azúcares simples a partir de racimos vacíos de palma (*Elaeis Guineensis*) utilizando enzimas lignocelulosas***Obtaining simple sugars fibers of empty bunches of palm (Elaeis Guineensis) using lignocellulose enzymes***Javier Chávez^{*1}, Paulina Espinoza²¹ Maestría en Agroindustria Mención en Gestión de la calidad y Seguridad alimentaria² Facultad de ciencias de la vida, Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Manta-Ecuador**RESUMEN**

Los racimos de frutos vacíos de palma constituyen un desecho procedente de la planta de beneficio del aceite rojo, actualmente se usa como energía para generar vapor, producción de compost, sin embargo, la mayor parte de la producción no es aprovechada y termina en las plantaciones de palma para su descomposición. La búsqueda constante de nuevas fuentes de materias primas sostenibles y sustentables justifican el presente estudio en busca del aprovechamiento de desechos de biomasa para la bioconversión en moléculas que pueden ser materia prima para obtener aditivos alimentarios, combustibles y productos químicos. Los racimos de frutos vacíos de palma (*E. guineensis*) cosechados en la zona de Santo Domingo-Ecuador fueron sometidos a procesos de reducción de tamaño (molienda) seguido de un pretratamiento alcalino (lavado), y ajustando su pH entre 5 a 5.5 y reuniendo las condiciones adecuadas para la hidrólisis con acción de enzimas celulasas y hemicelulasas con actividad enzimática de 1203 BHU-2/g en dosis de 0.5% hasta 1.5% (w/w) con respecto al sustrato en base seca, alcanzando una conversión 86% del material lignocelulósico; obteniendo principalmente glucosa 149g/kg, xilosa 96 g/kg y celobiosa 63g/kg determinados por medio de cromatografía HPLC moléculas que posterior a una concentración (purificación) podrían usarse en la industria alimenticia como azúcares de bajo valor calórico (Producción de Xilitol), biocombustible o para la fabricación de productos químicos.

Palabras claves

Glucosa, Xilosa, lignocelulosa, racimos palma vacíos, hidrólisis enzimática. Azúcares simples.

ABSTRACT

The empty palm fruit clusters constitute a waste from the red oil processing plant, currently it is used as energy to generate steam, compost production, however, most of the production is not used and ends up in the plantations palm for decomposition. The constant search for new sources of sustainable and sustainable raw materials justify the present study in search of the use of biomass waste for bioconversion into molecules that can be raw material to obtain food additives, fuels and chemical products. The bunches of empty palm fruits (E. guineensis) harvested in the Santo Domingo-Ecuador area were subjected to size reduction processes (grinding) followed by an alkaline pretreatment (washing), and adjusting their pH between 5 to 5.5 and Gathering the appropriate conditions for hydrolysis with the action of cellulase and hemicellulose enzymes with enzymatic activity of 1203 BHU-2/g in doses of 0.5% to 1.5% (w/w) with respect to the substrate on a dry basis, reaching a conversion of 86%. of the lignocellulosic material; mainly obtaining glucose 149g/kg, xylose 96g/kg and cellobiose 63g/kg determined by HPLC chromatography

molecules that after a concentration (purification) could be used in the food industry as sugars of low caloric value (Xylitol Production), biofuel or for the manufacture of chemical products.

Keywords

Glucose, lignocellulose, empty palm bunches, enzymatic hydrolysis. simple sugars

Introducción

La biomasa lignocelulósica consiste en desechos forestales, agrícolas, agroindustriales y alimentarios que son fuentes de energía abundantes, renovables y económicas (Machado, 2010). Estos desechos de lignocelulosa se acumulan en grandes cantidades y pueden causar problemas ambientales severos (Maitan-Alfenas et al., 2015) en el Ecuador un ejemplo son los desechos sólidos resultado de la extracción del aceite crudo de palma, esta actividad produce entre 1.3TN Racimos por cada TN de aceite crudo de racimos vacíos respecto a la cantidad de fruta procesada y que en su mayoría termina siendo un residuo sin uso, en el Ecuador se produjeron durante el año 2021, 419 mil TN de aceite crudo procedente de esta fruta, generando una cantidad importante de racimos vacíos no cuantificados con precisión en la actualidad, sin embargo se estima que para el mismo año se produjeron en el Ecuador alrededor de 400 mil TN y en todo el mundo alrededor de 96 millones de TN (Calaorrano et al., 2022) considerando que, recurso que es subutilizado ya que no se le da un valor agregado (Said et al., 2021).

