



**FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y URBANISMO
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL Y COMERCIO EXTERIOR**

TESIS

**OBTENCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES A
PARTIR DE CÁSCARA DE PAPA (*Solanum
tuberosum*) POR HIDRÓLISIS QUÍMICA Y
ENZIMÁTICA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL Y COMERCIO EXTERIOR**

Autores:

Bach. Cieza García Richard Franklin

Bach. Diaz Rodríguez Giovanni Jair

Asesor:

MSc. Bustamante Sigueñas Danny Adolfo

Línea de investigación:

Ingeniería de Proceso Productivos

**Pimentel - Perú
2018**

Obtención de azúcares reductores a partir de cáscara de papa (*Solanum tuberosum*) por hidrólisis química y enzimática

Aprobación del informe de investigación

Ing. Símpalo López Walter Bernardo
Asesor metodólogo

Aurora Vigo Edward Florencio
Presidente del Jurado de Tesis

Símpalo López Walter Bernardo
Secretario del Jurado de Tesis

Castillo Martinez Williams Esteward
Vocal del Jurado de Tesis

Dedicatoria

El presente trabajo de investigación está dedicado a mis padres, familiares y a los docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial y comercio Exterior de la Universidad Señor de Sipán.

Díaz Rodríguez Giovanni Jair

El presente trabajo de investigación está dedicado a mis padres, familiares a los docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial y comercio Exterior de la Universidad Señor de Sipán.

Cieza García Richard Franklin

Agradecimiento

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a la largo de nuestra carrera, por ser nuestra fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarnos una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A nuestros padres por habernos apoyado con amor y sacrificio en nuestra formación personal y profesional.

A todas las personas que de una u otra manera colaboraron para la realización de este trabajo de investigación.

INDICE DE CONTENIDO

Dedicatoria	iii
Agradecimiento.....	iv
RESUMEN.....	ix
Abstract	x
INTRODUCCIÓN.....	xi
CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	12
1.1. Situación problemática.....	12
1.2. Formulación del problema.....	14
1.3. Delimitación de la investigación	14
1.4. Justificación e Importancia de la investigación	14
1.5. Limitaciones de la investigación	15
1.6. Objetivos	15
1.6.1. Objetivo General.....	15
1.6.2. Objetivos Específicos.....	16
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO	17
2.1. Antecedentes de estudio.....	17
2.2. Estado del Arte	20
2.3. Bases Teórico Científicas	23
2.4. Definición de Términos Básicos	38
CAPITULO III: MARCO METODOLÓGICO	43
3.1. Tipo y Diseño de la Investigación.....	43
3.2. Población y Muestra	43
3.2.1. Población.....	43
3.2.2. Muestra	44
3.3. Hipótesis.....	44
3.4. Variables	44
3.5. Operacionalización	45
3.6. Abordaje Metodológico, Técnicas e Instrumentación de Recolección de Datos ..	45
3.6.1. Abordaje Metodológico	45
3.6.2. Técnicas de Recolección de Datos	50
3.6.3. Instrumentos de Recolección de Datos	52
3.7. Procedimiento para la Recolección de Datos	53
3.8. Análisis Estadístico e interpretación de datos.....	53
3.9. Principios Éticos	54
3.10. Criterios de Rigor Científico.....	54
CAPÍTULO IV: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	56
4.1. Resultados de la caracterización de la cáscara de papa molida	56

4.2. Resultados en tablas y gráficos	56
4.3. Discusión de resultados.....	70
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	72
6.1. Conclusiones	72
6.2. Recomendaciones.....	72
REFERENCIAS	73
ANEXO.....	80

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Operacionalización de las variables para la hidrólisis de la cáscara de papa.....	45
Tabla 2: Análisis de resultados después de caracterizar la composición química de la cáscara de papa (Solanum Tuberosum)	56
Tabla 3: Análisis de resultados después de aplicar hidrólisis ácida y tiempo para el rendimiento de azúcares reductores	57
Tabla 4: Análisis de Varianza para Azúcares	58
Tabla 5: Coef. de regresión para Azucares	59
Tabla 6: Optimización de Respuesta (Meta: maximizar Azúcares)	60
Tabla 7: Análisis de resultados después de aplicar hidrólisis enzimática y tiempo para el rendimiento de azúcares reductores	64
Tabla 8: Análisis de Varianza para la hidrólisis enzimática y tiempo para el rendimiento de azúcares reductores	65
Tabla 9: Coef. de regresión para la hidrólisis enzimática y tiempo para el rendimiento de azúcares reductores	66
Tabla 10: Optimización de Respuesta (Meta: maximizar Azúcares)	67

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.: Estructura química de la celulosa.....	32
Figura 2.: Unidad estructural básica de lignina.....	37
Figura 3.: Proyección de Fischer de los azúcares.....	37
Figura 4.: Ácido 3,5 dinitro salicílico (DNS)	39
Figura 5.: Procedimiento experimental para la obtención de azúcares reductores a partir de la hidrólisis de la cáscara de papa	46
Figura 6.: Diagrama de Pareto para la hidrólisis acida y el tiempo reductores en la hidrólisis ácida	60
Figura 7.: Gráfica de efectos principales para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis ácida	61
Figura 8.: Gráfica de interacción para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis ácida	61
Figura 9.: Gráfica de superficie respuesta para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis ácida	62
Figura 10.: Gráfica de contorno para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis ácida	63
Figura 11.: Diagrama de Pareto para la hidrólisis enzimática y el tiempo.....	67
Figura 12.: Gráfica de efectos principales para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática.....	68
Figura 13.: Gráfica de interacción para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática.....	68
Figura 14.: Gráfica de superficie respuesta para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática	69
Figura 15.: Gráfica de contorno para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática.....	69

RESUMEN.

En la presente investigación tuvo por objetivo obtener azúcares reductores a partir de cáscara de papa usando dos métodos: el primero consistió en hidrólisis química, usando ácido clorhídrico (HCl) a tres diferentes concentraciones: 2%, 4%, 6% y tres tiempos: 2hrs, 4hrs, 6hrs; de los cuales, ambas variables son estadísticamente significativas según el modelo estadístico planteado, con un R^2 de 98.1737, donde podemos alcanzar un valor máximo de: 2.93657 mg de azúcares reductores por mL de solución. El segundo método consiste en el hidrólisis enzimático, a tres diferentes concentraciones de enzima celulosa: 0.05%, 0.1%, 0.2% y tres tiempos: 2hrs, 4hrs, 6hrs, donde la variable tiempo es más significativa que la variable concentración enzimática de acuerdo al análisis de varianza, con un R^2 de 98.882, y alcanzando un valor máximo de 10.0939 mg de azúcares reductores por mL de solución.

Se caracterizó la composición química de la cáscara de papa (*Solanum tuberosum*) obteniendo los siguientes resultados: Cenizas 7,33%, humedad 4,33%, acidez 1.6 %, grados brix 6°.

Se realizó el pre-tratamiento de la muestra de cáscara de papa antes de realizar la hidrólisis química y enzimática y se determinó los siguientes parámetros de control: temperaturas 110 °C por 15 min.

Se evaluó los diferentes tiempos para la hidrólisis ácida y enzimática de la cáscara de papa pre-tratada, en donde se obtuvo el mayor rendimiento en los experimentos con enzimas cuando usando 2 % de HCL y 6 horas de tratamiento.

Palabras Clave: Hidrólisis, celulosa, almidón, enzima, azúcares reductores.

Abstract

In the present investigation the method of obtaining reducing sugars from the potato mask was determined using two methods; the first consisted of chemical hydrolysis, using hydrochloric acid (HCl) at three different concentrations: 2%, 4%, 6% and three times: 2 hours, 4 hours, 6 hours; of which, both variables are statistically significant according to the statistical model proposed, with an R² of 98.1737, where we can reach a maximum value of: 2.93657 mg of reducing sugars per ml of solution. The second method consists of enzymatic hydrolysis, at three different concentrations of cellulase enzyme: 0.05%, 0.1%, 0.2% and three times: 2 hours, 4 hours, 6 hours, where the variable time is more significant than the concentration enzyme concentration according to the analysis of variance, with R² of 98,882, and reaching a maximum value of 10.0939 mg of reducing sugars per ml of solution.

The chemical composition of the potato peel (*Solanum tuberosum*) was characterized obtaining the following results: Ash 7.33%, humidity 4.33%, acidity 1.6%, degrees brix 6°.

The pre-treatment of the potato peel sample was carried out before carrying out the chemical and enzymatic hydrolysis and the following control parameters were determined: temperatures 110 ° C for 15 min.

The different times for the acid and enzymatic hydrolysis of the pre-treated potato husk were evaluated, where the highest yield was obtained in the enzyme experiments when using 2% HCL and 6 hours of treatment.

Key Words: Hydrolysis, cellulose, starch, enzyme, reducing sugars.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años los conflictos ambientales se han convertido en temas recurrentes en la agenda de muchos gobiernos, uno de los cuales son los desechos orgánicos como es el caso de la cáscara de papa. La presente investigación tiene como finalidad concientizar el aprovechamiento los residuos de la papa generando así un valor agregado y mejorar la economía de las empresas productoras.

Nuestro país es altamente consumidor de papa; de los cuales solo es aprovechan la pulpa más no la cáscara. Es ahí donde nosotros como futuros Ingenieros Agroindustriales y Comercio Exterior, investigadores, tomamos como punto de partida, el problema al desechó de papa como uno de los desperdicios que no se le da un verdadero uso o una buena industrialización a estos residuos, pero cabe rescatar que las cáscara en mínimas cantidades lo utilizan como alimento de animales domésticos La cáscara de papa es mayormente un desperdicio en toda la región lambayecana y a ello se evoca que muchas de estas toneladas de cáscara se arrojan a la basura, sin saber su valor que contiene, por los altos contenidos de carbohidratos. Además, si se le diera un valor agregado generaría un incremento económico extra, como es el caso de los azúcares simples que se podría recuperar producto de la hidrólisis de estos carbohidratos de cadena larga, luego estos se convertirían en azúcares fermentables que fácilmente se podrían aprovechar en la producción de etanol como fuente de energía.

El objetivo de esta investigación fue Obtener azúcares reductores a partir de cáscara de papa (*Solanum tuberosum*) utilizando la hidrólisis química y enzimática, aprovechando así los residuos orgánicos de la papa, siendo los objetivos Específicos los siguientes:

- Caracterizar la composición fisicoquímica de la cáscara de papa (*Solanum tuberosum*).
- Realizar pre-tratamientos de la muestra de cáscara de papa antes de realizar la hidrólisis química y enzimática.
- Evaluar a diferentes niveles de temperatura de hidrólisis y concentración enzimática a la cáscara de papa.
- Determinar el contenido de azúcares fermentables después del hidrólisis.

CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Situación problemática

La producción de residuos orgánicos es tan antigua como la humanidad, a medida que la población mundial incrementa, el consumismo produce un gran problema ambiental respecto a la generación de residuos orgánicos de todo tipo, no solamente en la inadecuada gestión, disposición y tratamiento final generan altos costos económicos, también en la salud de la propia población.

De acuerdo al informe de la GWMO (Perspectivas Globales de Gestión de Residuos), se ha realizado la publicación y concientización del llamado PNUMA (Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente) y la ISWA (Asociación Internacional de Residuos Sólidos), quienes promueven el buen manejo de los residuos sólidos. Se ha calculado que más de siete mil millones de toneladas de residuos sólidos, se generan en el mundo; esta situación es muy preocupante pero especialistas nos dicen que este problema puede ser revertido, con la generación de puestos de trabajo con incentivos y beneficios, con adecuadas políticas de estado que promuevan estas acciones. (Hyman, 2013)

En el sector agroindustrial, bien es sabido que las pérdidas en pos cosecha son muy cuantiosas y el auge en la demanda de la población en pleno desarrollo, donde se debe satisfacer al consumidor final, genera residuos orgánicos y la realidad de muchas fábricas agroindustriales es que no cuentan con tecnología adecuada para un tratamiento que genere un valor agregado adicional a sus residuos y ser útiles en otras actividades económicas, por lo general, se encamina hacia la generación de compost, biogás o para alimento balanceado de forma empírica.

En el sector doméstico, los residuos orgánicos corresponden a un alto porcentaje de desechos entre ellos la cascara de papa que no son

aprovechados adecuadamente por las familias, como sabemos la problemática de la gestión municipal es inadecuada, lo mismo sucede con los complejos comerciales donde diariamente observamos todo tipo de desechos que son arrojados a la vía pública y no se tiene un tratamiento que permita dar una solución inteligente a este problema ambiental que perjudica a toda la población en su bienestar.

Una evaluación realizada por la Gerencia de Recursos Naturales del Gobierno Regional de Lambayeque reveló que la región produce 601 toneladas de residuos sólidos y orgánicos diarias y 215,429 tn al año, los cuales no son tratadas adecuadamente, provocando un alto nivel de contaminación, los distritos de Chiclayo y José Leonardo Ortiz son los distritos más contaminantes de todo Lambayeque. El 60 % de la producción son residuos orgánicos, principalmente por la presencia del mercado mayorista de Moshoqueque a los cuales no se da un tratamiento adecuado para transformarlos. (Manay, 2014)

Los residuos agroindustriales, las pérdidas pos cosecha, los residuos sólidos domésticos y mercados mayoristas, no están siendo beneficiados de manera efectiva, quizá por desconocimiento de lo valioso que son esas fuentes ricas en carbohidratos, proteínas, grasas, entre otros; o por falta de metodología apropiada que nos permita recuperar, caracterizar, preparar, con calidad e inocuidad productos agroindustriales con valor agregado.

Esta problemática es general en el ámbito mundial, regional y local; eso se refleja en los diversos artículos publicados revisados por los investigadores del presente proyecto a desarrollar.

12. Formulación del problema

¿Cuál de las hidrolisis, química o enzimática será la más conveniente para obtener el mayor rendimiento de azúcares reductores a partir de residuos lignocelulósicos de la cáscara de papa?

13. Delimitación de la investigación

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Química, y Planta Piloto Procesos Agroindustriales de la Universidad Señor de Sipán. Durante la ejecución de la tesis se contó con el apoyo permanente del asesor metodológico así como también docentes especialistas de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial y Comercio Exterior. En la cual se tuvo como objeto de estudio la cascara de papa, y como equipos de laboratorio se contó con, un espectrofotómetro UV/VIS, un oscilador orbital, un baño maría, entre otros. El tiempo de ejecución de la presente tesis, fue de 8 meses, desde la formulación del proyecto.

14. Justificación e Importancia de la investigación

A nivel mundial la industria de alimentos y bebidas, tiene una gran importancia económica y social. Aun cuando esta situación es muy positiva para las economías de los mercados nacionales e internacionales, se conoce que los efluentes y residuos sólidos provenientes de las agroindustrias, ha originado medidas muy estrictas para el control de estos subproductos. (Hernández-Cázares, 2016)

Nuestro país tiene un alto potencial de recursos naturales, entre ellos tenemos la siembra y comercialización de frutas y hortalizas, donde la región de la sierra se caracteriza por la siembra de tubérculos especialmente la papa en sus diversas variedades.

En ciertas temporadas del año el precio de la papa cae estrepitosamente en el mercado ocasionado pérdidas a los pequeños productores quienes son los más perjudicados. Los descartes pos cosecha también son cuantiosos y no generan ganancia produciendo mermas en el rendimiento por hectárea. (Libédula, 2011)

El alto contenido de almidón en la papa, puede ser aprovechado de diversas maneras, tales como: fuente de azúcares para la fabricación de etanol, estas fuentes de azúcares obtenidas por bioprocesos con aplicación de enzimas. (Cholota, L. y Mora, O., 2010).