Uno de los posibles usos para darle valor agregado a este recurso es la producción edulcorante como el Xilitol, edulcorantes obtenidos por procesos químicos hidrogenando la D-Xilosa (Caballero et al., 2022) la se D-Xilosa se la obtiene principalmente por hidrólisis de la madera del abedul (Juan and González Hernández, 2013)

El xilitol es mejor conocido por su dulzura y capacidad, que supera la de la sacarosa y es un excelente edulcorante artificial que es ahora utilizado ampliamente por la industria de la confitería. El xilitol no requiere insulina para su metabolismo, por lo que es muy utilizado por los diabéticos como sustituto del azúcar (Mathew et al., 2018)

Se ha investigado intensamente desde la década de 1970 la hidrólisis de materiales lignocelulósicos usando procesos químicos (concentrada y diluida) y la hidrólisis enzimática son métodos principales para extraer azúcares de la biomasa. (Viñals-Verde et al., n.d.) La hidrólisis enzimática tiene numerosas ventajas, como un rendimiento de glucosa altamente selectivo, una condición de reacción suave y un impacto ambiental menor en comparación con el método ácido/base (Pahlawi et al., 2015).

Las enzimas celulasa, hemicelulasas tiene aplicaciones en la producción de alimentos y bebidas, biocombustibles, detergentes biológicos, productos farmacéuticos y destinado en la industria del papel y la pulpa (Okal et al., 2020), por lo tanto la exploración de estas rutas en busca de alternativas que permitan procesos aplicando principios de circularidad.

Los azúcares simples o monosacáridos son carbohidratos de tamaño molecular entre 5 o 6 carbonos, este tipo azúcares moléculas pueden pasar a través de la pared del tracto alimentario sin ser modificados por las enzimas digestiva y a su vez existe más interés en el ámbito de aplicaciones alimenticias debido a su bajo aporte calórico en relación con a la absorción de la sacarosa. (Latham, 2002)

Por lo antes mencionado se plantea la presente investigación teniendo como objeto obtener azúcares simples (Glucosa, Xilosa, Celobiosa, principalmente) a partir de racimos vacíos de palma (*E. guineensis*) utilizando enzimas lignocelulosas.

2. Materiales y Métodos

2.1. Lugar de experimentación

La experimentación se desarrolló en el Laboratorio de Oleoquímica y Biomasa departamento de investigación & Desarrollo de la Empresa privada La Fabril S.A ubicada en el Km. 5.5 de la Vía Manta-Montecristi, la determinación de Celulosa Hemicelulosa y Lignina se envió laboratorio externo Universidad de Arkansas, Fayetteville–Carolina del Norte-USA, la caracterización de los jugos azucarados fue realizada en el Laboratorio de análisis Instrumental Investigación y

Desarrollo de La Fabril y Laboratorio de química del centro de investigación de la caña de azúcar del Ecuador (CINCAE).

2.2. Materia prima

La fibra de racimos vacíos fue proporcionada por la planta extractora de aceite de palma Rio Manso ubicada en la zona de Santo Domingo Ecuador, las muestras fueron colectadas luego del proceso de picado y secado de fibras de raquis, después fueron sometidas a proceso de cocción a 105°C por 1 hora en un medio alcalino utilizando Hidróxido de sodio al 5% la relación de agua utilizada es 8:1 (w/w) respecto fibra de raquis en base seca utilizando 1.5 kg para cada tamaño de partícula. Culminada la etapa de cocción el material es lavado con agua del grifo e inmediatamente sometido a proceso de hidrólisis enzimática acorde a planificación del diseño experimental, el material es retenido en lienzo mesh 100 para evitar pérdida de la fibra, este proceso tiene como objeto saponificar la grasa contenida en el material, reducir el nivel de lodo y elementos indeseables tales como tierra, metales, etc.

2.3. Análisis Físicos Químicos

La determinación de contenido de humedad se usó el método AOCS Da-2a-48. El contenido de grasa total se utilizó método Extracción Soxhlet utilizando como solvente Hexano grado analítico (99%) en la que se pesó 5g de muestra, la velocidad del reflujo se llevó a 150 gotas por minuto manteniendo en recirculación por 6hr; el análisis de ceniza fue realizado siguiendo el método de referencia AOCS Bc-5a-49, en relación a sus componentes vegetales celulosa Hemicelulosa y lignina se la realizan mediante el método ADF/NDF (Determinado mediante el analizador de fibra Ankom), métodos de referencia para estos análisis AOAC 973.18 Fibra, Ácido-detergente y lignina, ácido sulfúrico.

2.4. Enzimas

Para el presente trabajo se utilizó enzimas del fabricante Novozymes Cellic® CTec2 y Cellic HTec2 actividad enzimática de 1203 BHU-2/g, la actividad enzimática clave es proporcionada por celulasa que hidroliza los vínculos (1,4)-beta-D-glucosídicos en celulosa y otros beta-D-glucanos, lo que la hace altamente selectiva para convertir materiales lignocelulósicos principalmente en azúcar simples típicamente de 5 o 6 carbonos su proporción dependerá también del tipo de materia prima.

2.5. Hidrólisis enzimática

El proceso de hidrólisis fue realizado en biorreactores enchaquetado con capacidad 1 litro equipados con recirculación de agua a 50°C asegurando la estabilidad de la temperatura de reacción entre 45 y 50°C, y con agitador mecánico a una velocidad de 180 rpm, se usó una relación 5:1 (p/p) agua; material lignocelulósico, el medio se lo ajusta a un pH comprendido entre 4.5 y 5 acorde a los requerimientos óptimos de la enzima según recomendaciones del fabricante Novozymes a través de su hoja de aplicación para enzima Cellic CTec2 y Cellic HTec2.

El rendimiento se determinó con el uso de la siguiente fórmula, acorde a lo indicado por (Tang et al., 2018)

$$\text{Ecuación 1} \quad \text{Rend. Glucosa/Xilosa \%} = \frac{\text{Rendimiento de glucosa/Xilosa mg/g}}{\text{Total de carbohidratos total muestra de entrada mg/g}}$$

2.6. Determinación de azúcares totales.

Para el seguimiento y control de la bioconversión de lignocelulosa en azúcares simples se utilizó el refractómetro digital Milwaukee modelo: MA884, fabricación USA para medir el incremento de grados Brix; esta medida es confinada por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) ver curva Figura #1 donde se muestra los picos con los que se compara los tipos de carbohidratos presentes en la muestras, este método permite monitorear los carbohidratos e identificarlos de manera cualitativa (Torre, 2016).

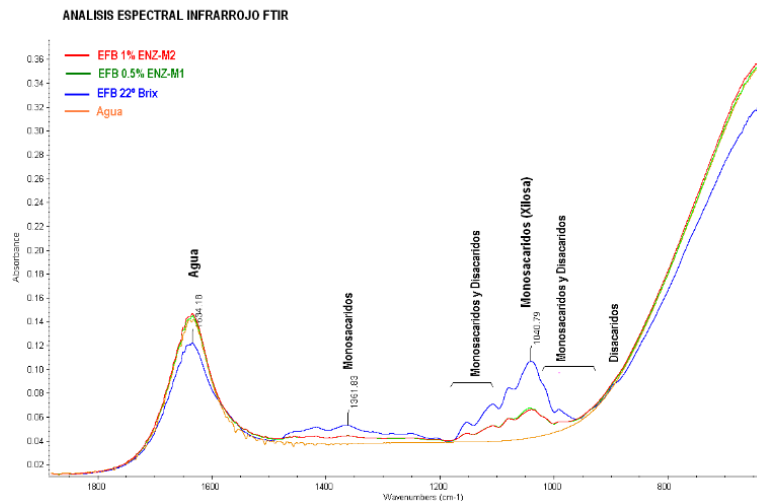
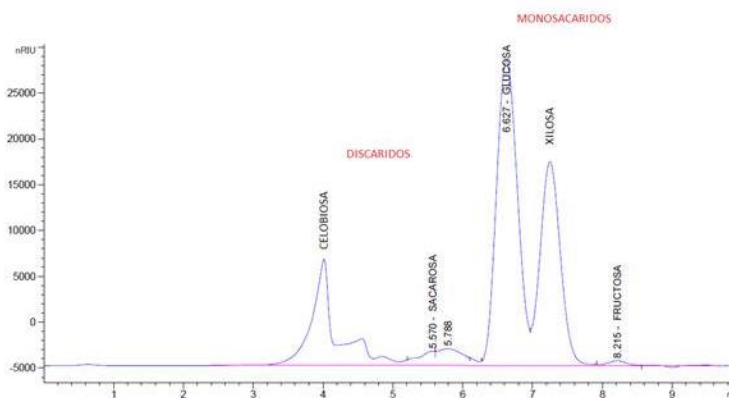


Figura 1 Análisis espectral infrarrojo FTIR para muestras de jugos azucarados

2.7. Determinación de tipo de carbohidrato

La determinación del tipo de carbohidrato se la realiza por cromatografía líquida (HPLC), en el laboratorio de Química del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE), la referencia para la integración se muestra en la Figura 2 acorde a tiempos de retención probables acorde a la configuración del HPLC en lo referente a columna y detector.



Fuente: (Merck Millipore, n.d.)

Figura 2 Regiones de los compuestos de interés para las muestras resultado de la hidrólisis enzimática

2.8. Modelado estadístico

Para el análisis de los datos se planteó un análisis de varianza (ANOVA), usando Software Minitab App Web versión 2022. Se usó un diseño factorial no aleatorizado de dos factores correspondientes a % de enzimas designado como factor "A" con tres niveles 0,5%, 1% y 1.5% y dos tamaños de partículas de fibras de racimos vacíos de palma Factor "B" con dos niveles tamaño #1 menor a 0.5 mm representado valor -1 y tamaño #2 mayor a 2 a 6mm representados por valor 1, ejecutando 6 tratamientos por triplicado; de la misma manera se realiza un tratamiento 0 con el objeto de descartar o confirmar que se produzca azúcares simples sin adición de enzimas.