La investigación busca exhaustiva e incansablemente métodos como el hidrolisis para obtener azúcares reductores y reducir la contaminación ambiental.

La importancia de la obtención de azúcares reductores a partir de la cascara de papa, esta es promisoría para ser utilizada en la obtención de alcoholes que no sólo sirvan para preparar bebidas alcohólicas sino también con fines energéticos.

15. Limitaciones de la investigación.

En el proceso de la investigación una de las dificultades fue uniformizar el espesor de la cascara de papa, la que está sujeto al contenido de almidón, y este a su vez es fuente de azúcares. La variedad de papa también podría influir en los resultados, porque se optó de investigar con una sola variedad.

16. Objetivos

1.6.1. Objetivo General

Obtener azúcares reductores a partir de cáscara de papa (*Solanum tuberosum*) utilizando la hidrólisis química y enzimática.

1.6.2. Objetivos Específicos

Caracterizar la composición fisicoquímica de la cáscara de papa (*Solanum tuberosum*).

Realizar pre-tratamientos de la muestra de cáscara de papa antes de realizar la hidrólisis química y enzimática.

Evaluar a diferentes niveles de temperatura de hidrólisis y concentración enzimática a la cáscara de papa.

Determinar el contenido de azúcares fermentables después del hidrólisis.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

21. Antecedentes de estudio

Gerena, F. (2013). Desarrolló un proyecto de investigación, que se centró en la elaboración de jarabes edulcorados, ricos en azúcares reductores, aportados por la degradación química de los residuos de celulosa y el almidón. En esta investigación se trabajó con los residuos de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis* L var valencia) y papa (*Solanum tuberosum*) variedad Diacol Capiro (R-12), se realizaron combinaciones porcentuales de estos residuos (N100 = Cáscara de naranja al 100%, P100 = Cáscara de papa al 100%, N25P75 = Cáscara de naranja al 25% y Cáscara de papa al 75%, N50P50 = = Cáscara de naranja al 50% y Cáscara de papa al 50%, y N75P25 = Cáscara de naranja al 75% y Cáscara de papa al 25%); se les caracterizó químicamente en cuanto porcentaje de humedad expresado como %H en base húmeda (%H bh) y %H en base seca (%Hbs), porcentaje materia seca expresado como (% MS), Porcentaje de grasa expresado como % extracto etéreo, porcentaje de celulosa (gramos/ 100 gramos de residuo seco), porcentaje de almidón (gramos/100 gramos de residuo seco), porcentaje de azúcares reductores (gramos/100 gramos de residuo seco). Los datos de los contenidos de celulosa, almidón y azúcares reductores, indicaron que se debe realizar una hidrólisis en todos los tratamientos para aumentar la cantidad de azúcares reductores en los jarabes obtenidos.

Se evaluó el efecto de las combinaciones porcentuales de los residuos orgánicos de cáscara de naranja y papa en la producción de azúcares reductores mediante hidrólisis química, para esto se planteó un diseño experimental de un factor completamente aleatorizado con efectos fijos. La prueba de Tukey indicó que entre N100, N75P25 y P100 existe diferencias significativas, P100 es quien genera más azúcares reductores; dentro de las combinaciones porcentuales N25P75 y N50P50 no hay diferencias significativas, esto indica que la cantidad de azúcares reductores que se genera es similar entre ellos y exhiben un comportamiento igual que hidrolizar P100.

Los jarabes obtenidos después de técnicas de purificación pueden ser considerados como jarabes de glucosa líquida ya que se encuentran en un rango superior de 20 ED (equivalente de dextrosa), lo que indicó que entre N100 (21,70 ED) y N75P25 (23,50 ED), se clasifican como glucosas líquidas de baja conversión. N25P75 (46,70), se clasifican como glucosa líquida de conversión media o estándar, pueden ser aplicados en la industria Pastelera, Helados, Alimentación Dietética, Galletas, Farmacéutico. N50P50 (57,00) y P100 (67,30) se clasifica como glucosa líquida de alta conversión, pueden ser empleados en la industria de caramelos, chicles, confitería

En la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, de México, en la investigación titulada: “Optimización del proceso de hidrólisis enzimática de una mezcla de pajas de frijol de cuatro variedades (Pinto villa, Pinto saltillo, Pinto mestizo y Flor de mayo)”, realizada por, González. R *et al* (2011), en la investigación mezclaron, en igual proporción, pajas de frijol de las variedades Pinto villa, Pinto saltillo, Pinto mestizo y Flor de mayo. Se determinó la composición química de la mezcla y se sometió a pretratamiento con hidróxido de sodio al 0.1, 0.5 y 1.0%, a 121 °C durante 30, 60 y 90 min. Las pajas pretratadas se analizaron y sometieron a hidrólisis enzimática durante 10 días a 45 °C y pH 4.5, utilizando una carga enzimática de 25 UPF/g de celulosa, de un concentrado enzimático comercial (Celluclast 1.5 L) proporcionado por Novozyme. Los azúcares producidos se determinaron por el método de Miller y los valores obtenidos se utilizaron para calcular el rendimiento de hidrólisis. Las condiciones óptimas de pretratamiento e hidrólisis se obtuvieron utilizando el método de superficie de respuesta. Los resultados muestran que la mezcla de pajas de frijol está compuesta por 31% de celulosa, 23% de hemicelulosa y 9% de lignina, que el pretratamiento afecta significativamente al rendimiento de hidrólisis y que la sacarificación máxima ($98.95 \pm 8.38\%$) se obtuvo para un pretratamiento con 0.5% de NaOH durante 90 minutos a 121 °C, con un tiempo de hidrólisis de 240h a pH 4.5 y 45 °C, utilizando una carga enzimática de 25 UPF/g de celulosa.

Así también en la Universidad Francisco de Paula Santander (UFPS), Colombia; se realizó la investigación denominada: Evaluación de residuos de papa, yuca y naranja para la producción de etanol en cultivo discontinuo utilizando *Saccharomyces cerevisiae*. Realizado por Quintero, L., Martínez, Y., Velasco, J., Arévalo, A., Amparo, Y. y Urbina, N. (2015); en la que tuvieron como objetivo la producción de etanol, a partir de un jarabe glucosado a partir de residuos de yuca, naranja y papa, para su posterior fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* (cepa nativa) y una cepa control.

Una investigación relacionada también, fue la realizada en la Universidad de Oviedo, sobre la, hidrólisis de residuos de la venta de verduras y hortalizas para la producción de bioetanol, realizada por Diaz. A. (2015), en la que propuso el aprovechamiento de residuos para producir bioetanol. Para llegar a este objetivo los residuos se sometidos a un pretratamiento de hidrólisis con la finalidad de aumentar el rendimiento de la producción de etanol. En esta investigación se emplearon verduras y hortalizas del mercado como papas, tomate y pimientos, a los que se les sometieron a pre tratamientos de hidrólisis ácida, térmica y enzimática, para luego comparar y determinar el más adecuado.

En la Universidad Tecnológica Nacional (UTN), Argentina, se realizó la investigación titulada: Hidrólisis enzimática de cascarilla de arroz pretratada con ácido diluido para evaluar la eficacia de la etapa de pretratamiento. Realizada por Dagnino, E., Roggero, F., Morales, W., Chamorro, E., Felissia, F., Area, M., Romano, R. (2015). Obtuvieron bioetanol a partir de materiales lignocelulósicos, como la cascarilla de arroz, requiere de los siguientes pasos: pre-tratamiento, hidrólisis, fermentación y separación. El presente trabajo de investigación centró su atención en la segunda etapa. Para ello se partió de cascarilla de arroz pre-tratada con ácido sulfúrico diluido optimizado en estudios previos. Se realizó la hidrólisis enzimática del material pre-tratado y sin tratar, para comparar los avances producidos debido a la etapa de pre-tratamiento. Mediante la cuantificación de los azúcares liberados durante la etapa de hidrólisis enzimática se observó que esta liberación es mucho más

eficaz en el caso de la cascarilla pre-tratada. La conversión al comienzo de la hidrólisis (50 minutos de reacción) fue del 21,2% de mientras que en la cascarilla sin tratar solo se convirtió el 8,1%. A las 50 horas se puede dar por finalizada la reacción con el 50% de conversión para el caso de cascarilla pre-tratada y del 31% para la sin tratar.

22 Estado del Arte

El almidón, que es de bajo costo, renovable y de fácilmente disponibilidad, se modifica con medios físicos, químicos y biológicos para mejorar sus propiedades para satisfacer las necesidades de los consumidores, usado en las industrias de alimentos, productos farmacéuticos, cosméticos y textiles (Hong, Chen, Zeng & Han, 2016). La hidrólisis ácida puede utilizarse para modificar significativamente la estructura del gránulo y las propiedades funcionales del almidón (Liu et al., 2014). El almidón hidrolizado con ácido presenta una mayor solubilidad en agua, una viscosidad reducida, una mayor resistencia al gel y mejores capacidades de formación de película comparadas con el almidón nativo, lo que permite su aplicación eficaz como agente gelificante, sustituto de grasa y agente reforzante dentro de la industria alimentaria. (Hoover, 2000, Wang & Copeland, 2015). El material de almidón es comúnmente modificado catalizándolo con ácido clorhídrico (HCl) o ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 25-55 ° C (Wei et al., 2013). Las láminas cristalinas rígidas dentro de gránulos de almidón impiden la penetración de protones, sin embargo, haciendo que el proceso de hidrólisis sea más bien lento. Hay un fuerte interés de este efecto para desarrollar técnicas mejoradas para una hidrólisis de almidón más eficiente.

Estudios recientes han reportado la producción de almidones hidrolizados con ácido utilizando HCl o H₂SO₄ con la ayuda de campos físicos externos como la fuerza mecánica (Lee et al., 2006), ultrasonido (Kim, Han, Kweon, Park & Lim, 2013) Y campos electromagnéticos (Li, Xia, Li, Pang, Cao y Xi, 2001, Yu, Chen, Suree, Nuansri y Wang, 1996).

Debido a sus méritos únicos de rapidez y uniformidad espacial, el calentamiento óhmico se considera como un prometedor reemplazo posible para la calefacción convencional en la industria alimentaria (Halden, De Alwis y Fryer, 1990). El calentamiento óhmico es un proceso en el cual la corriente eléctrica pasa a través de un medio conductor para calentarlo. Esta tecnología se ha aplicado con éxito al procesamiento de alimentos, pero puede ser aplicable además a reacciones químicas aceleradas, particularmente para reacciones orgánicas conducidas en medios acuosos (Cardoso et al., 2015, Pinto et al., 2013). En comparación con el calentamiento con baño de aceite, el calentamiento óhmico tiene varias ventajas, incluyendo un corto tiempo de reacción y un alto rendimiento en reacciones orgánicas tales como sustituciones nucleofílicas, alquilación de N- alquilación, acoplamiento cruzado de Suzuki y reacciones de Diels-Alder (Cardoso et al., 2015). Además, el calentamiento óhmico es capaz de gelatinizar el almidón muy rápidamente (An & King, 2007; Li, Li, Li y Tatsumi, 2004; Wang y Sastry, 1997). La utilización necesaria de electrodos metálicos restringe su aplicación en el procesamiento agroalimentario o en reacciones químicas como la hidrólisis ácida o alcalina, sin embargo, debido a la electrólisis durante el tratamiento de corriente continua (AC) y de corriente alterna (DC). Samaranayake y Sastry (2005) informaron que los electrodos hechos de acero inoxidable, titanio o titanio platinado exhiben corrosión intensa de electrodos a bajos valores de pH.

El uso de un campo eléctrico inducido (IEF) puede resolver eficazmente la corrosión del electrodo y los problemas posteriores de contaminación de la muestra. IEF es una tecnología verde y ecológica basada en la ley de inducción de Faraday (Kulkarni & Khaparde, 2016) por interconversión electromagnética, que difiere del calentamiento óhmico en que no requiere electrodos metálicos. El voltaje de excitación aplicado sobre la bobina eléctrica primaria genera tensiones eléctricas variables en la solución de muestra, que sirve como bobina secundaria para formar un sistema fluídico. La disipación de energía eléctrica en la solución conductora produce suficientes moléculas portadoras de carga y migración iónica para aumentar

la probabilidad de colisiones adicionales con moléculas de almidón, mejorando así la dinámica de reacción y los rendimientos.

Los estudios recientes sobre el procesamiento de alimentos asistidos por IEF se han centrado principalmente en ayudar a la extracción de componentes bioactivos de los tejidos vegetales (Yang, Jin, Jin & Xu, 2016) y acelerar las tasas de impregnación (Jin, Yang, Ma, Wu, Xu y Tong, 2015). Por el contrario, ha habido pocos informes sobre la aplicación de IEF para modificar el material de almidón. Además, el uso de un reactor de fluido permite una transferencia eficiente de calor y masa, un control continuo de la reacción y un consumo químico reducido en comparación con el reactor de lote tradicional (Adamo et al., 2016; Brivio, Verboom & Reinhoudt, 2006). Los informes anteriores han demostrado las ventajas únicas del flujo continuo en el campo del procesamiento de alimentos, por ejemplo, truncando el tiempo de extracción de ocho pesticidas organofosforados en vegetales (Wu et al., 2016), mejorando los rendimientos de fructooligosacáridos (Zambelli et al., 2016) Reforzando el efecto de esterilización (Ferrario & Guerrero, 2016)

En este estudio, se investigó la hidrólisis catalizada por ácido del almidón de patata con la ayuda del tratamiento de campo eléctrico inducido (IEF-HCl) en un sistema de flujo fluídico. Se evaluaron exhaustivamente las condiciones de operación incluyendo el número de reactor, el tipo de sal, la concentración de sal, la temperatura y el tiempo de hidrólisis. Los productos hidrolizados con ácido resultantes se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido (SEM), difracción de rayos X (XRD), ensayos de potencia de hinchamiento y solubilidad y análisis de viscosidad rápida (RVA).

Los resultados presentados aquí pueden representar una ruta de modificación eficaz para la preparación de almidón diluido en ácido sustituyendo las condiciones de calentamiento tradicionales por IEF.