Como variable de respuesta se define el valor de Brix " γ " como factores predictivos el % de enzima factor "A" y tamaño de fibras o tamaño de partícula, factor que está representado acorde al modelo cuadrático mostrado en la ecuación 1 ecuación de diseño.

$$\text{Ecuación 2} \quad \gamma = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \varepsilon$$

En donde γ es la respuesta, la β son parámetros cuyos valores deben determinarse, x_1 es una variable que representa al valor A, x_2 es la variable que representa al factor B, y ε es el término del error aleatorio (Montgomery, 2003)

3. Resultados y Discusión

3.1. Caracterización Físico Química

La humedad contenida en la muestra se pudo determinar en 8,7% ver Tabla #2 valor también es importante para su conservación en el tiempo sin generar crecimiento acelerado de macroorganismos principalmente de Hongos durante la manipulación, en estudios recientes valores de 14,53% se ha publicado para racimos secos (Hidayah and Wusko, 2020). El contenido de grasa en base seca fue de 6,1%, sin embargo valores de 2.13% han sido aceptados al investigar sobre la caracterización de racimos vacíos originarios de Indonesia. La celulosa y hemicelulosa obtenidos 33% y 32.4% respectivamente expresados en base seca, en la actualidad no se ha encontrado una norma regule estas características sin embargo investigaciones han indicado valores de entre 37,3 - 46,5% de celulosa y entre 25,3 - 33,8% de hemicelulosa (Sudiyani et al., 2013), también rangos de 38 a 65% para celulosa, 17 a 33% Hemicelulosa y 13 a 27% para lignina (Said et al., 2021) estos datos indican la presencia de un recurso con características importante para su aprovechamiento y conversión en materias primas de valor agregado, por lo tanto al producirse en grandes volúmenes y estando fuera de la cadena alimentaria humana no genera conflictos con el suministro alimentario lo que hace que los costos de este recurso sean relativamente económicos (Rojas et al., 2011).

Tabla#2: Caracterización fisicoquímica del material lignocelulósico de origen de racimos vacío de palma.

Característica	Valor	Método
Humedad & Volátiles, %	8.7	AOCS Da-2a-48
Grasa, %	6.1±0.5	Extracción Soxhlet/AOCS* Ba 3-38
Cenizas, %	3.27±0.5	AOCS Bc-5a-49*
Celulosa, %	33±2	ADF/NDF/Kurschner y Hoffer*
Hemicelulosa, %	32.4 ± 1.7	ADF/NDF /Kurschner y Hoffer*
Lignina, %	36.4±2.5	ADF/NDF / Kurschner y Hoffer*

Nota: *Los valores son expresados descontando el contenido de agua (Base seca).

3.2. Azúcares simples y caracterización jugos azucarados.

Se puede observar en la Figura # 3 que los tratamientos T3 y T6 alcanzaron valores más altos demostrando que el proceso bioconversión de lignocelulosa a azúcar simples puede ser una alternativa para esta materia prima con el uso de enzima como proceso alternativo comparado con métodos químicos mismos que utilizan (ácidos fuertes) y su aplicación puede significar alto riesgo en el manejo durante el transporte y la posibilidad de generar impactos ambientales.

Con respecto a la evolución de hidrólisis se observó que entre las 12 y 24 horas se ha alcanzado los mayores niveles de conversión luego de este lapso de tiempo se genera una fase estacionaria demostrando que el medio ha alcanzado su equilibrio, comportamiento similar ha sido

demostrado mientras se investigaba la hidrólisis de material lignocelulósico proveniente de la cascara de la piña cuando el valor de grados Brix ha superado los 7°Bx a las 10 horas (NOVIDZRO et al., 2019) cabe destacar que para T0 no se usó de enzima y no produjo incremento de °Bx descartando la influencia de otros factores que puedan promover la hidrólisis sin uso de un catalizador, los valores más altos de conversión fueron para los tratamiento T3 y T2 tratamientos que comparten la característica de material tamaño de partícula <0,5 mm.