23. Bases Teórico Científicas

Hidrólisis ácida de celulosa

Cuando se calientan a altas temperaturas con ácido sulfúrico diluido, las cadenas largas de celulosa se rompen a grupos más cortos de moléculas de glucosa que luego liberan glucosa que puede degradarse a hidroximetil furfural (99-109). Generalmente, la mayor parte de la celulosa está en forma cristalina, y se necesitan condiciones de reacción ásperas (altas temperaturas, altas concentraciones de ácido) para liberar glucosa de estas cadenas estrechamente asociadas. Además, se observa que la velocidad de hidrólisis de la celulosa aumenta más rápidamente con el aumento de la temperatura que la velocidad de degradación de la glucosa y, como resultado, los rendimientos aumentan con la temperatura y la concentración de ácido, alcanzando aproximadamente 70% a 260 °C. Sin embargo, la pirólisis y otras reacciones secundarias se hacen muy importantes a temperaturas por encima de 220 ° C, y la cantidad de alquitranes y otros subproductos difíciles de manejar formados aumentan a medida que la temperatura se eleva por encima de estos niveles (110). Dichos materiales pueden recubrir rápidamente las paredes del reactor y las líneas de enchufe, limitando el rango práctico de temperatura. Además, los tiempos de reacción a los rendimientos máximos de glucosa se hacen muy cortos a altas temperaturas, siendo sólo aproximadamente 6 segundos a aproximadamente 250 °C con ácido sulfúrico al 1%, y la implementación de reactores comercialmente viables que pueden controlar con precisión tales tiempos cortos presenta un reto importante (111). (Wyman et al., 2005)

Se han ensayado varios reactores a lo largo de los años para liberar glucosa de la celulosa con ácido diluido. Los reactores más antiguos, como los empleados durante la década de 1940, tendían a ser grandes recipientes que podían calentarse a través de reactores con camisa. Más recientemente, se ha aplicado la inyección directa de vapor para calentar rápidamente la celulosa que contiene biomasa a las altas temperaturas requeridas (110, 112). Algunos de estos reactores han sido sistemas de flujo tubular con

adición de vapor para calentar rápidamente suspensiones de biomasa, pero la rápida acumulación de alquitranes limitó su uso (110). Otros han usado extrusores de doble husillo para promover la mezcla y control de los tiempos de residencia del recipiente (113), pero este equipo es muy costoso y no se ajusta fácilmente a los altos rendimientos necesarios para las operaciones comerciales. (Wyman et al., 2005)

En general, los rendimientos de aproximadamente 50 a 60% de la glucosa en celulosa pueden recuperarse a temperaturas de alrededor de 220 ° C en reactores típicos de co-corriente o discontinuo (111). Sin embargo, los resultados recientes con flujo de líquido a través de sólidos que se comprimen a lo largo de la reacción para minimizar el volumen de huecos muestran rendimientos cercanos a teóricos de glucosa de hidrólisis ácida de celulosa en madera de álamo amarillo pretratada. Desafortunadamente, todavía no se ha demostrado que ningún equipo comercialmente viable reproduzca este rendimiento. (Wyman et al., 2005)

Hidrólisis ácida de Hemicelulosa

Las hemicelulosas se clasifican generalmente de acuerdo con el residuo de azúcar principal en el esqueleto, p. Xilanos, mananos y glucanos, siendo los xilanos y mananos los más frecuentes. Dependiendo de la especie de planta, la etapa de desarrollo y el tipo de tejido, se pueden encontrar varias subclases de hemicelulosa, incluyendo glucuronoxilanos, arabinoxilanos, manans lineales, glucomananos, galactomananos, galactoglucomananos, β -glucanos y xiloglucanos. Estos diferentes subtipos pueden agruparse en dos categorías generales basadas en la hidratación de las fibras. Los polisacáridos de baja hidratación incluyen los arabinoxilanos, glucuronoxilanos, xiloglucanos y mananos lineales. Con excepción de los mananos lineales, que sirven principalmente como un compuesto de almacenamiento de semillas, esta clase de hemicelulosa funciona principalmente para estabilizar la pared celular a través de interacciones de enlace de hidrógeno con celulosa y la interacción covalente con lignina. (

Wyman et al., 2005)

De nuevo, con la excepción de los mananos lineales, estos compuestos son solubles en agua en su estado nativo, generalmente debido a su construcción ramificada. Los protocolos de extracción estándar que utilizan álcali los desesterifican de algunas de sus cadenas laterales, interrumpiendo la entropía del agua de solubilización lo suficiente como para hacer que las cadenas parcialmente desramificadas se agreguen a través de enlaces de hidrógeno entre cadenas y caigan fuera de la solución. Otras hemicelulosas, tales como galactoglucomananos, glucomananos, galactomananos y β -glucanos comprenden un subconjunto de hemicelulosas altamente hidratadas. Esta clase, compuesta principalmente por hidrocoloides, se utiliza principalmente como un sistema de almacenamiento de materias primas y energía extracelular y como mecanismo de retención de agua en las semillas. Debido a que tienen menos cadenas laterales unidas por éster, si es que las tienen, la extracción alcalina no las vuelve generalmente insolubles y tienden a ser fuertemente hidratadas. (Wyman et al., 2005)

Hidrólisis enzimática

En su investigación de García-Camús y colaboradores, fundamenta en el uso de enzimas que degraden los polisacáridos presentes en la materia prima. Se utilizan celulasas para la degradación de la celulosa y amiloglucosidasas y amilasas de forma conjunta para la degradación del almidón. La hidrólisis enzimática presenta ventajas frente a la hidrólisis química y alcalina, como menores costes de equipamiento, mayores rendimientos y la ausencia de agentes químicos. Si bien, el precio de las enzimas es elevado y los resultados tienen que valorarse para que a nivel industrial su uso sea rentable. (Díaz, 2015)

Clasificación General de Enzimas Celulasas

Endoglucanasas

Las "endo-1,4- β -glucanasas" o 1,4- β -D-glucano 4-glucanohidrolasas (EC 3.2.1.4), que actúan aleatoriamente sobre sustratos de 1,4- β -glucano solubles e insolubles, son comúnmente Medido detectando la disminución de la viscosidad o grupos reductores liberados de carboximetilcelulosa (CMC) (204). (Wyman et al., 2005)

Exoglucanasas

Las "exo-1,4- β -D-glucanasas" incluyen las 1,4- β -D-glucano glucohidrolasas (EC 3.2.1.74), que liberan D-glucosa a partir de 1,4- β -D-glucanos E hidroliza lentamente la D-celobiosa, y la 1,4- β -D-glucano celobiohidrolasa (EC 3.2.1.91), que libera la D-celobiosa de los 1,4- β -glucanos. La diferenciación de estas clases de enzimas requiere técnicas analíticas para distinguir glucosa y celobiosa y usualmente se lleva a cabo por HPLC o GC. Estas enzimas se pueden distinguir además por su capacidad para liberar azúcares libres del extremo reductor o no reductor de la cadena de celulosa (205). La determinación de qué preferencia tiene una enzima dada normalmente se lleva a cabo mediante estudios de sinergia con enzimas de orientación conocida (206 - 208). (Wyman et al., 2005)

Beta- β -Glucosidasa

Las " β -D-glucosidasas" o β -D-glucósido glucohidrolasas (EC 3.2.1.21) actúan para liberar unidades de D-glucosa a partir de celobiosa y celodextrinas solubles, así como una serie de glucósidos. La medición de esta actividad se lleva a cabo, bien sea específicamente en celobiosa o cello-oligómeros con análisis de producto por HPLC o GC, o mediante análisis espectrofotométrico o fluorométrico directo de diversos análogos cromogénicos y fluorogénicos de celobiosa y cello-oligómeros. (Wyman et al., 2005)

Cellulase Structure and Function

Sinergismo

Gilligan y Reese (209) mostraron por primera vez que la cantidad de azúcar reductor liberado de celulosa por las fracciones combinadas de filtrado de hongos fue mayor que la suma de las cantidades liberadas por las fracciones individuales. Desde ese informe inicial, muchos investigadores han utilizado una variedad de preparaciones fúngicas para demostrar una interacción sinérgica entre los componentes homólogos de celulasa exo y endo-actúa (165, 169, 209-211). También se ha demostrado muchas veces el efecto cruzado entre las enzimas endo- y exo-actuantes de los filtrados de diferentes hongos aeróbicos (211-214). (Wyman et al., 2005)

El sinergismo exo-exo se informó por primera vez en 1980 por Fägerstam y Pettersson (215). Como se muestra en este dibujo, la sinergia exo-endo se explica mejor en términos de proporcionar nuevos sitios de ataque para las exoglucanasas. Estas enzimas encuentran normalmente los "extremos" de la celodextrina en los extremos reductores y no reductores de las microfibrillas de celulosa. La escisión interna aleatoria de las cadenas celulósicas superficiales por endoglucanasas proporciona numerosos sitios adicionales para el ataque por celobiohidrolasas. Por lo tanto, cada evento hidrolítico por una endoglucanasa produce tanto un nuevo reductor como un nuevo sitio no reductor. Por lo tanto, la consideración lógica de la eficacia del catalizador dicta la presencia de exoglucanasas específicas para reducir terminales y terminales no reductores. De hecho, el reciente trabajo de cristalización de rayos X descrito por Teeri y sus colaboradores (216) confirma que el extremo reductor de una celodextrina puede mostrarse en orientación proximal al túnel del sitio activo; Es decir, el extremo reductor en primer lugar, de *T. reesei* CBH I. Claeysens y colaboradores confirmaron a partir de datos cinéticos que *T. reesei* CBH II prefería el extremo no reductor de la cadena de celulosa (217). (Wyman et al., 2005)

Baker y colaboradores (212) informaron recientemente de un estudio estandarizado comparativo que midió la liberación de glucosa y los efectos sinérgicos en la solubilización de celulosa microcristalina mediante mezclas binarias de 11 celulasas fúngicas y bacterianas (ocho endoglucanasas y tres exoglucanasas). La evaluación de 16 pares de endo / exo reveló que los pares de híbridos bacterianos / hongos son muy eficaces en la solubilización de celulosa microcristalina. De los nueve pares de híbridos bacterianos / hongos estudiados, seis fueron clasificados entre las nueve combinaciones más sinérgicas, y seis pares de bacterias / hongos también estuvieron entre los nueve pares superiores en términos de liberación de azúcar soluble. Un par híbrido (*Acidothermus cellulolyticus* E1 y *T. reesei* cel7A) se clasificó primero en la sinergia y la liberación de azúcar. En experimentos de sinergismo exo / exo, el rendimiento de *Thermomonaspora fusca* E3 confirmó su modo de acción como "similar a CBH II" (es decir, E3 es sinérgico con *T. reesei* CBH I, pero no con *T. reesei* CBH II). (Wyman et al., 2005)

Diversidad de glicosil hidrolasa

Las glicosil-hidrolasas se han agrupado recientemente utilizando algoritmos de alineación de secuencias de proteínas. Análisis de Cluster Hidrofóbico (HCA) por Henrissat y colaboradores (218). HCA se basa en las reglas básicas que subyacen en el plegamiento de proteínas globulares y utiliza un gráfico bidimensional para mostrar la secuencia de aminoácidos de una proteína representada como un "corte longitudinal desenrollado" de un cilindro (218). La "red helicoidal" producida por esta presentación gráfica permite examinar el entorno de secuencias completo de cada aminoácido. (Wyman et al., 2005)

Gilkes y sus colaboradores (219) propusieron originalmente 9 familias de glicosil hidrolasa, basadas en las secuencias de glicosil hidrolasa disponibles en ese momento y, en los cinco años siguientes, estos investigadores se han añadido sustancialmente a la lista de clasificación

original (220, 221). Hoy en día, Bairoch (222) ha identificado 56 familias de glicosil hidrolasa. Este sistema de clasificación proporciona una potente herramienta para estudios de ingeniería enzimática de glicosil hidrolasa, debido a que muchas enzimas críticas para procesos industriales aún no han sido cristalizadas o sometidas a análisis de estructura. Sin embargo, para aquellos que trabajan para mejorar la función de la celulasa por diseño, el hecho de que las celulasas y beta-glucosidasas se distribuyen a lo largo de las familias de glicosil hidrolasa 1, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 44, 45, 48, 61, Y 74 es un desafío. (Wyman et al., 2005)

Dado que la estructura terciaria y los residuos clave en los sitios activos son generalmente mejor conservados que la secuencia de aminoácidos, no es sorprendente que los estudios estructurales, combinados con las comparaciones de secuencias dirigidas a los residuos del sitio activo, hayan permitido que muchas de las familias se agrupen en clanes que tienen una Pliegue y un aparato catalítico común (223). Cinco de estos clanes recientemente propuestos para las glicosil hidrolasas son GH-A (incluidas las familias 1, 2, 5, 10, 17, 26, 30, 35, 39, 42, 51, 53); GH - B (familias 7 y 16); GH - C (familias 11 y 12); GH - D (familias 27 y 36); GH - E (familias 33 y 34); GE-F (familias 43 y 62); GE - G (familias 37 y 63); Y GE - H (familias 13 y 70) (222). Entre estos, los clanes GH-A y GH-B incluyen celulasas. Estas familias de celulasas incluyen miembros de tipos de pliegues muy diferentes, es decir, el barril TIM, la variante de barril $\beta\alpha\beta$ (una estructura similar a barril de TIM que es imperfectamente superponible sobre la plantilla de barril de TIM), sándwich β y hélice α Matriz circular. Esta diversidad en la estructura del doblez de celulasa debe tenerse en cuenta al considerar la transferencia y aplicación de estrategias de diseño entre diferentes celulasas. (Wyman et al., 2005)

Esto se ha explicado por la probabilidad de que los sitios de unión para las proteínas en la superficie de celulosa se superpongan entre sí; Sin embargo, la estructura de dos dominios de las enzimas, donde ambos dominios se unen, también puede jugar un papel (225). La lignocelulosa, que contiene lignina y otros polisacáridos además de la celulosa, presenta un

sustrato aún más complejo para la acción enzimática. Se ha demostrado claramente una relación entre el contenido de lignina y la digestión celulosa de sustratos lignocelulósicos (226). Sild y colaboradores recientemente informaron un estudio cinético y teórico de la acción celobiohidrolasa sobre la celulosa y propusieron que además de ser un proceso de pelado superficial, estas enzimas eventualmente podrían producir una superficie de sustrato tan compleja que, sin ayuda de otras celulasas, (227). (Wyman et al., 2005)

Celulasas Procesivas

Se cree que las celulasas de las familias de glicosil hidrolasa 6, 7, 9 (y posiblemente otras) actúan de manera procesada sobre celulosa. Es decir, estas enzimas no se desacoplan con el sustrato de celodextrina único hasta que esta cadena esté completamente hidrolizada, o hasta que la enzima se desnaturaliza o se compromete de otro modo. De hecho, pueden desplazarse sobre la superficie de la celulosa como consecuencia del ciclo hidrolítico. El T. reesei Cel7A fue probablemente la primera enzima de este grupo que se estudió en profundidad. Al igual que la mayoría de las celobiohidrolasas de la familia 7, el Cel7A de T. reesei contiene un gran dominio catalítico conectado a un módulo de unión de celulosa más pequeño por un péptido enlazador de aminoácidos que consiste en aproximadamente 30 aminoácidos. (Wyman et al., 2005)

Utilizando dispersión de rayos X de ángulo pequeño, Reciveau y colaboradores (228) informaron recientemente la conformación de la solución de la proteína Ce145 de dominio completo de H. insolens, así como el efecto de la longitud y flexibilidad del enlazador en la disposición espacial de los módulos constitutivos. Las dimensiones medidas de la enzima muestran que el enlazador presenta una conformación extendida que conduce a una extensión máxima entre los dos centros de masa de cada

módulo que corresponde a aproximadamente cuatro unidades de celobiosa en una cadena de celulosa. Estos resultados fueron consistentes con un modelo propuesto por Himmel y colaboradores (229) donde las celulasas pueden moverse sobre la superficie de celulosa con un desplazamiento lineal similar a una oruga. (Wyman et al., 2005)

Celulosa

Como homopolímero regular y lineal, se podría razonablemente pensar que la celulosa es estructuralmente sin complicaciones. Sin embargo, esta percepción no sería del todo correcta, ya que las cadenas de celulosa se organizan en ensamblajes progresivamente más complejos a escalas de tamaño cada vez mayores. Como resultado de esta emergente complejidad estructural y heterogeneidad, la estructura de la celulosa ha sido notablemente difícil de desentrañar para una sustancia nominalmente tan simple, y es sólo relativamente reciente que el cuadro de consenso de su organización ha comenzado a surgir. Varias revisiones recientes han examinado estructuras de celulosa, pero esta cuestión sigue siendo un tema activo de estudio (1-3). (Wyman et al., 2005)

La estructura química de la celulosa, que es un polímero lineal de unidades de monómeros de Dglucopiranosas unidas a β - (1 \rightarrow 4), es de hecho muy simple. Típicamente, las cadenas de celulosa en las paredes celulares de las plantas primarias tienen DP (grado de polimerización) en el intervalo de 5.000-7.500 unidades de monómero de glucosa, siendo el DP de celulosa de madera alrededor de 10.000 y alrededor de 15.000 para celulosa de algodón. La unidad básica de repetición de celulosa es la celobiosa (Figura 1), el disacárido β - (1 \rightarrow 4) de la D-glucopiranosas. A temperatura ambiente, los anillos de glucosa relativamente rígidos se encuentran todos en su conformación de silla de pucker de menor energía, 4C_1 (ver Figura 1), y no hacen fácilmente transiciones al otro conformador de silla o a las diversas formas de torcedura posibles. Con los anillos en esta conformación, todos los sustituyentes hidroxilo e hidroximetilo

de enlace de hidrógeno de los anillos de piranosa son ecuatoriales, dirigidos alrededor de la periferia del anillo, mientras que todos los protones alifáticos hidrófobos están en posiciones axiales, apuntando hacia arriba o hacia abajo en relación Al plano medio de los anillos. Esta característica topológica de la celobiosa se puede ver fácilmente en la Figura 1. (Wyman et al., 2005)

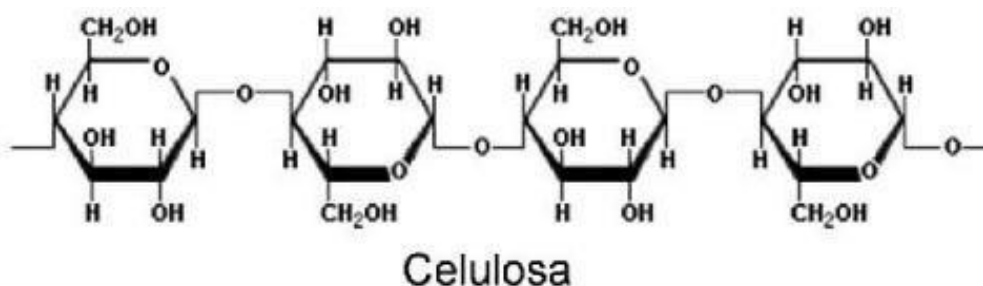


Figura 1. Estructura química de la celulosa

Fuente: Nieto, 2014

Hemicelulosa

Las hemicelulosas se clasifican generalmente de acuerdo con el residuo de azúcar principal en el esqueleto, p. Xilanos, mananos y glucanos, siendo los xilanos y mananos los más frecuentes. Dependiendo de la especie de planta, la etapa de desarrollo y el tipo de tejido, se pueden encontrar varias subclases de hemicelulosa, incluyendo glucuronoxilanos, arabinoxilanos, manans lineales, glucomananos, galactomananos, galactoglucomananos, β -glucanos y xiloglucanos. Estos diferentes subtipos pueden agruparse en dos categorías generales basadas en la hidratación de las fibras. Los polisacáridos de baja hidratación incluyen los arabinoxilanos, glucuronoxilanos, xiloglucanos y mannanos lineales. Con excepción de los mananos lineales, que sirven principalmente como un compuesto de almacenamiento de semillas, esta clase de hemicelulosa funciona principalmente para estabilizar la pared celular a través de interacciones de enlace de hidrógeno con celulosa y la interacción covalente con lignina. (Wyman et al., 2005)

De nuevo, con la excepción de los mananos lineales, estos compuestos son solubles en agua en su estado nativo, generalmente debido a su construcción ramificada. Los protocolos de extracción estándar que utilizan álcali los desesterifican de algunas de sus cadenas laterales, interrumpiendo la entropía del agua de solubilización lo suficiente como para hacer que las cadenas parcialmente desramificadas se agreguen a través de enlaces de hidrógeno entre cadenas y caigan fuera de la solución. Otras hemicelulosas, tales como galactoglucomananos, glucomananos, galactomananos y β -glucanos comprenden un subconjunto de hemicelulosas altamente hidratadas. Esta clase, compuesta principalmente por hidrocoloides, se utiliza principalmente como un sistema de almacenamiento de materias primas y energía extracelular y como mecanismo de retención de agua en las semillas. Debido a que tienen menos cadenas laterales unidas por éster, si es que las tienen, la extracción alcalina no las vuelve generalmente insolubles y tienden a ser fuertemente hidratadas. (Wyman et al., 2005)

Funcionalidad estructural de las hemicelulosas

La mayoría de los polisacáridos encontrados en las paredes celulares de las plantas pertenecen a las clases de celulosa, hemicelulosa o pectina. La celulosa, el polisacárido estructural dominante de las paredes celulares de las plantas, es un polímero β - (1 \rightarrow 4) -D-glucopiranosido lineal. Aunque la celulosa funciona como el componente rígido que soporta la carga de la pared celular, la rigidez de la microfibrila de celulosa se refuerza dentro de una matriz de hemicelulosas. Se considera que las hemicelulosas están implicadas en la regulación de la elongación y modificación de las paredes. A diferencia de la lignina, se cree que las hemicelulosas tienen un fuerte efecto sobre las interacciones entre las microfibrillas de celulosa y ejercen una fuerte influencia sobre la resistencia y la rigidez de los glicanos de reticulación. La matriz de reticulación. Esta matriz se compleja adicionalmente y se refuerza con las pectinas. Las pectinas son polisacáridos celulares ácidos no celulósicos. (Wyman et al., 2005)

Las pectinas varían ampliamente y se dividen en tres clases, homogalacturonan, rhamnogalacturonan I y rhamnogalacturonan II. Las pectinas funcionan como una matriz similar a un sol, proporcionando retención de agua y de iones, soporte y facilitación de enzimas modificadoras de la pared celular, porosidad de la pared celular, adhesión de célula a célula, expansión celular, señalización celular, regulación del desarrollo y defensa. Las hemicelulosas se definen libremente como heteropolisacáridos no celulósicos de pared celular no pectínicos que consisten en varios polímeros, que varían en composición de monosacáridos y enlaces glicosídicos, patrón de sustitución y grado de polimerización. Su composición química y características estructurales varían ampliamente entre especies, localización subcelular y etapas de desarrollo. (Wyman et al., 2005)

A menudo se han descrito como químicamente asociados o reticulados a otros polisacáridos, proteínas o lignina. Los estudios de celulosa bacteriana producida por *Acetobacter xylinum* en presencia de diversas fibras de hemicelulosa han demostrado que estas hemicelulosas se convierten rápidamente en complejadas en el interior ya lo largo de la superficie de la microfibrila de celulosa (25-27). Los resultados de esta interacción dependen del tipo de hemicelulosa implicada. Estos resultados han sido apoyados por el trabajo FT-IR sobre fibra de madera intacta (28). Probablemente no existen enlaces químicos entre celulosa y hemicelulosa, pero la adhesión mutua es proporcionada por enlaces de hidrógeno y fuerzas de van der Waals. Se ha informado de la existencia de vínculos entre hemicelulosa y lignina en madera y otros materiales vegetales. (Wyman et al., 2005)

Los grupos laterales de xilano pueden tener un papel importante en la unión de lignina a hemicelulosa. Se han descrito ambos enlaces éster entre residuos de lignina y ácido metilglucurónico y enlaces éter de grupos lignina a arabinosilo (29). Los componentes fenólicos de bajo peso molecular, tales como el ácido ferúlico y el ácido p-cumárico, están unidos covalentemente a

los polisacáridos de la pared celular vegetal de las plantas anuales (30). Los grupos laterales, especialmente los sustituyentes acetilo, afectan las propiedades fisicoquímicas y la biodegradabilidad de las hemicelulosas solubles o ligadas a la matriz. Se ha demostrado que la acetilación aumenta la solubilidad de los polisacáridos en el agua, probablemente obstaculizando la agregación de moléculas, y haciendo así el sustrato más accesible a las enzimas (31, 32). (Wyman et al., 2005)

Por otra parte, la presencia de residuos no carbohidratos unidos a éster impide la capacidad de glicanasas individuales para liberar productos de degradación uniformes y por lo tanto disminuye la degradabilidad enzimática de polisacáridos. Se ha demostrado que la desacetilación química de la madera de álamo y la paja de trigo aumentan su degradación enzimática. Xylan se convirtió 5-7 veces más digerible que a su vez mejoró significativamente la accesibilidad de la celulosa a la hidrólisis enzimática (33). El efecto de los grupos laterales de acetilo sobre la hidrólisis enzimática de hemicelulosas fue demostrado por primera vez por Biely y colaboradores (34). (Wyman et al., 2005)

Bajo la denominación de hemicelulosas se incluye un grupo de polisacáridos solubles en agua que forman parte de las paredes celulares de las plantas. La mayoría de las hemicelulosas son heteropolisacáridos que contienen 2-4 tipos de azúcares. Los encontrados más frecuentemente son la D-xilosa y la L-arabinosa seguida de la D-galactosa, D-glucosa y ácido D-glucurónico. (Ordoñez, 1998)

Lignina

La lignina es uno de los polímeros orgánicos más abundantes en las plantas, justo detrás de la celulosa. Es la composición química exclusiva de gimnospermas y angiospermas. El contenido de lignina en madera y Gramineae es de 20-40% y 15-20%, respectivamente. Lignina es el nombre de un grupo de sustancias; Su inhomogeneidad se manifiesta en diferentes

especies de plantas, longitud de la estación de crecimiento, y diferentes partes de las plantas. Incluso en las diferentes morfologías de las células de un mismo xilema o diferentes capas de la pared celular, las estructuras de la lignina no son los mismos [29]. La lignina es un compuesto complejo de unidades complicadas de fenilpropano no lineal y aleatoriamente unidas; Tres monómeros principales son el alcohol cumárico, el alcohol coniferílico y el alcohol sinapílico. Debido a los diferentes monómeros, la lignina se puede dividir en tres tipos (figura 2.4): lignina de siringilo polimerizada por siringil propano, guaacil lignina polimerizada por guaacilapropano e hidroxifenil lignina polimerizada por hidroxifenilpropano. Por lo general, la gimnosperma contiene principalmente guaiacil (G) lignina; La dicotiledóna contiene principalmente guaacil-siringil (GS) lignina; El monocotyledon contiene principalmente guaiacyl-syringyl-hydroxy-phenyl (GSH) lignina [30]. En un momento, la lignina en la planta se dividió en madera blanda, madera dura y hierba ligninas. Basándose en la estructura de la lignina, Gibbs dividió la lignina en Gignina y GS lignina. La gignina G se forma principalmente mediante oligomerización deshidratada de alcohol coniferílico, y su estructura es homogénea. Este tipo de lignina tiene una reacción de Maule negativa debido a que se generaron menos del 1,5% de siringaldehído y aproximadamente 5% de p-hidroxibenzaldehído cuando se oxida con nitrobenzeno. La mayoría de la lignina en la madera blanda pertenece a Gignin, que es copolimerizada por guaiacyl y tiene una reacción de Maule positiva. La lignina GSH es el resultado de la oligomerización deshidratada de alcohol coniférico y alcohol sinapílico; El contenido de lignina es del 17- 23%. La relación de siringil propano a guaiacil propano es 0,5 0,1; También contiene 7-12% de grupos éster. P-Coumaryl alcohol en el que está vinculado a la lignina en forma de éster [10]. (Chen, H., 2014)

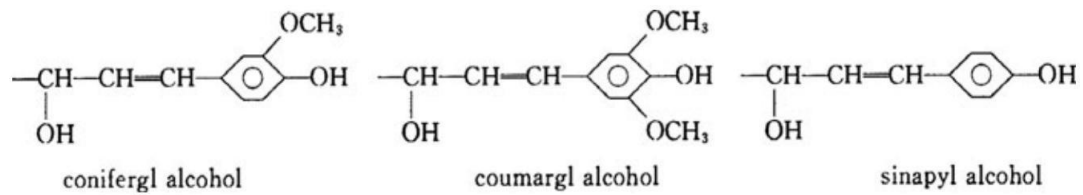


Figura 2. Unidad estructural básica de lignina

Fuente: Chen H. (2014)

Azúcares reductores

Los azúcares reductores son aquellos azúcares que poseen su grupo carbonilo (grupo funcional), intacto, un grupo hemiacetal (una interacción entre C-2 y C-5,) que le confiere la característica de poder reaccionar con otros compuestos. En solución acuosa, dicho grupo aldehído libre tiene la capacidad de reducción de agentes oxidantes. Las formas cíclicas hemiacetales de los azúcares tiene la potencialidad de generar trazas de la forma abierta (grupos aldehídos libres).

Azúcares reductores son aquellos que como la glucosa, fructosa, lactosa y maltosa presentan un carbono libre en su estructura y pueden reducir, en determinadas condiciones, a las sales cúpricas. (Gerena, 2013)

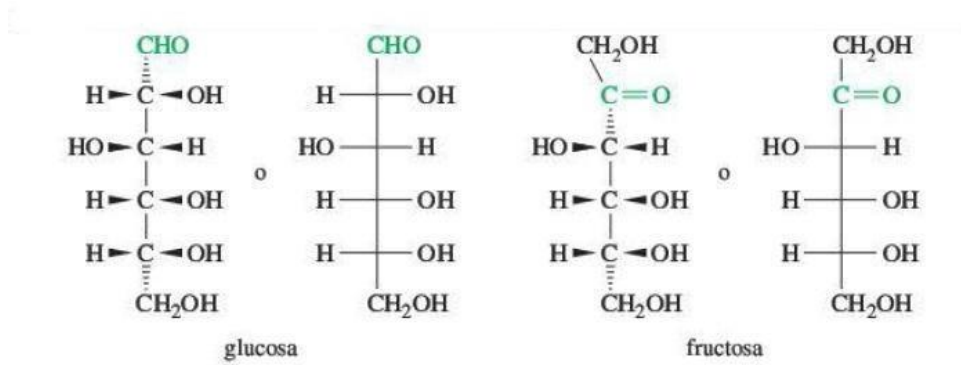


Figura 3. Proyección de Fischer de los azúcares.

Fuente: Wade, 2011

La glucosa y la fructosa son monosacáridos. La glucosa es una aldosa (un azúcar con un grupo aldehído) y la fructosa es una cetosa (un azúcar con un grupo cetona).

Residuos orgánicos de papa

La papa o patata es un tubérculo comestible que se extrae de la planta herbácea americana *Solanum tuberosum*, de origen andino. Es una planta perteneciente a la familia de las solanáceas originaria de Suramérica y cultivada por todo el mundo por sus tubérculos comestibles. Generalmente los residuos que se generan de la papa es la casca.

24. Definición de Términos Básicos

Ácido 3,5 dinitro salicílico (DNS)

El ácido 3-amino-5-nitrosalicílico (DNS o DNSA, nombre IUPAC 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico) es un compuesto aromático que reacciona con azúcares reductores y otros reductores Absorbe luz a 540 nm. Se introdujo por primera vez como un método para detectar sustancias reductoras en la orina y desde entonces se ha utilizado ampliamente, por ejemplo, para cuantificar los niveles de carbohidratos en la sangre. Se utiliza principalmente en el ensayo de alfa-amilasa. Sin embargo, los métodos enzimáticos se suelen preferir debido a la falta de especificidad.

En disolución alcalina el azúcar se hidroliza produciendo un compuesto que se reduce a un grupo nitro del DNS, para dar el producto monoamino correspondiente. Esta reacción da un producto colorido en solución alcalina.