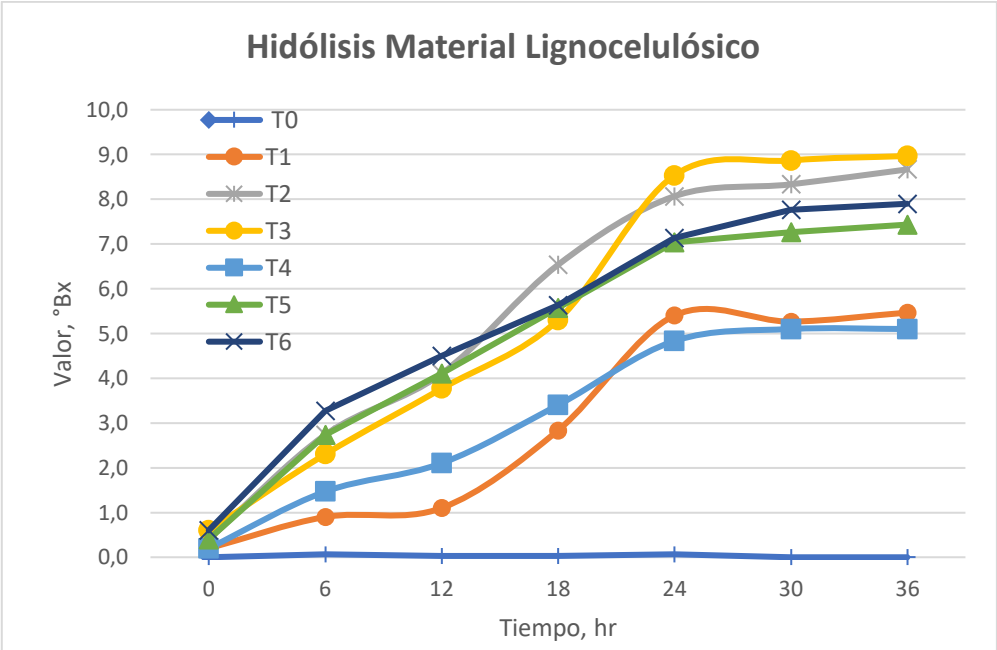


Figura 3. Evolución de proceso de conversión de material lignocelulósico pulverizado en azúcares simples por efecto de aplicación con enzimas celulasas.

El perfil de carbohidratos fue analizado por cromatografía líquida (HPLC) mostrando una importante selectividad para la producción de glucosa con un rendimiento de 146 g de glucosa por cada kg de racimos vacío de palma lo que corresponde a 53% respecto al total de los azucares identificados para T3, ver (Tabla #3) alcanzando una conversión 86% respecto a Celulosa y Hemicelulosa en peso presente en muestra inicial, valores de 96% conversión han sido alcanzados con coctel enzimático al 1.39% (Tang et al., 2018) a las 48 Horas mientras que con hidrólisis química se han logrado obtener una conversión de hasta 91.27% acorde a lo demostrado por (Rahman et al., 2007).

Tabla#3 Tipo de carbohidrato en jugos azucarados posterior a Hidrólisis

Id Muestra	Celobiosa, %	Sacarosa, %	Glucosa, %	Fructosa, %	Xilosa, %
T0	ND	ND	0.05	ND	ND
T1	1.09	ND	2.07	0.05	1.7
T2	1.70	0.2	3.10	ND	2.9
T3	1.80	0.37	4.26	0.11	2.7
T4	1.02	0.1	1.94	0.06	1.7
T5	1.50	0.13	2.66	0.18	2.5
T6	1.45	0.28	3.75	0.15	2.5

3.3. Modelado estadístico

Para el análisis estadístico se ha descartado el experimento T0 debido a que no produjo valores indicando que sin un catalizador a las condiciones del estudio la lignocelulosa no se hidroliza.

El análisis de varianza mostrado en la tabla # 5, en los que se pudo destacar que los factores de % de enzima y tamaño de partículas son significativos o que tiene una influencia sobre el valor de grados Brix obtenido, comportamiento similar se ha logrado por (Tang et al., 2018) obteniendo hasta un 96% de la Xilosa posible usando pretratamiento con ácido acético y vapor vs 86% (w/w) presente investigación usando pretratamiento alcalino ambos casos se ha usado enzimas.

Tabla# 4 Análisis de varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	5	40.200	8.0400	15.61	0.000
Lineal	3	38.270	12.7567	24.77	0.000
% Enzima	2	32.490	16.2450	31.54	0.000
Partícula	1	5.780	5.7800	11.22	0.006
Interacciones de 2 términos	2	1.930	0.9650	1.87	0.196
% Enzima*Partícula	2	1.930	0.9650	1.87	0.196
Error	12	6.180	0.5150		
Total	17	46.380			

Acorde a datos estadísticos de análisis de varianza Ver Tabla # 4 se pudo destacar que el % de enzima, así como el tamaño de partícula (fibras) tiene efectos significativos sobre el resultado de °Bx obtenidos posterior a la hidrólisis, en cuanto a la interacción de los factores % Enzima vs tamaño de partículas (fibras) no es significativa.