Según Bello, en su trabajo de investigación, cita a Sumner y colaboradores quienes desarrollaron otro método utilizando el ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) para calcular la concentración de azúcares reductores en distintos materiales. El procedimiento se basa en una reacción redox que ocurre entre el DNS y los azúcares reductores presentes en la muestra. Este método ha sufrido varias modificaciones a través de los años para

adecuarse al análisis de diferentes materiales y su principal ventaja radica en su alta sensibilidad y productividad debido a que es un método espectrofotométrico. (Bello, 2006)

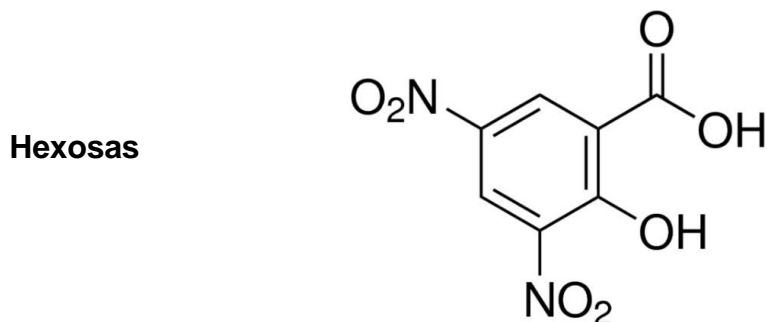


Figura 4. Ácido 3,5 dinitro salicílico (DNS)

Fuente: Bello (2006)

En la bioquímica, una hexosa es un monosacárido con seis átomos de carbono, que tiene la fórmula química $C_6H_{12}O_6$. Las hexosas se clasifican por grupos funcionales, teniendo las aldohexosas un aldehído en la posición 1, y las cetohechosas que tienen una cetona en la posición 2.

Los azúcares con grupos aldehído son las aldosas y con grupos cetona son las cetosas. El número de átomos de carbono en el azúcar por lo general va de tres a siete, designados por los términos triosa (tres carbonos), tetrosa (cuatro carbonos), pentosa (cinco carbonos), hexosa (seis carbonos), y heptosa (siete carbonos). Los términos que describen los azúcares con frecuencia reflejan estos primeros dos criterios.

Por ejemplo, la glucosa tiene un aldehído y contiene seis átomos de carbono, por lo que es una aldohexosa. La fructosa también contiene seis átomos de carbono, pero es una cetona, por lo que se le llama cetohechosas.

La mayoría de los azúcares comunes que se encuentran en la naturaleza son aldohexosas y aldopentosas. (Wade, 2011)

Hidroximetilfurfural

El hidroximetilfurfural (HMF) es uno de los compuestos formado por la degradación de los productos azucarados, en particular por deshidratación de la fructosa. (Subovsky, S/F)

Método de miller

Método para la determinación de azúcares reductores. El procedimiento se realiza: En disolución alcalina el azúcar se hidroliza produciendo un compuesto que se reduce a un grupo nitro del DNS, para dar el producto monoamino correspondiente. Esta reacción da un producto colorido en solución alcalina. (S/A, 2007)

Pentosas

Casi todas las pentosas se encuentran como polímeros o como parte integrante de diversos glucósidos, por lo que es raro hallarlas en estado libre.

Por ejemplo, la arabinosa es constituyente de varios polisacáridos (llamados arabanos), de gomas y de hemicelulosas, sustancias que se encuentran en el reino vegetal.

La xilosa, también llamada azúcar de la madera, se obtiene por hidrólisis de los polisacáridos estructurales de la madera (xilanas), de la mazorca del maíz y de la paja, y se utiliza para la producción industrial del furfural. (Badui, 2006)

Sacarificación

También llamada Hidrólisis enzimática, en esta etapa se produce la liberación de azúcares simples que provienen del material lignocelulósico degradado por enzimas específicas para este propósito.

La hidrólisis enzimática sufre de inhibición por sustrato y por producto final, lo que puede afectar importantemente la liberación de glucosa. (Juri, 2011).

Azúcares reductores

Los azúcares que dan resultados positivos con las soluciones de Tollens, Benedict ó Fehling se conocen como azúcares reductores, y todos los carbohidratos que contienen un grupo hemiacetal o hemicetal dan pruebas positivas. Los carbohidratos que solo contienen grupos acetal o cetal no dan pruebas positivas con estas soluciones y se llaman azúcares no reductores.

Los azúcares reductores provocan la alteración de las proteínas mediante la reacción de glucosilación no enzimática también denominada reacción de Maillard o glicación. Esta reacción se produce en varias etapas: las iniciales son reversibles y se completan en tiempos relativamente cortos, mientras que las posteriores transcurren más lentamente y son irreversibles. Se postula que tanto las etapas iniciales como las finales de la glucosilación están implicadas en los procesos de envejecimiento celular y en el desarrollo de las complicaciones crónicas de la diabetes.

cascara de papa

La cáscara de la papa considerada "sin valor" en la industria de la papa tienen un abundante contenido de almidón un polvo fino y sin sabor, de "excelente textura ", da mayor viscosidad que los almidones de trigo o de maíz, y permite elaborar productos más gustosos. Se utiliza para hacer espesas las salsas y los cocidos, y como aglutinante en las harinas para pastel, las masas, las galletas y el helado. La fibra alimentaría representa 1- 2% del total de la papa y se encuentra preferentemente en la piel. Tienen muchos carbohidratos, por lo cual son una buena fuente de energía. Tienen el contenido más elevado de proteínas (en torno al 2,1% del peso del producto fresco. Además, tienen abundante vitamina C.

Hidrolisis acida y enzimática

La hidrólisis ácida es un proceso en el que un ácido prótico se utiliza para catalizar la escisión de un enlace químico a través de una reacción de

sustitución nucleófila, con la adición de agua. Un ejemplo de este tipo de reacción es la conversión de celulosa o de almidón en glucosa. Para el caso de los ésteres y amidas, se puede definir reacción de sustitución nucleofílica de acilo.

Se entiende por hidrólisis enzimática la hidrólisis que se produce mediante un grupo de enzimas llamadas hidrolasas. Estas enzimas ejercen un efecto catalítico hidrolizante, es decir, producen la ruptura de enlaces por agua según: $H-OH + R-R' \rightarrow R-H + R'-OH$.

Se nombran mediante el nombre del sustrato seguido de la palabra hidrolasa, y cuando la enzima es específica para separar un grupo en particular, éste puede utilizarse como prefijo. En algunos casos este grupo puede ser transferido por la enzima a otras moléculas y se considera la hidrólisis misma como una transferencia del grupo al agua.

CAPITULO III: MARCO METODOLÓGICO

31. Tipo y Diseño de la Investigación

Tipo de Investigación

Según su finalidad será Cuantitativa; la investigación se desarrollará utilizando el tratamiento por hidrolisis en residuos de cáscara de papa para cuantificar la cantidad de azúcares totales, reductores, celulosa y lignina antes y después del proceso. Los métodos a utilizar corresponden a métodos estandarizados según la Association of Analytical Communities (AOAC).

Según su contexto será de laboratorio; la investigación se llevará a cabo en a nivel de laboratorio, donde se permitirá acondicionar la investigación a la manipulación de las variables independientes con rigor y control de la situación experimental para lograr cuantificar con exactitud y precisión las variables dependientes.

Diseño de Investigación

Será Experimental; se manipularan las variables independientes como: Concentración de hidróxido de sodio, enzima y temperatura. El efecto que generaran en la variable dependiente como: Concentración de azúcares totales.

32 Población y Muestra

3.2.1. Población

Cáscaras de papa (*Solanum tuberosum*), recolectada de los descartes del mercado de Moshoqueque en el distrito de José Leonardo Ortiz.

3.2.2. Muestra

Está constituida por 2 kg cáscara de papa (*Solanum tuberosum*) deshidratada y molida.

33. Hipótesis

Ho: Al hidrolizar con una concentración de ácido clorhídrico al 2 % y un tiempo de 2 horas se obtendrá una menor concentración de azúcares reductores de la cáscara de papa, que al usar una concentración enzimática al 3 mg/mL en 2 horas.

Hi: Al hidrolizar con una concentración de ácido clorhídrico al 2 % y un tiempo de 2 horas se obtendrá una mayor concentración de azúcares reductores de la cáscara de papa, que al usar una concentración enzimática al 3 mg/mL en 2 horas.

34. Variables

Variables independientes:

- Concentración de ácido clorhídrico (HCl%)
- Concentración de enzimas celulasas (mg/mL)
- Temperatura (°C)

Variables dependientes:

- Concentración de azúcares reductores.

35. Operacionalización

Tabla 1

Operacionalización de las variables para la hidrólisis de la cáscara de papa.

Variable Independiente	Dimensiones	Indicador	Instrumento de recolección de datos
Hidrólisis química	Concentración de HCL	% (2 – 6)	Análisis Volumétrico
	Tiempo	hrs (2-4-6)	Cronómetro
Hidrólisis enzimática	Concentración de enzimas	mg/mL (1 - 3)	Análisis Volumétrico
	Tiempo	hrs (2-4-6)	Cronómetro
Variable Dependiente	Dimensiones	Indicador	Instrumento de recolección de datos
Obtención de azúcares reductores	Concentración de azúcares reductores	mg/L	Espectrofotómetro

Fuente: Elaboración Propia.

36. Abordaje Metodológico, Técnicas e Instrumentación de Recolección de Datos

3.6.1. Abordaje Metodológico

En el presente trabajo experimental se desarrollará en el laboratorio de Química de la USS, siguiendo los procedimientos establecidos por el método científico.

Por lo tanto, se describirán los pasos a seguir para la obtención de azúcares reductores a partir de la hidrólisis de la cascara de papa como indica la figura 2.1.

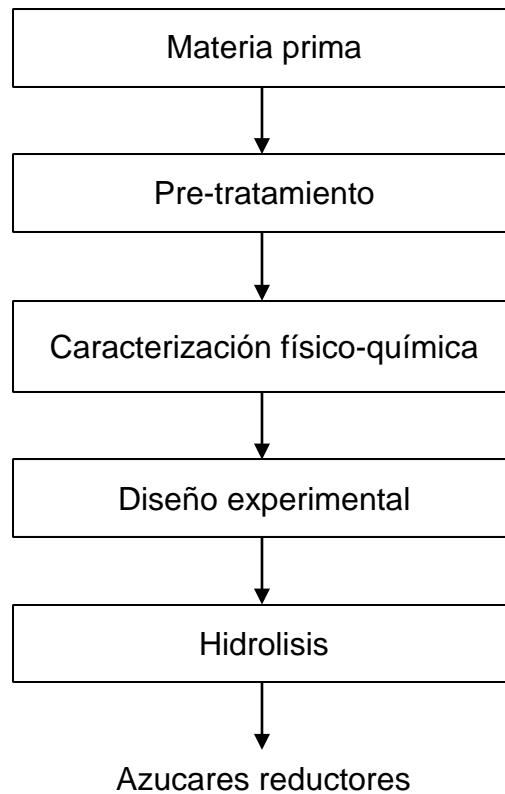


Figura 5. Procedimiento experimental para la obtención de azúcares reductores a partir de la hidrólisis de la cáscara de papa.

Fuente: Elaboración Propia

Recepción de materia prima.

Se recolectará 4 kg de cáscara de papa recolectada de los descartes del mercado de Moshoqueque en el distrito de José Leonardo Ortiz. Luego de la recolección será trasladada al laboratorio de Química de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial y Comercio Exterior de la USS.

Pre-tratamiento

El proceso de pre-tratamiento de la cáscara de papa se someterá a las siguientes etapas:

Selección: Se realizará de manera visual, las papas que tengan partes en etapa de descomposición serán retiradas haciendo cortes con cuchillo.

Lavado: Se procederá hacer la limpieza de material que no interfiera en el trabajo experimental, separando la tierra que tenga impregnada en la parte exterior de la cáscara.

Cortado: Se extraerá la cáscara utilizando un cuchillo, no debe contener almidón, para ello se retirará por raspado la parte comestible, utilizaremos lugol como indicador de la presencia de almidón.

Secado: La cáscara será sometido a la deshidratación en un horno de convección forzada en el laboratorio de Química, a una temperatura de 105 °C por 8 horas.

Molienda: Será molido para reducir el tamaño de la partícula con la finalidad de tener mayor área de contacto durante el tratamiento de hidrólisis. Será tamizado en un tamiz # 60.

Pesado: la partícula finamente dividida será pesada y almacenada en frascos, lista para los tratamientos de hidrólisis. Las muestras estarán almacenadas a temperatura ambiente y cerrados herméticamente.

Caracterización físico-química

La cáscara de papa se le realizará un análisis proximal para lo cual se utilizarán los métodos estandarizados de la AOAC.

Determinación de humedad. Método AOAC 1990/964.22

Materiales:

Crisoles o cápsulas de porcelana: se deben desecar a 100 °C x 2 h, tomar con pinzas de crisol y registrar el peso vacío.

Procedimiento:

Para la determinación de la humedad se pesan aproximadamente 50 g de muestra en una balanza de precisión dentro de una cápsula previamente tarada, desecándose a 110°C en estufa, hasta alcanzar un peso constante. La pérdida de peso se considerada como el contenido de humedad y el residuo desecado del alimento se considera la materia seca. Los resultados obtenidos se expresan porcentualmente.

Cálculos:

$$\%H = (\text{gramos de agua})/b * 100$$

Donde:

b la masa (g) de la muestra tomada para el análisis.

Gramos de agua = m(muestra)inicial - m (muestra)final

Porcentaje de Materia Seca:

$$\%MS = m (\text{muestra})\text{seco} * 100/b$$

Determinación de cenizas. AOAC 923.03

Materiales, Insumos y Equipos

Balanza analítica, sensibilidad 0,1 mg.

Crisoles o cápsulas de porcelana, sílice o platino.

Desecador con deshidratante adecuado (silicagel con indicador, óxido de calcio u otro).

Placa calefactora u otro

Mufla regulada a 550 ± 2 °C.

Material usual de laboratorio.

Procedimiento

Efectuar el análisis en duplicado.

Para granos, fideos moler la muestra y pasar por tamiz de 20 mesh, muestras de pan trozar en pequeños fragmentos manualmente.

Si la muestra contiene abundante agua pesar una cantidad que contenga de 3 a 5 g de sólidos, mantenerla sobre un baño de vapor hasta sequedad aparente.

Pesar 0,1 mg en una cápsula previamente calcinada y tarada (m_0) entre 2 a 5 g de muestra homogenizada (m_1). Si la muestra contiene abundante agua pesar una cantidad que contenga de 3 a 5 g de sólidos, mantenerla sobre un baño de vapor hasta sequedad aparente.

Proceder a precalcinarse previamente la muestra en placa calefactora, evitando que se inflame, luego colocar en la mufla e incinerar a 550 °C hasta cenizas blancas o grisáceas.

Preenfriar en la mufla apagada y luego traspasar a desecador y pesar a temperatura ambiente. Las cenizas que contienen manganeso o hierro pueden presentar cierta coloración.

Enfriar en desecador y pesar (m_2).

Expresión de resultados:

m_2 : masa de la cápsula con las cenizas, en gramos.

m_1 : masa de la cápsula con la muestra, en gramos.

m_0 : masa de la cápsula vacía, en gramos.

Promediar los valores obtenidos y expresar el resultado con dos decimales.

Cuantificación de azúcares reductores

La variable dependiente concentración de azúcares reductores, serán determinados mediante la técnica utilizando el reactivo 3,5 - ácido dinitrosalicílico (DNS)

3.6.2. Técnicas de Recolección de Datos

Las siguientes técnicas de recolección de datos serán utilizadas para la obtención de datos y su análisis estadístico correspondiente:

Determinación de celulosa.

Mussatto et al. (2006).

Materiales:

Vasos de precipitado, Agitadores de vidrio, Probetas, Autoclave, Centrifuga, pHmetro, bomba al vacío, estufa, balanza.

Reactivos

- H₂SO₄ concentrado
- NaOH al 2 %

Procedimiento:

Este procedimiento tiene como objetivo la liberación de la celulosa del material vegetal.

Hidrólisis ácida:

100 mg de ácido/g de material seco; una relación sólido: líquido de 1:8 g:g,

Prepara una solución de H₂SO₄ así: para 5 gramos de muestra: 0.27 ml y llevarlos 40 ml de agua por muestra.

Tomar 5 grs de material vegetal deshidratado en polvo.

Agitar hasta total impregnación

Colocar en autoclave por 120°C durante 17 minutos.

Centrifugar para separar el material sólido

Reservar el material sólido.

Hidrólisis Básica:

Adicionar sobre la muestra de la hidrólisis ácida 100 ml de NaOH al 2 %

Agitar hasta total impregnación

Colocar en autoclave por 120 °C durante 90 minutos.

Elaborar filtros en lana de vidrio, desecarlos y pesarlos (se prefiere filtros tejido 100 % poliéster).

Filtrar en lana de vidrio en bomba al vacío

Tomar pH del sólido

Lavar con agua destilada hasta pH neutro.

Secar en estufa hasta 50 °C hasta alcanzar 50 % de humedad.

Determinar el contenido de celulosa por pérdida de peso.

Determinación de azúcares reductores por el método de DNS 3.5**- Ácido Dinitrosalisílico (Miller, 1959).****Reactivos**

- 100 ml de solución de hidróxido de calcio 5%.
- 1000 ml de agua destilada hirviendo

- 1.25 grs de DNS
- 37.5 grs de tartrato de sodio y potasio
- 2 gramos de NaOH y disolverlos en 125 ml de agua destilada
- 100 ml Patrón de glucosa 1.0 g/L
- Muestras problema
- Papel milimetrado

Preparación de reactivos:

Preparación reactivo DNS (hacerlo en la oscuridad): Preparar una solución de NaOH (2 gramos de NaOH y disolverlos en 125 ml de agua destilada) y adicionar 1.25 grs de DNS + 37.5 grs de tartrato de sodio y potasio, disolver delicadamente hasta completa disolución.

En un balón aforado de 250 ml, verter lentamente y con agua destilada aforar hasta la marca. Mezclar bien y envasar el reactivo en un frasco oscuro ámbar. Marcar con el nombre, fecha de elaboración. Dejar almacenado en la oscuridad.

Preparación patrón de glucosa: En un balón aforado, preparar 100 ml de un patrón de glucosa 1g/L. Pesar la cantidad requerida y almacenar en refrigeración, Marcar con el nombre, fecha de elaboración.

3.6.3. Instrumentos de Recolección de Datos

Espectrofotómetro UV – Vis

Baño María

Agitador magnético

Termómetro. Boeco. Rango -10 a 150 °C

Cronometro Digital Marca Taylor 5828

37. Procedimiento para la Recolección de Datos

El procedimiento a desarrollar en la presente investigación y la adecuada recolección de datos permitirá obtener información importante y relevante para cumplir con los objetivos específicos planteados.

La cáscara de papa deshidratada, molida y tamizada, será analizada con la finalidad de tener datos iniciales antes del inicio de la etapa experimental. La muestra estará envasada en un frasco herméticamente cerrado con la finalidad de conservar en condiciones adecuadas.

La cáscara de papa será solubilizada en agua, la cual será sometida a la hidrólisis química y enzimática según los niveles de tratamiento establecidos en matriz de operacionalización de las variables.

Previo a ello, se realizarán pruebas preliminares con la finalidad de tener habilidades en el procedimiento experimental a desarrollar, así como hacer ajustes en variables no intervinientes y de esta manera tener un adecuado manejo de las variables independientes.

38. Análisis Estadístico e interpretación de datos

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), con arreglo factorial 2 x 2 x 3; lo cual corresponde a la combinación de 2 factores con 3 repeticiones por cada tratamiento, para cada una de las hidrólisis.

Los factores para la hidrólisis química son: Concentración de HCL (2 a 6 %) y tiempo de (2 a 6 h)

Los factores para la hidrólisis enzimática son: Concentración de enzimas (2 y 6 mg/mL) y tiempo de (2 a 6 h)

Las dimensiones y niveles fueron determinados según los antecedentes de estudio de hidrólisis de temas relacionados a residuos

agroindustriales y algunas variables no intervinientes se determinarán durante las pruebas preliminares, antes de realizar las corridas experimentales.

Los resultados obtenidos serán analizados considerando la distribución normal mediante el análisis de varianza (ANOVA).

3.9. Principios Éticos

Nosotros como actores principales de la investigación sobre hidrólisis química y enzimática de la cáscara de papa somos concientes de la responsabilidad científica y las consecuencias de la realización y difusión de la misma a la sociedad.

Por lo tanto, como autores de la presente investigación aplicamos los criterios éticos de la siguiente manera:

Los resultados obtenidos no serán falsificado, menos inventados total o parcialmente.

No realizamos plagio, las investigaciones revisadas y utilizadas para la presente investigación son citadas dando crédito a la propiedad intelectual de los investigadores.

La presente investigación cumple con lo establecido por el Reglamento de Investigación de la USS.

3.10. Criterios de Rigor Científico

La presente investigación cumpliendo con los principios de rigurosidad científica estará asegurando que los datos obtenidos serán válidos, fiables y creíbles debido al uso de métodos y técnicas estandarizadas por la AOAC y otras validadas por antecedentes de estudios.

Debemos tener presente, que la fiabilidad y la validez son cualidades esenciales que deben tener las pruebas o los instrumentos de carácter científico para el recojo de datos, debido a que garantizan que los resultados que se presentan son merecedores de crédito y confianza.

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

41. Resultados de la caracterización de la cáscara de papa molida

Tabla 2

Análisis de resultados después de caracterizar la composición química de la cáscara de papa (Solanum Tuberosum)

Análisis	Resultados
Cenizas %	7.3%
Humedad %	4.33%
Acidez %	1.6%

Fuente: Elaboración Propia

42. Resultados en tablas y gráficos

Análisis Estadístico de la hidrólisis ácida y Tiempo para el rendimiento de azúcares

Los valores obtenidos de azúcares reductores para el análisis de varianza son los siguientes:

Tabla 3

Análisis de resultados después de aplicar hidrólisis ácida y tiempo para el rendimiento de azúcares reductores

Concentración	tiempo	Azúcares
% HCl	H	mg/L
2%	2 h	2,7070
2%	2 h	2,6903
2%	4 h	2,7404
2%	4 h	2,7154
2%	6 h	2,7738
2%	6 h	2,7487
4%	2 h	2,8155
4%	2 h	2,8072
4%	4 h	2,8322
4%	4 h	2,8239
4%	6 h	2,8656
4%	6 h	2,8406
6%	2 h	2,8489
6%	2 h	2,8155
6%	4 h	2,8656
6%	4 h	2,8406
6%	6 h	2,9491
6%	6 h	2,8573

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla se logran ver la concentración de ácido de 2%, 4%, 6%, los cuales reaccionan en diferentes tiempos de 2 hrs, 4 hrs y 6 hrs, obteniendo como resultados la concentración de azucares obtenidos después del proceso de hidrólisis ácida.

Tabla 4**Análisis de Varianza para Azúcares**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Ácido	0.0326196	1	0.0326196	247.68	0.0000
B:Tiempo	0.0078554	1	0.0078554	59.65	0.0002
AA	0.00167	1	0.00167	12.68	0.0119
AB	0.00027889	1	0.00027889	2.12	0.1959
BB	0.000418335	1	0.000418335	3.18	0.1250
Error total	0.000790188	6	0.000131698		
Total (corr.)	0.0432666	11			

Fuente: Elaboración Propia.

R-cuadrada = 98.1737 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 96.6517 por ciento

En esta tabla nos centraremos en el valor-P ya que este nos muestra el valor de significancia. Para que estas variables sean significantes tienen que tener un valor menor a 0.05, por lo que si nos fijamos en la tabla 2, nos damos cuenta que la variable A con respecto al ácido, la variable B con respecto al tiempo y las variables AA, tienen valores menores a 0.05, por lo que podemos decir que dichos valores son significativos.

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de Azucares en piezas separadas para cada uno de los efectos. entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 3 efectos tienen una valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

Tabla 5

Coef. de regresión para Azucares

Coeficiente	Estimado
Constante	2.59437
A:Ácido	0.0785667
B:Tiempo	-0.0153083
AA	-0.00625625
AB	0.0020875
BB	0.00313125

Fuente: Elaboración Propia.

Esta ventana despliega la ecuación de regresión que se ha ajustado a los datos. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Azucares} = 2.59437 + 0.0785667 \cdot \text{Ácido} - 0.0153083 \cdot \text{Tiempo} - 0.00625625 \cdot \text{Ácido}^2 + 0.0020875 \cdot \text{Ácido} \cdot \text{Tiempo} + 0.00313125 \cdot \text{Tiempo}^2$$

En donde los valores de las variables están especificados en sus unidades originales. Para hacer que STATGRAPHICS evalúe esta función, seleccione Predicciones de la lista de Opciones Tabulares. Para graficar la función, seleccione Gráficas de Respuesta de la lista de Opciones Gráficas.

Tabla 6

Optimización de Respuesta (Meta: maximizar Azúcares)

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Ácido	2.0	6.0	6.0
Tiempo	2.0	6.0	6.0

Nota: Valor óptimo = 2.93657

Fuente: Elaboración Propia.

Esta tabla muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza Azucares sobre la región indicada. Use el cuadro de diálogo de Opciones de Ventana para indicar la región sobre la cual se llevará a cabo la optimización. Puede establecer el valor de uno o más factores a una constante, estableciendo los límites alto y bajo en ese valor.

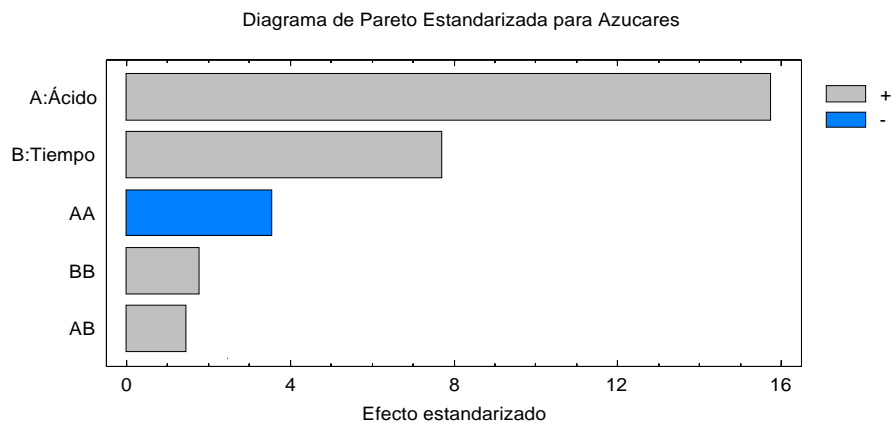


Figura 6. Diagrama de Pareto para la hidrolisis acida y el tiempo reductores en la hidrólisis ácida.

Fuente: Elaboración Propia.

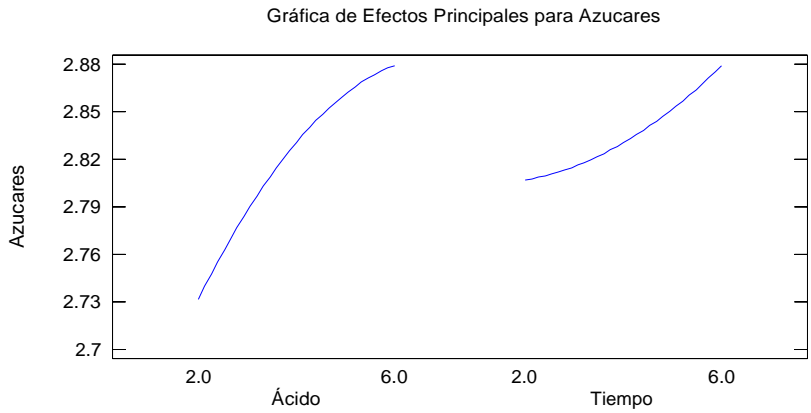


Figura 7. Gráfica de efectos principales para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis ácida.

Fuente: Elaboración Propia.

En la gráfica 6 existen 3 variables las cuales son: azúcares que se encuentran en el eje vertical y ácido clorhídrico (HCl), tiempo que se encuentran en el eje horizontal, de lo cual podemos decir que: si tenemos una concentración de 2% de ácido clorhídrico (HCl) a tiempos (2 hrs, 4hrs y 6 hrs), dicha concentración a un mayor tiempo va a aumentar el contenido de azúcares

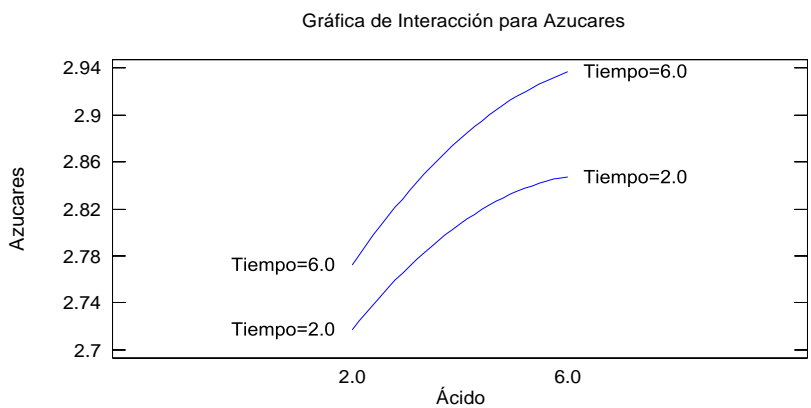


Figura 8. Gráfica de interacción para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis ácida.

Fuente: Elaboración Propia.

En la gráfica se muestra dos variables la primera que se encuentra en el eje vertical que la del azúcar y la segunda que se encuentra en el eje horizontal que es la del ácido clorhídrico (HCl), ambas referidas al tiempo. Aquí se muestra que si la concentración de ácido clorhídrico (HCl) ya sea 2%, 4% o 6%, mientras su tiempo de reacción sea mayor, el contenido de azúcares irá en aumento.

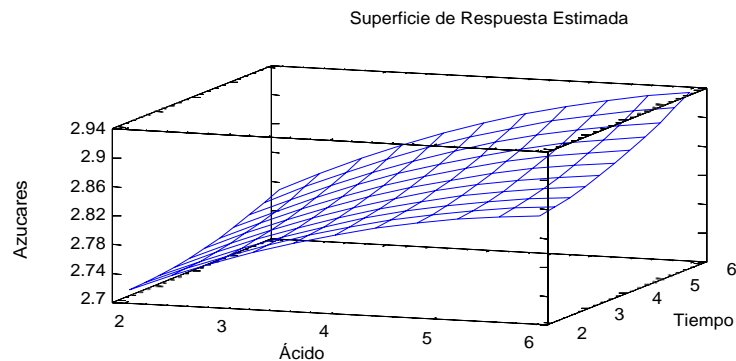


Figura 9. Gráfica de superficie respuesta para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis ácida.

Fuente: Elaboración Propia.