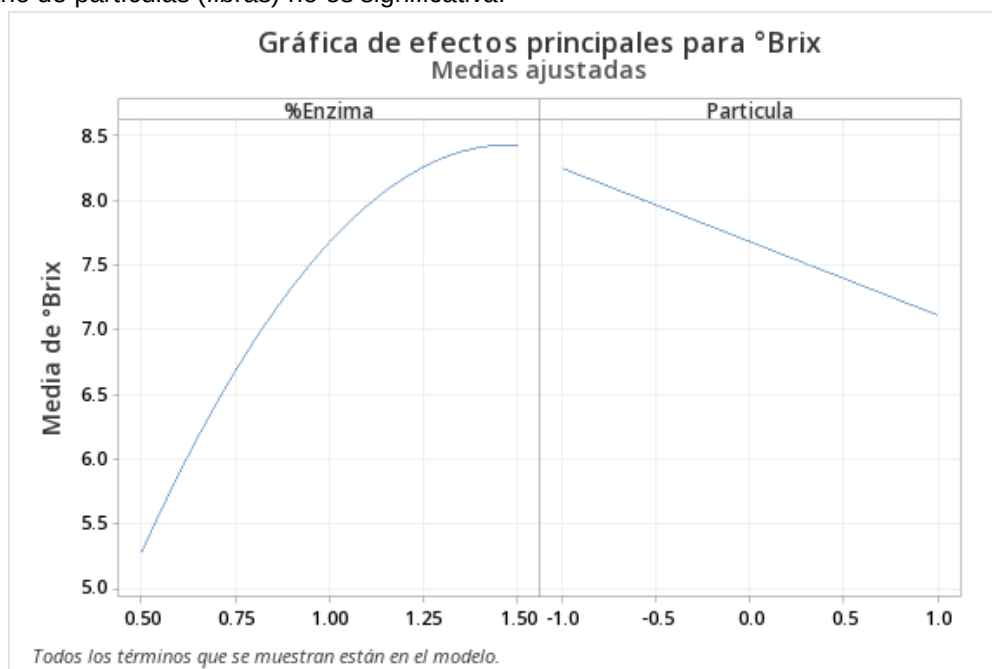


Figura 3 Efectos principales para °Brix Vs % Enzima y Tamaño fibra (partícula)

En concordancia con los valores obtenidos en el análisis de varianza (Tabla #4), la Figura #4 de efectos para °Brix Vs % de enzima y tamaño de partícula demuestra que el porcentaje de enzima depende de la tasa catalítica para formar polímeros de cadenas más cortas (Tang et al., 2018), este comportamiento sido demostrado por Han Y Chen la presencia de β -1,4-glucosidasa en el cóctel de enzimas hidrolizará celo-oligómeros en glucosa, y por lo tanto reduce el efecto del producto final generando una desaceleración de contenido de °Bx final (Han and Chen, 2008),

mientras que para el tamaño de partícula tiene una menor incidencia en los valores de finales de azúcares simples (°Brix), .