En esta gráfica de superficie de respuesta que se muestran 3 variables, cada una de estas en 3 ejes diferentes: Azúcares para el eje y, ácido clorhídrico (HCl) para el eje x y tiempo para eje z, aquí las variables que determinaran la cantidad de azúcares serán las variables ácido- tiempo, las cuales después de encontrarse en un punto de encuentro, permitirán trazar una línea horizontal hacia donde se encuentra la variable de azúcares en el eje y. ejemplo si tenemos una concentración de 4% de ácido clorhídrico (HCl) a un tiempo de 4hrs, tendremos un valor cercano a 2.74.

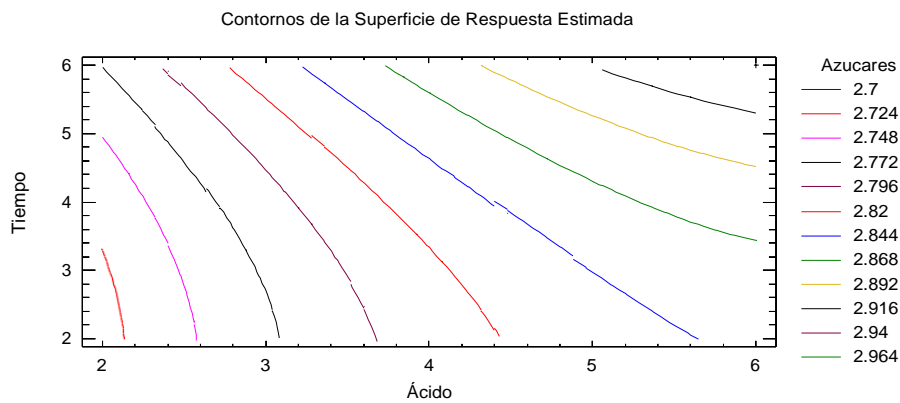


Figura 10. Gráfica de contorno para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis ácida.

Fuente: Elaboración Propia.

Este gráfico está referido a dos variables que son tiempo-ácido que determinaran la cantidad de azúcares, desde un punto de encuentro entre ambas, ejemplo: si tenemos una concentración de 6% de ácido clorhídrico (HCl) y un tiempo de 4 hrs, tendremos un valor cercano entre 2.82 de azúcares

Análisis Estadístico de la hidrólisis enzimática y tiempo para el rendimiento de azúcares reductores

Los valores obtenidos de azucars reductores para el análisis de varianza son los siguientes

Tabla 7

Análisis de resultados después de aplicar hidrólisis enzimática y tiempo para el rendimiento de azúcares reductores

Concentración	tiempo	Azúcares
% Enzimas	H	mg/L
0.05%	2 h	6,0820
0.05%	2 h	5,2473
0.05%	4 h	8,5863
0.05%	4 h	8,2733
0.05%	6 h	9,7341
0.05%	6 h	10,2559
0.1%	2 h	6,1864
0.1%	2 h	6,2907
0.1%	4 h	8,6907
0.1%	4 h	8,5863
0.1%	6 h	9,9428
0.1%	6 h	10,4646
0.2%	2 h	6,2907
0.2%	2 h	6,8125
0.2%	4 h	9,0037
0.2%	4 h	9,2124
0.2%	6 h	10,2559
0.2%	6 h	10,6732

Fuente: Elaboración Propia.

En la tabla se logran ver la concentración de ácido de 0.05%, 0.1%, 0.2%, los cuales reaccionan en diferentes tiempos de 2 hrs, 4 hrs y 6 hrs, obteniendo como resultados la concentración de azúcares obtenidos después del proceso de hidrólisis enzimáticas.

Tabla 8**Análisis de Varianza para la hidrólisis enzimática y tiempo para el rendimiento de azúcares reductores**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Enzima	0.219612	1	0.219612	5.52	0.0571
B:Tiempo	18.988	1	18.988	477.14	0.0000
AA	0.15384	1	0.15384	3.87	0.0969
AB	0.0245079	1	0.0245079	0.62	0.4624
BB	1.88255	1	1.88255	47.31	0.0005
Error total	0.238774	6	0.0397957		
Total (corr.)	21.3582	11			

Fuente: Elaboración Propia.

R-cuadrada = 98.882 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 97.9504 por ciento

En esta tabla nos centraremos en el valor-P ya que este nos muestra el valor de significancia. Para que estas variables sean significantes tienen que tener un valor menor a 0.05, por lo que si nos fijamos en la tabla 5, nos damos cuenta que la variable B con respecto al tiempo, tiene un valor menor a 0.05, por lo que podemos decir que dicho valore es significativo.

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de Azucares en piezas separadas para cada uno de los efectos. entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 2 efectos tienen una valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

Tabla 9

Coef. de regresión para la hidrólisis enzimática y tiempo para el rendimiento de azúcares reductores

<i>Coeficiente</i>	<i>Estimado</i>
Constante	1.95556
A:Enzima	-0.4823
B:Tiempo	2.52876
AA	0.252663
AB	0.040141
BB	-0.210053

Fuente: Elaboración Propia.

Esta ventana despliega la ecuación de regresión que se ha ajustado a los datos. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Azúcares} = 1.95556 - 0.4823 \cdot \text{Enzima} + 2.52876 \cdot \text{Tiempo} + 0.252663 \cdot \text{Enzima}^2 + 0.040141 \cdot \text{Enzima} \cdot \text{Tiempo} - 0.210053 \cdot \text{Tiempo}^2$$

En donde los valores de las variables están especificados en sus unidades originales. Para hacer que STATGRAPHICS evalúe esta función, seleccione Predicciones de la lista de Opciones Tabulares. Para graficar la función, seleccione Gráficas de Respuesta de la lista de Opciones Gráficas.

Tabla 10

Optimización de Respuesta (Meta: maximizar Azúcares)

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Ácido	0.05	2.0	2.0
Tiempo	2.0	6.0	6.0

Nota: Valor óptimo = 10.0939

Fuente: Elaboración Propia.

El StatAdvisor

Esta tabla muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza Azucares sobre la región indicada. Use el cuadro de diálogo de Opciones de Ventana para indicar la región sobre la cual se llevará a cabo la optimización. Puede establecer el valor de uno o más factores a una constante, estableciendo los límites alto y bajo en ese valor.

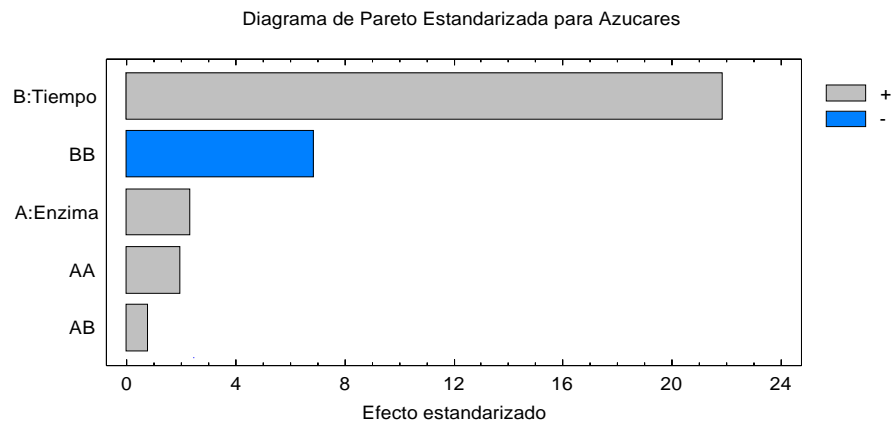


Figura 11. Diagrama de Pareto para la hidrolisis enzimática y el tiempo.

Fuente: Elaboración Propia.

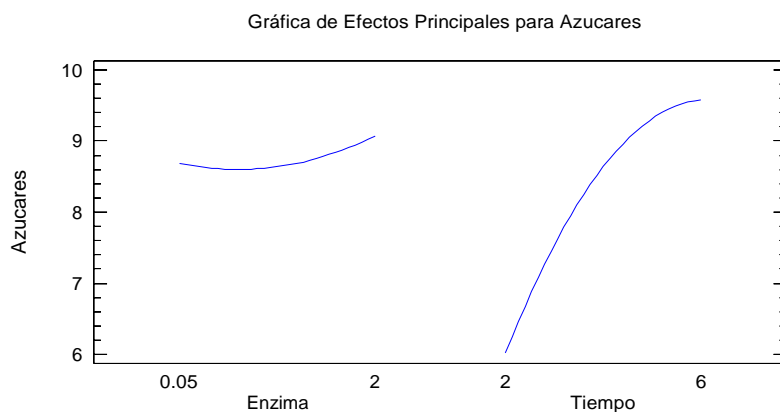


Figura 12. Gráfica de efectos principales para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática.

Fuente: Elaboración Propia.

En la gráfica 11 existen 3 variables las cuales son: azúcares que se encuentran en el eje vertical y enzima, tiempo que se encuentran en el eje horizontal, de lo cual podemos decir que: si tenemos una concentración de 0.05% de enzima (celulasa) a tiempos (2 hrs, 4hrs y 6 hrs), dicha concentración de enzima a un mayor tiempo va a aumentar el contenido de azúcares.

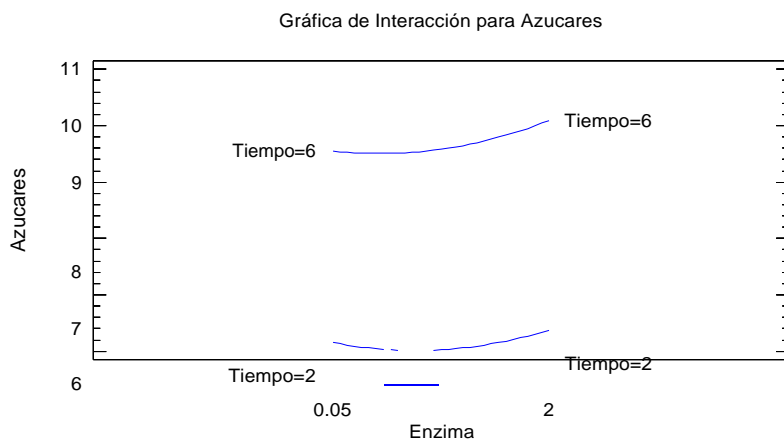


Figura 13. Gráfica de interacción para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática.

Fuente: Elaboración Propia.

En la gráfica se muestra dos variables la primera que se encuentra en el eje vertical que es la del azúcar y la segunda que se encuentra en el eje horizontal que es la de la enzima (celulasa), ambas referidas al tiempo. Aquí se muestra que si la concentración de enzima (celulasa), ya sea 0.05%, 0.1% o 0.2%, mientras su tiempo de reacción sea mayor, el

contenido de azúcares irá en aumento.

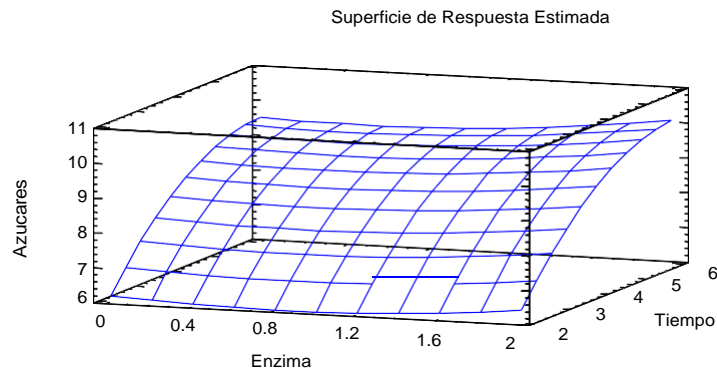


Figura 14. Gráfica de superficie respuesta para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática.

Fuente: Elaboración Propia.

En esta gráfica de superficie de respuesta que se muestran 3 variables, cada una de estas en 3 ejes diferentes: Azúcares para el eje y, enzima celulasa para el eje x y tiempo para eje z, aquí las variables que determinaran la cantidad de azúcares serán las variables enzima-tiempo, las cuales después de juntarse en un punto de encuentro, permitirán trazar una línea horizontal hacia donde se encuentra la variable de azúcares en el eje y. ejemplo si tenemos una concentración de 0.05% de enzima celulasa a un tiempo de 4hrs, tendremos un valor cercano a 7.

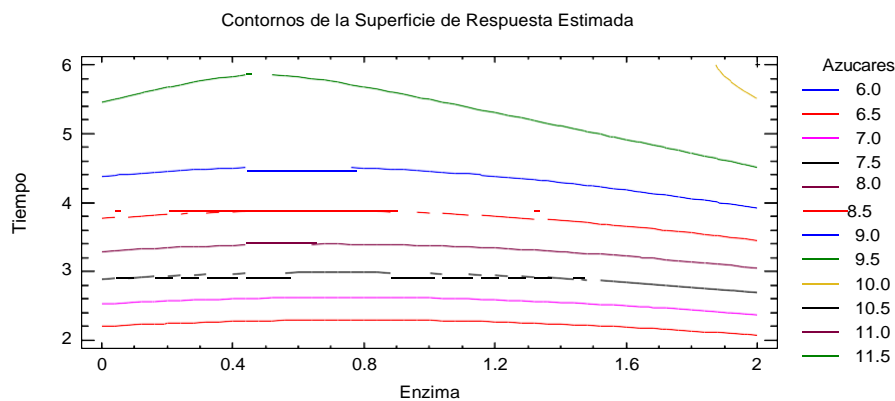


Figura 15. Gráfica de contorno para el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis enzimática.

Fuente: Elaboración Propia.

Este gráfico está referido a dos variables que son tiempo-enzima que

determinaran la cantidad de azúcares, desde un punto de encuentro

entre ambas, ejemplo: si tenemos una concentración de 0.2% de enzima y un tiempo de 4 hrs, tendremos un valor cercano entre 8,5 de azúcares.

4.3. Discusión de resultados

En el análisis estadístico para la hidrólisis ácida y Tiempo en el rendimiento de azúcares se pudo obtener un R-Cuadrado en donde indica que el modelo, así ajustado, explica 98.1737% de la variabilidad en Azucares. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 96.6517%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0.011476. El error medio absoluto (MAE) de 0.0062625 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin- Watson (DW) prueba los residuos para determinar si haya alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

Según Gerena, F. (2013). Evaluó el efecto de las combinaciones porcentuales de los residuos orgánicos de cáscara de naranja y papa en la producción de azúcares reductores mediante hidrólisis química, para esto se planteó un diseño experimental de un factor completamente aleatorizado con efectos fijos. La prueba de Tukey indicó que entre N100 = Cáscara de naranja al 100%, N75P25 = Cáscara de naranja al 75% y Cáscara de papa al 25% y P100 existe diferencias significativas, P100 = Cáscara de papa al 100% es quien genera más azúcares reductores; dentro de las combinaciones porcentuales N25P75 = Cáscara de naranja al 25% y Cáscara de papa al 75% y N50P50 = Cáscara de naranja al 50% y Cáscara de papa al 50% no hay diferencias significativas, esto indica que la cantidad de azúcares reductores que se genera es similar entre ellos y exhiben un comportamiento igual que hidrolizar P100 = Cáscara de papa al 100%.

El análisis estadístico realizado para el proceso hidrolítico indicó que para determinar las condiciones de operación de un proceso de hidrólisis

químico se debe tener en cuenta variables como: temperatura, tiempo y concentración de ácido, ya que dentro de los efectos principales se encontró que estas variables generan un efecto estadístico altamente significativo ($p \leq 0,05$) sobre la generación de azúcares reductores. Quintero et al (2015).

El en caso del análisis Estadístico de la hidrólisis enzimática y tiempo para el rendimiento de azúcares reductores, el estadístico R-Cuadrado indica que el modelo, así ajustado, explica 98.882% de la variabilidad en Azucares. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 97.9504%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0.199489. El error medio absoluto (MAE) de 0.113781 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin- Watson (DW) prueba los residuos para determinar si haya alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

González. *et al* (2011), Mencionan que las condiciones óptimas de pretratamiento e hidrólisis se obtuvieron utilizando el método de superficie de respuesta. Los resultados muestran que la mezcla de pajas de frijol está compuesta por 31% de celulosa, 23% de hemicelulosa y 9% de lignina, que el pretratamiento afecta significativamente al rendimiento de hidrólisis y que la sacarificación máxima ($98.95 \pm 8.38\%$) se obtuvo para un pretratamiento con 0.5% de NaOH durante 90 minutos a 121 °C, con un tiempo de hidrólisis de 240h a pH 4.5 y 45 °C, utilizando una carga enzimática de 25 UPF/g de celulosa.

A lo que sostienen Miranda y Molina (2015). Según los resultados de su investigación, concluyeron que para aumentar el rendimiento de azúcares reductores, la mejor combinación de niveles es una temperatura de sacarificación de 60 °C y un tiempo sacarificación de 2 h. Además, que las etapas de sacarificación y fermentación pueden realizarse de forma simultánea aun cuando se opere a 32 °C. Los resultados de concentración de etanol obtenidos son comparables con valores de concentración de (6,0 a 7,5) % v/v usuales en la industria.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

61. Conclusiones

- Se caracterizó la composición química de la cáscara de papa (*Solanum tuberosum*) obteniendo los siguientes resultados: Cenizas 7,33%, humedad 4,33%, acidez 1.6 %, grados brix 6°
- Se realizó el pre-tratamientos de la muestra de cáscara de papa antes de realizar la hidrólisis química y enzimática y se determinó los siguientes parámetros de control: temperaturas 110 °C por 15 min.
- Se evaluó los diferentes tiempos para la hidrólisis acida y enzimática de la cáscara de papa pre-tratada, en donde se obtuvo el mayor rendimiento en los experimento con enzimas cuando usamos 2 % de HCL y 6 horas de tratamiento.
- Se Determinó el contenido de azúcares reductores para la hidrólisis con HCL, llegando hasta 2.93657 mg/ mL, y con hidrolisis enzimática, hasta 10.0939 mg/ mL.

62 Recomendaciones

- Se propone evaluar en rendimiento de azúcares según la variedad de papa.
- Se sugiere evaluar en rendimiento de azúcares según el tipo de enzima.
- Plantear la evaluación en usando el parámetro temperatura para maximizar el rendimiento.
- Estos azucares simples, pueden ser utilizados para la elaboración de combustibles como el etanol, confitería, jarabes azucarados, entre otros.

REFERENCIAS

- Adamo, A., Beingessner, R. L., Behnam, M., Chen, J., Jamison, T. F., Jensen, K. F., Monbaliu, J. C. M., Myerson, A. S., Revalor, E. M., & Snead, D. R. (2016). On-demand continuous-flow production of pharmaceuticals in a compact, reconfigurable system. *Science*, 352(6281), 61-67.
- Brivio, M., Verboom, W., & Reinhoudt, D. N. (2006). Miniaturized continuous flow reaction vessels: influence on chemical reactions. *Lab Chip*, 6(3), 329-344.
- Wu, L., Hu, M., Li, Z., Song, Y., Yu, C., Zhang, H., Yu, A., Ma, Q., & Wang, Z. (2016). Dynamic microwave-assisted extraction combined with continuous-flow microextraction for determination of pesticides in vegetables. *Food Chemistry*, 192, 596-602.
- Zambelli, P., Tamborini, L., Cazzamalli, S., Pinto, A., Arioli, S., Balzaretto, S., Plou, F. J., Fernandez-Arrojo, L., Molinari, F., Conti, P., & Romano, D. (2016). An efficient continuous flow process for the synthesis of a non-conventional mixture of fructooligosaccharides. *Food Chemistry*, 190, 607-613.
- Ferrario, M., & Guerrero, S. (2016). Effect of a continuous flow-through pulsed light system combined with ultrasound on microbial survivability, color and sensory shelf life of apple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 34, 214-224.
- An, H., & King, J. (2007). Thermal characteristics of ohmically heated rice starch and rice flours. *Journal of Food Science*, 72(1), C084-C088.
- Alfonso, M., Negro, M., Saez, R., Martín, C. (1986). Actividad enzimática del complejo celolítico producido por *Trichoderma reesei*. Hidrólisis enzimática de la celulosa. Centro de investigaciones energéticas, medioambientales y tecnológicas. Madrid. Recuperada el 24 de noviembre del 2016 de http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/38/063/3806327

6.pdf

Badui, S. (2006). Química de los alimentos. Cuarta edición. PEARSON EDUCACIÓN, México.

Bello, D; Carrera, E; Díaz, Y. (2006). Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, vol. XL, núm. 2, mayo-agosto, 2006. Recuperada en 01 de noviembre del 2016 de <http://www.redalyc.org/pdf/2231/223120664006.pdf>

Cardoso, M. F. d. C., Gomes, A. T. P. C., Silva, V. L. M., Silva, A. M. S., Neves, M. G. P. M. S., da Silva, F. d. C., Ferreira, V. F., & Cavaleiro, J. A. S. (2015). Ohmic heating assisted synthesis of coumarinyl porphyrin derivatives. RSC Advances, 5(81), 66192-66199.

Casas, L. y Sandoval, G. (2014). Enzimas en la valorización de residuos agroindustriales”, Revista Universitaria, Vol. 15, Núm. 12, ISSN 1607 – 6079. Recuperada en 18 de octubre del 2016 de <http://www.revista.unam.mx/vol.15/num12/art95/>

Centeno, R. y Pavone D. (2015). Producción de celulasas y biomasa del hongo *Trichoderma reesei* utilizando lodo papelerero como fuente de carbono. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. Centro de Biotecnología Aplicada, Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología. Universidad de Carabobo. Venezuela. Recuperada el 24 de noviembre del 2016 de <http://www.scielo.org.ve/pdf/rsvm/v35n1/art08.pdf>

Chen, H., (2014). Biotechnology of Lignocellulose – theory and Practice. Editorial Chemical Industry Press. DOI 10.1007/978-94-007-6898-7

Cholota, L. y Mora, O., (2010). Diseño, construcción y pruebas de un sistema prototipo para la producción de etanol a partir de papa, zanahoria, remolacha y lactosuero. Tesis de grado previa a la obtención del título de: Ingeniero Mecánico. Recuperado de:

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/289/4/15T00430.pdf>

Diaz Gonzales, A. (2015) Hidrólisis de residuos de la venta de verduras y hortalizas para la producción de bioetanol. Universidad de Oviedo. Recupera en 14 de octubre del 2016 de http://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/33157/6/TFM_AnalsabelDiazGonzalez..pdf

Dagnino, E., Roggero, F., Luque, Morales, W., Chamorro, E., Felissia, F., Area, M., Romano, S. (S/F). Hidrólisis enzimática de cascarilla de arroz pretratada con ácido diluido para evaluar la eficacia de la etapa de pretratamiento. Universidad Tecnológica Nacional (UTN), Argentina. Recuperada en 21 de octubre del 2016 de <http://frre.utn.edu.ar/IJCyT/clean/files/get/item/2151>.

Gerena, F. (2013) Obtención de jarabes azucarados a partir de la hidrólisis química de residuos de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis l var valencia*) y papa (*Solanum tuberosum*) variedad diacol capiro (R-12) para ser empleados como edulcorantes en la industria de alimentos. Recuperado de: <http://repository.unad.edu.co/bitstream/10596/1528/1/46455179pdf.pdf>

González-Rentería, S.M., Soto-Cruz, N.O., Rutiaga-Quiñones, O.M., Medrano-Roldán, H., Rutiaga-Quiñones, J.G., & López-Miranda, J.. (2011). Optimización del proceso de hidrólisis enzimática de una mezcla de pajas de frijol cuatro variedades (Pinto villa, Pinto saltillo, Pinto mestizo y Flor de mayo). Revista mexicana de ingeniería química, 10(1), 17-28. Recuperado en 09 de octubre de 2016, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382011000100003&lng=es&tlng=es.

Halden, K., De Alwis, A., & Fryer, P. (1990). Changes in the electrical conductivity of foods during ohmic heating. International Journal of Food Science & Technology, 25(1), 9-25.

- Hernández-Cázares, A.S.; Real-Luna, N.; Delgado-Blancas, M.I.; Bautista-Hernández, L.; Velasco-Velasco, J. (2016). Residuos agroindustriales con potencial de compostaje. *Agroproductividad* vol 9, n° 9. Recuperado de: <http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/2642/Agroproductividad%20vol%209,%20no%209,%20p%2010-17.pdf?sequence=1>
- Hong, J., Chen, R. J., Zeng, X. A., & Han, Z. (2016). Effect of pulsed electric fields assisted acetylation on morphological, structural and functional characteristics of potato starch. *Food Chemistry*, 192, 15-24.
- Hoover, R. (2000). Acid-Treated Starches. *Food Reviews International*, 16(3), 369-392.
- Hyman, M. (2013). Guía para la Elaboración de Estrategias Nacionales de Gestión de Residuos. Retrieved from [http://www.unep.org/ietc/Portals/136/Publications/Waste Management/UNEP NWMS Spanish Screen.pdf](http://www.unep.org/ietc/Portals/136/Publications/Waste%20Management/UNEP%20NWMS%20Spanish%20Screen.pdf)
- Jin, Y. M., Yang, N., Ma, Q., Wu, F. F., Xu, X. M., & Tong, Q. (2015). The Salt and Soluble Solid Content Evaluation of Pickled Cucumbers Based on Inductive Methodology. *Food and Bioprocess Technology*, 8(4), 749-757.
- Juri, S. (2011). Sacarificación y fermentación simultánea para la producción de bioetanol de segunda generación, mediante pretratamientos alternativos: líquidos iónicos reciclados y hongos de pudrición blanca. Facultad de ciencias físicas y matemáticas. Departamento de ingeniería química y biotecnología. Universidad de Chile. Chile. Recuperado el 24 de noviembre del 2016 de http://repositorio.uchile.cl/tesis/uchile/2011/cf-juri_sa/pdfAmont/cf-juri_sa.pdf
- Kulkarni, S. V., & Khaparde, S. (2016). *Transformer engineering: design, technology, and diagnostics*. CRC Press.
- Lee, J. H., Choi, H. W., Kim, B. Y., Chung, M. S., Kim, D. S., Choi, S. W., Lee, D. U., Park, S. J., Hur, N. Y., & Baik, M. Y. (2006). Nonthermal starch hydrolysis using ultra high pressure: I. Effects of acids and starch concentrations. *LWT* -

Food Science and Technology, 39(10), 1125-1132.

Li, K. L., Xia, L. X., Li, J., Pang, J., Cao, G. Y., & Xi, Z. W. (2001). Salt-assisted acid hydrolysis of starch to D-glucose under microwave irradiation. Carbohydrate Research, 331(1), 9-12.

Manay, N. (2014). Lambayeque genera más de 601 toneladas de residuos sólidos diariamente. La Republica, edición digital. Recuperado el 06 de setiembre del 2016 de <http://larepublica.pe/03-12-2014/lambayeque-genera-mas-de-601-toneladas-de-residuos-solidos-diariamente>

Miranda Orales Bárbara y Molina Córdoba Manuel (2015). Evaluación de factores que pueden influir en el proceso de sacarificación-fermentación simultáneas para la producción de etanol a partir de materiales amiláceos. Revistas académicas Ingeniería. Universidad de Costa Rica. Vol. 25, Núm. 1 (2015)

Nieto, M. Isabel, Santacruz, Isabel, & Moreno, Rodrigo. (2014). CONSOLIDACIÓN DE MATERIALES CERÁMICOS POR GELIFICACIÓN DE POLISACÁRIDOS. Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales, 34(1), 02-27. Recuperado en 21 de setiembre de 2016, de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0255-69522014000100002&lng=es&tlng=es.

Ordóñez, J. Cambero , M. Fernández, L. García M. García Minguillón De la Hoz, L. (1998) Tecnología de los alimentos. Volumen I. Componentes de los alimentos y procesos. Editorial Síntesis S.A., España

Libédula, (2011) Diagnóstico de la Agricultura en el Perú. Recuperado de http://www.peruopportunity.org/uploads/posts/34/Diagno_stico_de_la_Agricultura_en_el_Peru_-_web.pdf

Quintero Mora, L., Martínez Castilla, Y., Velasco Mendoza, J., Arévalo Rodríguez, A., Amparo Muñoz, Y., & Urbina Suarez, N. (2015). Evaluación de residuos de

papa, yuca y naranja para la producción de etanol en cultivo discontinuo utilizando *Saccharomyces cerevisiae*. REVISTA ION, 28(1). Recuperado de <http://revistas.uis.edu.co/index.php/revistaion/article/view/4953/5149>

Residuo Profesional. (2016). Cada año se producen entre 7.000 y 10.000 millones de toneladas de residuos urbanos en el mundo. Recuperado en 29 de setiembre de: <http://www.residuosprofesional.com/millones-toneladas-residuos-urbanos/>

Romero Bonilla, H., Tinoco Gómez, O., & Dávila Dávila, K. (2016). Hidrólisis enzimática de residuos agroindustriales del banano para la obtención de jarabe glucosado aplicando tres pretratamientos. *Industrial Data*, 18(1), 101-107. Recuperado en 19 de octubre del 2016 de <http://dx.doi.org/10.15381/idata.v18i1.12072>

S/A. (2007). Fundamentos y técnicas de análisis de alimentos. Departamento de alimentos y biotecnología. Facultad de química, UNAM. México. Recuperado el 24 de noviembre del 2016 de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/FUNDAMENTOSYTECNICASDEANALISISDEALIMENTOS_12286.pdf

Subovsky, M., Sosa, A., Castillo, A., Cano, N. (S/F). Evaluación del contenido de hidroximetilfurfural en mieles del NEA. Facultad de Cs. Agrarias - UNNE. Argentina. Recuperado el 23 de noviembre del 2016 de <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2002/05-Agrarias/A-031.pdf>

Wade, Jr., (2011). Química Orgánica. Vol. II. Setima Edición. Editorial Pearson. Mexico.

Wang, S. J., & Copeland, L. (2015). Effect of acid hydrolysis on starch structure and functionality: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(8), 1081-1097.

- Wei, B. X., Hu, X. T., Zhang, B., Li, H. Y., Xu, X. M., Jin, Z. Y., & Tian, Y. Q. (2013). Effect of defatting on acid hydrolysis rate of maize starch with different amylose contents. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 652-656.
- Yang, N., Jin, Y. M., Jin, Z. Y., & Xu, X. M. (2016). Electric-Field-Assisted Extraction of Garlic Polysaccharides via Experimental Transformer Device. *Food and Bioprocess Technology*. 9(9), 1612-1622.
- Yu, H. M., Chen, S. T., Suree, P., Nuansri, R., & Wang, K. T. (1996). Effect of microwave irradiation on acid-catalyzed hydrolysis of starch. *The Journal of Organic Chemistry*, 61(26), 9608-9609.

ANEXO



Figura 16.
Recipientes con cáscara de papa



Figura 17.
Mufla 650°C



Figura 18.
Mufla con muestras



Figura 19.
Muestras a 100°C



Figura 20.
Centrífuga



Figura 21.
Muestras de extracción de
azúcares



Figura 22.
Espectrofotómetro