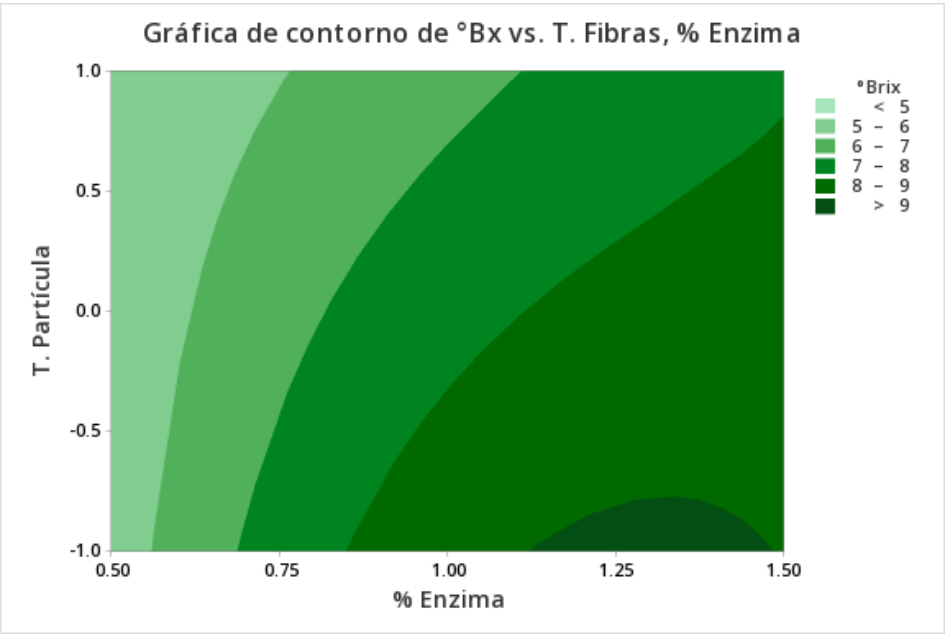


Figura 4 Gráfica de contorno para °Bx vs T. Material; % enzima

En la Figura 5 y Figura 6 muestra las áreas en relación con los grados Brix, también muestra que el área con probabilidades de obtener valores superiores a 9°Bx se dio cuando se use enzima en valores alrededor de 1.25% en combinación con el área material pulverizados tamaño partícula pasa mesh 100 codificado con # -1, valores de 1.39% a las 48 horas con un coctel enzimático en condiciones similares han sido publicados por (Tang et al., 2018) para este tipo de materia prima.

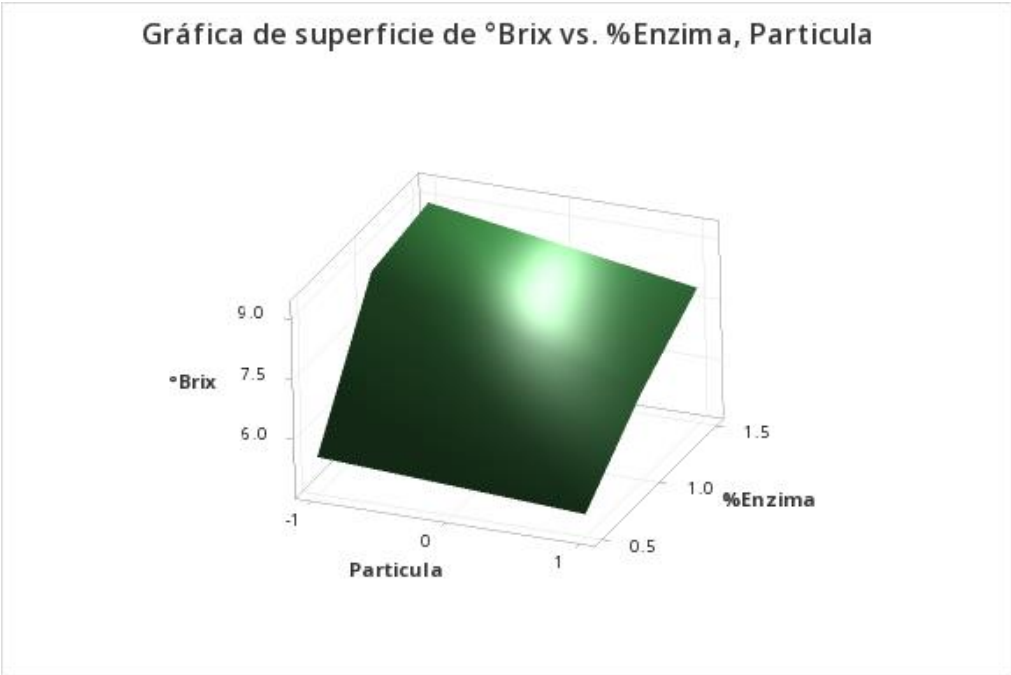


Figura 5 Gráfica de superficie de respuesta para °Bx Vs % Enzima y Tamaño de partícula fibras de palma.

Las estimaciones para este modelo ajustado se detallan en la ecuación descrita a continuación:

Ecuación 3
$$^{\circ}\text{Bx} = 1.23 + 9.75 \cdot A - 0.217 \cdot B - 0.350 \cdot A \cdot B - 3.30 \cdot A^2$$

En donde A representa al % de enzima para un rango entre 0.5% a 1.5% y B representa al tamaño de partícula codificado -1 para finos que pasan Mesh 35 (500 Micras) y 1 para partículas molidas tamaño < a 2 cm de largo.

Conclusiones

El material vegetal procedente de fibra de raquis vacíos de palma contiene una fuente importante de celulosa $32 \pm 2\%$ y hemicelulosa $32.4 \pm 1.7\%$, al ser un desecho agroindustrial representa un recurso que puede ser aprovechado para la obtención de aditivos e insumos usados en industria alimenticia y farmacéutica tales como el Xilitol, Etanol o biocombustibles.

En relación con el contenido de azúcares simples obtenido en el pretratamiento del material lignocelulósico de racimos vacío de palma (*E. guineensis*) se observa que la concentración de enzimas influye en la conversión de material lignocelulósico dentro de las 36 horas de reacción aplicando Cellic® CTec2 y Cellic HTec2 en relación con los mencionados resultados en este estudio se puede concluir que estas dosis se encuentran dentro del rango aceptable para este tipo de material obteniendo como mejor resultado el tratamiento T3 en el que se obtuvo valores de $^{\circ}\text{Bx}$ de 9 con una conversión de 86%.

Referencias

- Caballero, S., Maritza, J., Yaimé, I., Arcaño, D., 2022. Importancia del uso del xilitol en la industria alimenticia y farmacéutica.
- Calaorrano, O., Alvares, A., Cárdenas, P., 2022. ANUARIO 2021 - Propalma [WWW Document]. Propalma. URL <https://propalmaec.com/anuario2021/> (accessed 12.16.22).
- Han, Y., Chen, H., 2008. Characterization of β -glucosidase from corn stover and its application in simultaneous saccharification and fermentation. *Bioresour Technol* 99, 6081–6087. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2007.12.050>
- Hidayah, N., Wusko, I.U., 2020. Characterization and Analysis of Oil Palm Empty Fruit Bunch (OPEFB) Waste of PT Kharisma Alam Persada South Borneo. *Majalah Obat Tradisional* 25. <https://doi.org/10.22146/MOT.52715>
- Juan, D.C., González Hernández, C., 2013. Caracterización fermentativa de la producción de xilitol por *Candida magnoliae* utilizando hidrolizados de semilla de tamarindo como sustrato.
- Latham, M.C., 2002. Macronutrientes: carbohidratos, grasas y proteínas. *Nutrición humana en el mundo en desarrollo* 99–106.
- Machado, C.M.M., 2010. Situación de los Biocombustibles de 2da y 3era Generación en América Latina y Caribe.
- Maitan-Alfenas, G.P., Visser, E.M., Guimarães, V., M., 2015. Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: converting food waste in valuable products. *Curr Opin Food Sci* 1, 44–49. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2014.10.001>

- Mathew, A.K., Abraham, A., Mallapureddy, K.K., Sukumaran, R.K., 2018. Lignocellulosic Biorefinery Wastes, or Resources? Waste Biorefinery: Potential and Perspectives 267–297. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63992-9.00009-4>
- Merck Millipore, n.d. Food Safety and Food Quality Control Beat your own record! Dirty sample analysis even faster with monolithic Columns.
- Montgomery, D.C., 2003. Diseño y análisis de experimentos, 2nd ed. Limusa S.A de CV, Mexico.
- Okal, E.J., Aslam, M.M., Karanja, J.K., Nyimbo, W.J., 2020. Mini review: Advances in understanding regulation of cellulase enzyme in white-rot basidiomycetes. Microb Pathog 147, 104410. <https://doi.org/10.1016/J.MICPATH.2020.104410>
- Pahlawi, Q.A., Ghazali, N.F., Mohd Hanim, K., Nik Mahmood, N.A., 2015. Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulosic Oil Palm Empty Fruit Bunch (EFB). Adv Mat Res 1113, 305–310. <https://doi.org/10.4028/WWW.SCIENTIFIC.NET/AMR.1113.305>
- Rahman, S.H.A., Choudhury, J.P., Ahmad, A.L., Kamaruddin, A.H., 2007. Optimization studies on acid hydrolysis of oil palm empty fruit bunch fiber for production of xylose. Bioresour Technol 98, 554–559. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2006.02.016>
- Rojas, C., Pérez, L., Piñeros-Castro, Y., Enrique Velásquez Lozano, M., Tadeo Lozano, J., 2011. Producción de azúcares fermentables a partir de fibra prensada de palma de aceite pretratada biológicamente por *Pleurotus ostreatus* y *Phanerochaete chrysosporium*.
- Said, F.M., Hamid, N.F., Razali, M.A.-A., Daud, N.F.S., Said, F.M., Hamid, N.F., Razali, M.A.-A., Daud, N.F.S., 2021. Lignocellulosic of Oil Palm Biomass to Chemical Product via Fermentation. *Elaeis guineensis*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.99312>
- Sudiyani, Y., Styarini, D., Triwahyuni, E., Sudiarmanto, Sembiring, K.C., Aristiawan, Y., Abimanyu, H., Han, M.H., 2013. Utilization of biomass waste empty fruit bunch fiber of palm oil for bioethanol production using pilot - Scale unit. Energy Procedia 32, 31–38. <https://doi.org/10.1016/J.EGYPRO.2013.05.005>
- Tang, P.L., Abdul, P.M., Engliman, N.S., Hassan, O., 2018. Effects of pretreatment and enzyme cocktail composition on the sugars production from oil palm empty fruit bunch fiber (OPEFBF). Cellulose 25, 4677–4694. <https://doi.org/10.1007/S10570-018-1894-0/METRICS>
- Torre, C., 2016. Uso de espectroscopia FTIR para la determinación de azúcares simples y ácidos en zumos y néctares de fruta. UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈN, Valencia.
- Viñals-Verde, M., Bell-García, A., Michelena-Álvarez, G., Ramil-Mesa, M., n.d. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar.