

Universidad de Matanzas Sede “Camilo Cienfuegos”

Facultad de Ciencias Técnicas

Departamento de Química e Ingeniería Química



Trabajo de diploma presentado como requisito parcial para optar por el título de Ingeniero Químico.

Título: Valoración de la hidrólisis enzimática en la obtención de un concentrado proteico a partir de tallos de yuca residuales.

Autor (a): Shaveby Santana Torrent

Tutores: Ing. Ena de los Ángeles Hernández López, MSc.

Ing. Juventino Herrera Pérez

Consultante: Ing. Josefina del Carmen Hernández, Dr.C

Matanzas, 2018

A mi madre por hacer del mundo un lugar seguro para mí...

DECLARACIÓN DE AUTORIDAD

Yo Shavely Santana Torrent me declaro como única autora de este trabajo de diploma “Valoración de la hidrólisis enzimática en la obtención de un concentrado proteico a partir de tallos de yuca residuales”, realizado en la Universidad de Matanzas sede “Camilo Cienfuegos” como requisito para optar al título de Ingeniero Químico y autorizo que el mismo sea utilizado por la institución para los fines que estime pertinente

Firma

NOTA DE ACEPTACIÓN

Miembros del Tribunal:

Presidente

Secretario

Vocal

*Es justamente la posibilidad de realizar un sueño lo
que hace que la vida sea interesante*

Pablo Coelho

AGRADECIMIENTOS:

Durante mucho tiempo este ha sido el sueño y el desvelo de muchas personas importantes para mí, a todos ellos mi más sincera gratitud.

A mi mamachula por estar siempre con la seguridad de que yo era capaz de superar este reto, por aguantar días duros de estudios y de estrés y por supuesto por ser la persona más importante en mi vida.

A mi kicongo por siempre estar ahí con la mayor disposición de ayudar y sin quejarse, por ayudarme en este camino de superación, por convertirse en alguien muy importante para mí.

A mis abuelos que son mi orgullo, los que enseñaron que valía la pena superar todos esos obstáculos para al fin convertirme en una profesional y mejor persona

A mis tíos Zahily y el Chino por siempre poder contar con ustedes sin escatimar, porque mi éxito sea también el de ustedes

A mis primos que son mis hermanos gracias por todo

Al resto de mi familia por ser como son unidos e incondicionales.

A mi tutora Ena por su actitud incondicional y comprometedora, por convertirse en mi amiga y darme su apoyo tanto profesional como espiritual, por ser tan paciente y dedicada de todo corazón mil gracias.

A Gisy por la ayuda brindada y por el tiempo dedicado.

A Juventino y Josefina por sus conocimientos brindados y por el tiempo dedicado.

A mi amiga de siempre Liset por ser la fiel seguidora de este sueño.

A todos los amigos que hice en el laboratorio a Ana Rosa, Lisdeisy, Paco y Eddy gracias por siempre ayudarnos

A Robe que se convirtió en mi amigo y me ayudó en esta difícil faena

A mis amigos de la carrera por aguantarme en días de estrés pero sobre todo por ser mis hermanos a Julio, Meivys, Jeniffer, Liudmila, Liadna, Elianys, Anliet, Harold, Jonathan, Andy, Lázaro, Dariel, Naylin y Elianys en fin a todo el grupo.

A todos los profesores que me enseñaron y educaron durante toda la carrera.

Gracias a todos los que hicieron de este ciclo de mi vida momentos inolvidables e irrepetibles.

RESUMEN

El presente trabajo se realiza en la Universidad de Matanzas y en la UEB Biopropósito España Republicana. Un método eficiente en la transformación del almidón presente en los tallos de yuca es la hidrólisis enzimática seguida de fermentación aerobia para producir concentrado proteico base levadura *Torula*. En la investigación se valora la hidrólisis enzimática de tallos de yuca residuales (*Manihot esculenta* Crantz) de la variedad C-74-725. La composición química de los tallos de yuca en base seca es celulosa (33.12 %), hemicelulosa (37.71 %), lignina (13.19 %), extractos (7.87 %) y cenizas (8.11 %). Como resultado del diseño experimental de compuesto central se obtiene un óptimo de máxima concentración de azúcares para las condiciones de velocidad de agitación de 530 rpm (15 s^{-1}) y relación líquido-sólido de 13. Se realizan los balances de materiales y de energía pertinentes para el diseño del hidrolizador. Se fundamenta económicamente la propuesta, constatándose que no es factible para la variedad estudiada, y la situación se revierte para materiales amiláceos con contenido de almidón superior a 8%. Se realizan balances de materiales contemplando distintas combinaciones de tallos de yuca residuales de las variedades C-74-725 y Señorita, raíz de yuca y maicena. De las mezclas calculadas se logran resultados acertados técnicamente para 15 % tallos, 50 % raíz, 35 % maicena y 10 % de tallos de C-74-725, 15 % de tallos de Señorita, 60 % de raíz y 15 % de maicena.

ABSTRACT

The present work is carried out at the University of Matanzas and the UEB Biopropósito España Republicana. An effective method in cassava stems starch transformation is enzymatic hydrolysis followed by aerobic fermentation in order to produce *Torula* yeast protein concentrate. In the investigation, the enzymatic hydrolysis of cassava stems (*Manihot esculenta* Crantz) of C-74-725 variety is evaluated. The chemical composition of the cassava stems in dry base is cellulose (33.12 %), hemicellulose (37.71 %), lignin (13.19 %), extracts (7.87 %) y ashes (8.11 %). As a result of the central compound experimental design it is obtained a maximum concentration of sugars for the conditions rotation speed of 530 rpm (15 s^{-1}) and 13 liquid-solid ratio. The balances of materials and energy relevant to the hydrolyzer design is developed. The proposal is economically established, confirming that it is not feasible for the studied variety, and the situation is reversed for starchy materials with a starch content higher than 8%. Material balances were made contemplating the different combinations of stems of the varieties C-74-725 and Señorita, root of cassava and cornstarch. The calculated mixtures that achieved technically successful results are 15% stems, 50% root and 35% cornstarch; and 10% of stems C-74-725, 15% of stems of Señorita, 60% of cassava root and 15% of cornstarch.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
Capítulo I: Revisión bibliográfica.....	3
1.1: Biomasa lignocelulósica.....	3
1.1.1: Composición química de la biomasa lignocelulósica.....	4
1.1.2: Tratamiento.....	6
1.1.3: Yuca (Manihot esculenta Crantz).....	7
1.2: Hidrólisis.....	10
1.2.1: Tipos de hidrólisis.....	10
1.2.2: Ventajas y desventajas de la hidrólisis enzimática.....	11
1.2.3: Factores que afectan la hidrólisis enzimática.....	12
1.3: Enzimas.....	15
1.3.1: Alfa-amilasa.....	15
1.3.2: Amiloglucosidasa.....	16
1.4: Tecnologías.....	16
1.4.1: Descripción del proceso tecnológico.....	19
1.5: Conclusiones parciales del capítulo.....	20
Capítulo II: Materiales y métodos.....	21

2.1: Etapas de la investigación.....	21
2.2: Análisis documental.....	22
2.3: Recolección y preparación de la materia prima.....	22
2.4: Determinación de las propiedades físicas y la composición química de los tallos de yuca residuales.....	22
2.4.1: Caracterización física de los tallos de yuca.....	22
2.4.2: Composición química de los tallos de yuca.....	23
2.5: Diseño experimental de la hidrólisis enzimática a los tallos de yuca.....	25
2.6: Balance de materiales y de energía en el hidrolizador.....	27
2.6.1: Balance de masa.....	27
2.6.2: Balance de energía.....	28
2.7: Diseño del hidrolizador.....	29
2.7.1: Estimación del costo de inversión y de operación del hidrolizador.....	32
2.8: Valoración de los resultados de la hidrólisis enzimática.....	34
Capítulo III: Análisis de los resultados.....	36
3.1: Análisis documental.....	36
3.2: Propiedades físicas y composición química de los tallos de yuca residuales.....	36
3.2.1: Propiedades físicas.....	36
3.2.2: Composición química.....	38

3.3: Diseño experimental de la hidrólisis enzimática de los tallos de yuca residuales.....	39
3.4: Balance de materiales y de energía en el hidrolizador.....	42
3.4.1: Balance de masa.....	42
3.4.2: Balance de energía.....	43
3.5: Diseño del hidrolizador.....	43
3.5.1: Estimación del costo de inversión y de operación del hidrolizador.....	45
3.6: Valoración de los resultados de la hidrólisis enzimática.....	47
3.7: Conclusiones Parciales.....	51
Conclusiones.....	52
Recomendaciones.....	53
Referencias Bibliográficas.....	54
Anexos.....	63

Introducción

El desarrollo económico sostenible requiere de recursos seguros y renovables para la producción industrial. Se necesita transitar de una economía basada en hidrocarburos a una economía basada en carbohidratos. Esto motivó a los investigadores a la búsqueda de materias primas alternativas, como los materiales lignocelulósicos, por su bajo costo y su alta disponibilidad.

Los tallos de yuca están constituidos fundamentalmente por el 67,8 % de carbohidratos estructurales y un 17,8 % de lignina del peso seco total de esta materia prima (Martín *et al.*, 2006). El mayor contenido de almidón está presente en la parte fibrosa, la cual representa el 97 % másico de los tallos de yuca (Orozco, 2015). El contenido de almidón en materia seca oscila entre un 20 % y un 39 % (Rattanachomsri *et al.*, 2009; Zhu *et al.*, 2013). Estos valores incitan a su aprovechamiento como materia prima amilácea.

La producción de piensos para la alimentación animal tiene una fuerte dependencia de la importación de soya y de Northgold con destino a la ganadería. Se necesita buscar alternativas nacionales para sustituir ambos renglones importados como una vía económica para enfrentar la demanda creciente de alimentos. En esta búsqueda, la UEB España Republicana, perteneciente a LABIOFAM, ha obtenido sustratos proteicos para la alimentación animal a partir del almidón presente en materias primas convencionales (maíz, boniato, yuca) con resultados satisfactorios.

Orozco (2015) estudió la hidrólisis ácida, la auto-hidrólisis y la hidrólisis enzimática, seguidas por fermentación aerobia en la variedad Señorita, para la obtención de un sustrato proteico (base levadura *Torula*). La evaluación de la transformación del almidón de los tallos de yuca en azúcares simples demostró que el método más eficiente y económico es la hidrólisis enzimática seguida de fermentación aerobia. El rendimiento de la hidrólisis enzimática del almidón depende de factores como el pH y la temperatura óptimos para cada enzima, la concentración de enzima y sustrato, la viscosidad del medio, el tiempo de reacción, la velocidad de agitación y el pretratamiento del almidón (Azmi *et al.*,

2017). No obstante, se desconocen algunas de las condiciones que favorecen el incremento del rendimiento en la etapa de hidrólisis enzimática de los tallos de yuca.

Problema científico: ¿Cómo se garantiza la mayor transformación del almidón presente en los tallos de yuca residuales en azúcares simples, para su posterior uso en la fermentación aerobia?

Hipótesis: Con la determinación de la relación líquido-sólido y la velocidad de agitación adecuados, se logrará un mayor rendimiento en la hidrólisis enzimática.

Objetivo: Valorar la hidrólisis enzimática en la obtención de un concentrado proteico a partir de los tallos de yuca residuales.

Objetivos específicos:

1. Determinar la composición química de los tallos de yuca residuales.
2. Optimizar la etapa de hidrólisis enzimática de los tallos de yuca residuales.
3. Diseñar el hidrolizador para la hidrólisis enzimática.

CAPÍTULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Este capítulo recoge la fundamentación teórica de los elementos abordados en la investigación. Los aspectos analizados están encaminados a cumplir con el objetivo principal de la investigación.

1.1 Biomasa lignocelulósica

La biomasa lignocelulósica es uno de los materiales orgánicos más abundantes de la tierra. Esta puede clasificarse en seis grupos principales: los residuos agrícolas, las maderas duras, las maderas blandas, los residuos celulósicos, la biomasa herbácea y los residuos sólidos urbanos (Almenares, 2011)

La biomasa lignocelulósica representa una gran oportunidad para la industria debido a su gran abundancia y bajo costo (Montero, 2015). Según Almenares (2011), por su elevado contenido de azúcares fermentables y su extraordinaria disponibilidad, la biomasa lignocelulósica es la materia prima de excelencia para la producción de etanol carburante, el cual es considerado como una alternativa más limpia a los combustibles fósiles. Otros de los beneficios medioambientales del uso de la biomasa lignocelulósica son la formación de oxígeno en la fotosíntesis consecuente al proceso de producción de la biomasa, la regulación de la evaporación de agua y la disminución de la erosión del suelo (Carrasco, 2010). Como desventajas del empleo de los materiales lignocelulósicos se destacan su bajo valor calórico, comparado con el de los combustibles fósiles, su falta de uniformidad y su baja densidad, por lo que debe producirse cerca de su lugar de utilización (Carrasco, 2012).

Según los criterios anteriormente mencionados se puede decir que los materiales lignocelulósicos son sin duda una alternativa viable para la obtención de levadura y de biocombustibles y a su vez una solución medioambiental y económicamente factible ya que el uso de estos materiales renovables es una fuente para la producción de diversos derivados y la reutilización de residuos agroindustriales.

1.1.1 Composición química de la biomasa lignocelulósica

Entre los componentes fundamentales de la materia seca de los materiales lignocelulósicos están: celulosa, hemicelulosa, lignina, extractivos, almidón y cenizas (Montero, 2015).

Celulosa

La celulosa, el componente principal de la biomasa, es un polisacárido de difícil degradación en condiciones de tratamiento moderadas. La celulosa consiste en cadenas lineales de celobiosa (D-glucopiranosil- β -1,4-D-glucopiranososa) de aproximadamente 10000 unidades glicosídicas en celulosa nativa de fibras madereras donde representan más de 50% del peso (Prinsen, 2010). En la célula vegetal, gran parte de la celulosa está presente como microfibras empaquetadas muy densamente. Contiene zonas amorfas y cristalinas.

Las investigaciones más recientes en el campo de los biorrecursos, se han enfocado hacia el desarrollo de ciertos pretratamientos de la biomasa o la celulosa bajo los cuales se logra que estos materiales sean de más fácil degradación a azúcares fermentables (Martínez *et al.*, 2009).

Lignina

La lignina puede considerarse una red polimérica tridimensional al azar formada por unidades de fenilpropano unidas entre sí en diferentes posiciones. Su función en el ámbito estructural, es el de mantener unidos la celulosa y las hemicelulosas entre sí (Martínez *et al.*, 2009). Las unidades monoméricas que conforman la lignina se encuentran unidas generalmente por enlaces carbono-carbono y enlaces tipo éter, en proporciones que varían entre especies vegetales (Berlin y Balakshin, 2014).

Según Álvarez (2012), la lignina es la segunda fuente renovable más abundante que existe en la naturaleza. Por esta razón, se han desarrollado usos alternativos para aprovechar este subproducto agroindustrial, tal como la generación de fibras de carbón para la industria de los materiales compuestos. Por otro lado, Almenares (2011) plantea que se puede emplear en la extracción de una gran variedad de productos de alto valor añadido, o como una fuente de energía que

podiera cubrir, total o parcialmente, las demandas energéticas de una planta productora de etanol a partir de biomasa.

Hemicelulosa

Según Montero (2015) la hemicelulosa, también llamada poliosis, es un heteropolímero de polisacáridos, y está disponible en casi todos los materiales vegetales junto con la celulosa. El polisacárido de hemicelulosa contiene diferentes polímeros de hexanos y pentosanos. Es un carbohidrato complejo y heterogéneo, ya que en su estructura posee diferentes polímeros como pentosas, hexosas, azúcar y ácidos, entrelazadas entre sí por enlace glucosídico. La hemicelulosa sirve de conexión entre la lignina y las fibras de celulosa (Laureano-Pérez *et al.*, 2005).

Las hemicelulosas forman cadenas ramificadas de menor grado de polimerización que la celulosa y no tienen, por lo tanto, zonas cristalinas. Además los puentes de hidrógeno son menos eficaces, haciendo de las hemicelulosas polisacáridos más accesibles al ataque químico (Barroso, 2010).

Almidón

El almidón es un homopolímero constituido de 98 a 99% por amilosa y amilopectina. Ambas son moléculas de alto peso molecular organizadas en gránulos semicristalinos y que influyen de manera determinante en las propiedades sensoriales y reológicas del almidón, principalmente en su capacidad de hidratación y gelatinización (Oliver, 2016). El almidón se diferencia de todos los demás carbohidratos en que en la naturaleza se presenta como complejas partículas discretas (gránulos). Los gránulos de almidón son relativamente densos e insolubles, se hidratan muy mal en agua fría pueden ser dispersados en agua, dando lugar a la formación de suspensiones de baja viscosidad que pueden ser fácilmente mezcladas (Desrosier, 1989).

El principal carbohidrato de reserva sintetizado por las plantas es el almidón, llegando a constituir una fuente esencial de energía para todos los organismos vivos, especialmente el hombre. Los almidones representan un componente importante en un largo número de productos agroindustriales como el cereal (maíz, arroz, trigo) cuyo contenido de polisacáridos varía de 30 a 80%; legumbres

(frijol, guisantes, haba) con 25– 50%; tubérculos (papa, tapioca) con 60–90%, como también algunas frutas tropicales como el banano, cuyo contenido en base seca cuando está verde puede llegar a ser de 70%.

El almidón es uno de los principales compuestos de la yuca y de otras raíces y tubérculos. Se encuentra almacenado en gránulos y se extrae utilizando un proceso de dilución en agua y filtrando en mantas. El almidón de yuca también es conocido como Tapioca y es utilizado en la industria alimentaria como ligante de agua, coadyugante de emulsificantes, fuente de carbohidratos, espesante y agente texturizante. Una utilización muy interesante del almidón es la preparación de embalajes de espuma, una alternativa biodegradable a los envases de polietileno (Lancho, 2015).

Extractivos

Los compuestos extractivos son una amplia variedad de compuestos que incluyen ácidos resínicos, compuestos fenólicos, aceites esenciales, grasas, ceras, taninos, colorantes y carbohidratos (Martín, 2012)

Cenizas

El contenido de cenizas en la madera es bajo (~2% MS). Dentro de los principales componentes se encuentran las sales metálicas (carbonatos, silicatos, oxalatos y fosfatos) (Martín, 2012).

1.1.2 Tratamiento

Según Martínez (2009), se le denomina pretratamiento al conjunto de acciones para mejorar el rendimiento en la obtención de azúcares fermentables desde la biomasa inicial. A su vez, según Almenares (2011), el objetivo fundamental del pretratamiento es la separación de los componentes básicos de los materiales lignocelulósicos: celulosa, hemicelulosa y lignina. Aunque la mayoría de los tratamientos pueden liberar a la celulosa y la hemicelulosa de la pared celular, algunos siguen siendo económicamente inviables.

El pretratamiento es una etapa fundamental en la transformación de biomasa en productos de valor agregado. Este proceso consiste en una o más etapas con el fin de alterar la estructura de la biomasa. Entre los requisitos del pretratamiento

se incluyen el mejoramiento de la formación de azúcares o la capacidad de formar posteriormente azúcares por hidrólisis enzimática, evitar la degradación o pérdida de hidratos de carbono, evitar la formación de subproductos inhibidores para los procesos de hidrólisis y fermentación posteriores, y ser rentable (Galbe y Zacchi, 2002, Chiaramonti *et al.*, 2012).

Según Ravindran (2016) y Agbor (2011), los tratamientos de los materiales lignocelulósicos se clasifican en convencionales y no convencionales. Según Riaño (2010), los tratamientos aplicables a la biomasa lignocelulósica son:

- Pretratamiento mecánico (trituration mecánica y ultrasonido).
- Pretratamiento térmico (explosión por vapor y agua líquida a alta temperatura).
- Pretratamientos físico-químicos (proceso de explosión de fibra con amoníaco y explosión con CO₂).
- Pretratamiento químico (hidrólisis ácida, oxidación húmeda, tratamientos con ozono, hidrólisis con álcalis, tratamiento con solventes orgánicos).
- Pretratamientos biológicos (tratamiento con hongos, con bio-solventes orgánicos e hidrólisis enzimática).

1.1.3 Yuca (*Manihot esculenta* Crantz)

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) es una planta tropical perenne de la familia Euphorbiaceae, extensamente cultivada en más de 90 países de Sudamérica, Asia y África por su raíz almidonosa de alto valor alimentario que constituye la base de la alimentación de más de 600 millones de personas en el mundo, consolidándose como el cuarto cultivo más importante después del arroz, el maíz y el trigo (Howeler, 2013)

La división entre las yucas amargas y dulces está dada por el contenido de ácido cianhídrico (HCN). Las yucas amargas son las que tienen el mayor contenido de HCN (>50 mg/L), poseen un mayor rendimiento y una mejor calidad de almidón. Las dulces poseen bajas concentraciones de HCN y son las preferidas para el consumo humano (Ospina y Ceballos, 2002).

La yuca ha demostrado ser un excelente sustituto del maíz amarillo en la dieta animal, al ser un cultivo con una alta producción de raíces ricas en almidón y de follaje con un alto porcentaje de proteína. La yuca y el maíz son dos productos similares, están formados casi totalmente por almidones y son de fácil digestión. Por lo tanto, la yuca es apropiada para alimentar animales en desarrollo y en engorde, por lo que el maíz puede ser sustituido por yuca para la alimentación de cerdos, ganado de leche, ganado de engorde y aves. Las características de esta planta permiten utilizar todas sus partes: el tallo para su propagación vegetativa, las hojas para producir harinas proteicas y las raíces para el consumo en fresco, la agroindustria y la alimentación animal. Además de ser un cultivo con una altísima tolerancia al estrés biótico (plagas y enfermedades), es de fácil adaptación a las características de la pequeña producción

La yuca es la opción más viable, dado que durante muchos años ha existido un mercado internacional de ese producto para la alimentación animal, especialmente en la Unión Europea y más recientemente en países tropicales en desarrollo. En Indonesia, Tailandia y otros países del Sudeste asiático, la yuca se comercializa en forma de trozos secos, secados básicamente con energía solar. Esta materia prima es transformada en los países de destino en harinas y pellets. Ambas presentaciones se utilizan mezcladas en los concentrados para animales (Acuña *et al.*, 2010). El uso de la yuca en dichos países ha competido con otras fuentes de carbohidratos para la alimentación animal, especialmente maíz y sorgo (Morales, 2016). Una de las ventajas de la yuca es que es altamente productiva, aún en condiciones marginales de clima y fertilidad del suelo. La raíz de yuca contiene de un 35 a un 40% de materia seca, de la cual un 85% consiste en almidón altamente digestible. Su principal desventaja es su bajo contenido de proteína, pero esto se resuelve mediante otros ingredientes altos en proteína, como la soya, o también utilizando el follaje de la misma yuca que tiene contenidos de proteína tan altos como el 25% (Giraldo *et al.* 2005). De la experiencia europea en el uso de la yuca, se sabe que puede utilizarse en niveles del 40% y más en sustitución del maíz, en la dieta de rumiantes, en aves (Tiemoko, 1988) y cerdos (Morales y Batista, 2016) y en este último caso con sustituciones de hasta el 100%

con resultados biológicos y económicos favorables (Ayerbe, 2002; Clayuca Net, 2004). Además, la tradición en la producción de yuca en el país, así como el desarrollo de las llamadas yucas amargas de alta producción para la alimentación animal, las cuales no compiten con el consumo humano, hacen aún más viable esta opción (Morales, 2016). Su uso sería un medio para mejorar el bajo contenido proteico de la harina de raíz de yuca, esperándose un menor costo en comparación con una fuente tradicional de proteína, tal como la soya. Es probable que los aumentos de los precios internacionales del maíz que se dan cíclicamente en el tiempo favorezcan el uso de la yuca. Entonces dos factores que también favorecerían el uso futuro de la yuca en la alimentación animal en Costa Rica son la posibilidad de un desabasto internacional del maíz y la posibilidad de incorporar el follaje de la misma yuca en las dietas con harina o pellets de yuca. La FAO (2016) resalta la importancia del uso de fuentes locales de alimentación como elemento clave en la sostenibilidad de las dietas para animales, precisamente por su relación con asuntos ambientales, el reciclaje de nutrientes y la reducción de las emisiones de gases con efecto invernadero derivadas del transporte. Además, el uso de esas fuentes tiene grandes impactos sociales, porque promueve las economías locales y genera empleo.

A partir de los elementos mencionados cobra gran significación el aprovechamiento de los tallos de yuca. De estos, se utiliza en la propagación de nuevos cultivos solo del 10-20% y el resto queda como residuo en los campos o se incinera, lo que afecta al suelo y al medio ambiente. Otro aspecto a considerar es que en su composición existe de un 22-39 % másico de almidón y que para una altura de 70-100 cm de los tallos de yuca existe un mayor contenido del mismo (30%) (Zhu, 2013). Se ha estudiado el aprovechamiento los tallos de yuca en la obtención de etanol celulósico (Liscano, 2014; Nuwamanya *et al.*, 2012; Han *et al.*, 2011), en la producción de biogás y en la obtención de almidón (Zhu, 2013). En el manejo de los tallos de yuca recién cortados, es importante secarlos inmediatamente para evitar deterioro de la biomasa por hongos (Liscano, 2014).

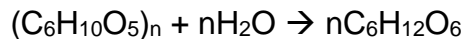
1.2 Hidrólisis

La teoría de la hidrólisis de los materiales lignocelulósicos se basa en la cinética química de las transformaciones de los polisacáridos catalizadas por ácidos. La cinética química incluye el mecanismo de reacción, así como las particularidades del transcurso de las mismas.

La cinética de la hidrólisis de los polisacáridos determina:

- La composición de la mezcla de reacción.
- El rendimiento de los productos de interés.

La hidrólisis total conduce a la formación de D-glucosa. Esta reacción responde a la siguiente forma:



1.2.1 Tipos de hidrólisis

La hidrólisis de los polisacáridos contenidos en los materiales lignocelulósicos es la base para la obtención de etanol, ácido láctico, xilitol, furfural, levadura forrajera, etcétera. La misma no es más que la ruptura de los enlaces glicosídicos con formación de sus monosacáridos componentes, catalizada por agentes químicos o por enzimas (Orozco, 2015).

Hidrólisis ácida

La hidrólisis ácida consiste en un proceso químico que, mediante el empleo de catalizadores ácidos, transforma las cadenas de polisacáridos que forman la biomasa en sus monómeros elementales (azúcares fermentables o reductores). La hidrólisis ácida del almidón a glucosa es una técnica que tiene muchas desventajas: formación de productos no deseables y flexibilidad muy pobre (el producto final sólo se puede modificar cambiando el grado de hidrólisis), por último es necesaria que el equipo resista el ácido y las temperaturas requeridas durante el proceso (Ferrer, 2016).

Hidrólisis alcalina

La hidrólisis alcalina es la adición de bases diluidas a la biomasa y su eficiencia depende del contenido de lignina de los materiales. El hidróxido de sodio diluido

produce un hinchamiento, permitiendo un incremento en el área de superficie interna reduciendo el grado de polimerización y cristalinidad de la celulosa, lo que causa la separación de las uniones estructurales entre la lignina y los carbohidratos (Fan, *et al*, 1987). La utilización de bases permite la disolución de la lignina, pero sus costos son altos, haciendo estos métodos no competitivos a gran escala (Sun & Cheng, 2002). El pretratamiento alcalino tiene efectos similares al de los ácidos sobre la biomasa pero su desventaja es el largo tiempo de residencia y las sales formadas no son recuperables.

Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática de biomasa lignocelulósica ha recibido especial atención en la última década debido a su potencial para convertir la fracción celulósica de sustratos lignocelulósicos en azúcares reductores, incluyendo la glucosa (Jorgensen *et al.*, 2007).

La hidrólisis enzimática de almidones se realiza con la utilización de dos enzimas, las cuales forman la combinación necesaria para hidrolizar completamente al almidón. La alfa-amilasa (α -1,4-D- Glucaglucano-hidrolasa) hidroliza los enlaces glucosídicos α -1,4 de los polisacáridos que poseen 3 o más unidades de D-glucosa en unión α -1,4. El ataque se hace en forma no selectiva (tipo endoenzima) sobre varios puntos de la cadena simultáneamente, aunque los primeros productos de la hidrólisis son siempre oligosacáridos de 5-7 unidades de glucosa, o un número múltiplo. La amiloglucosidasa (Alfa-1,4-D glucanglucohidrolasa) es una exohidrolasa también conocida como glucoamilasa, que hidroliza los enlaces glucosídicos α -1,4 y α -1,6 de la amilosa y la amilopectina separando unidades de glucosa a partir del extremo no reductor de la cadena (Mera y Carrera, 2005). La hidrólisis enzimática comprende dos etapas: la licuefacción y la sacarificación.

1.2.2 Ventajas y desventajas de la hidrólisis enzimática

Las ventajas de la hidrólisis enzimática según Morales (2014):

- Las enzimas son de origen natural y por lo tanto no son tóxicas.
- La especificidad, versatilidad y eficiencia catalítica de las enzimas en la degradación del almidón aporta grandes cantidades de azúcares, que

requieren menor grado de purificación. Adicionalmente, según la elección del tipo de enzima o de la combinación de estas, se puede obtener un alto espectro de productos.

- Es un proceso seguro que satisface los requerimientos ambientales.
- Es de fácil arranque y operación.

Por otro lado, la hidrólisis enzimática presenta ciertos inconvenientes. Según Liscano (2014), estos son:

- el mayor tiempo de reacción
- alto costo de las enzimas
- el requerimiento de grandes reactores debido a la lentitud de la reacción
- la inhibición de la reacción por los azúcares liberados

1.2.3 Factores que afectan la hidrólisis enzimática

Las propiedades cinéticas de las enzimas dependen de factores como el pH y la temperatura óptimos, la termoestabilidad, la fuerza iónica y la concentración de sustrato y de cofactores (Espinel y López, 2009; Doss y Anand, 2012). El conocimiento de estos factores, así como de las propiedades físico-químicas de las enzimas, son importantes para obtener un buen rendimiento en la hidrólisis enzimática y en los procesos fermentativos subsiguientes. Otros factores que afectan el rendimiento hidrolítico del almidón, incluyen la viscosidad del medio, el tipo de almidón, el tiempo de reacción, la velocidad de agitación y el pretratamiento del sustrato (Azmi *et al.*, 2017).

Fuente de almidón

Las fuentes de almidón influyen en el grado de hidrólisis y la consecuente producción de azúcares reductores. El rendimiento de la hidrólisis del almidón varía según su fuente debido a la presencia de poros en las superficies del almidón que probablemente constituyan el centro de la degradación enzimática (Uthumporn *et al.*, 2010; Regy y Padmaja, 2013).

Concentración de sustrato y viscosidad

La concentración de sustrato es la cantidad de sustrato por solución total, mientras que la viscosidad es una propiedad de los fluidos que indica la resistencia al flujo. Ambas variables están relacionados mutuamente debido a que generalmente el aumento de la concentración de un sustrato disuelto o disperso conduce al aumento de la viscosidad. Particularmente, el almidón es un agente espesante que funciona para aumentar la viscosidad de un líquido sin que cambie sustancialmente sus otras propiedades. Wee *et al.* (2011) reportaron que a medida que aumentaba la concentración de sustrato, el rendimiento de azúcares reductores disminuyó debido a la alta viscosidad de la solución de almidón, con el consecuente pobre mezclado de las muestras. Uribe y Sampedro (2003) declararon que la viscosidad del solvente resulta en fricción contra las proteínas en solución, y esto resultaría en un movimiento disminuido así como en la inhibición de la catálisis. Además, la utilización de concentraciones de sustrato demasiado altas pueden provocar la formación de agregados que se unan de formas inespecíficas a la enzima o que no pueden ser reconocidos por la misma, con la consecuente disminución de la actividad enzimática (Copeland, 2000).

Concentración de enzima

La concentración enzimática es la cantidad de enzima utilizada por solvente total, y constituye un factor muy importante a tener en cuenta. Si la concentración de enzima es muy baja, la reacción se llevará a cabo a una velocidad muy baja y resultará en un bajo rendimiento hidrolítico. A su vez, si la concentración de enzima es muy alta, podría provocar una subutilización de la enzima y esto debe ser evitado debido a que las enzimas comerciales son caras. Además, la utilización de concentraciones enzimáticas muy altas pueden provocar la formación de agregados de enzimas con la consecuente disminución de la actividad enzimática (Copeland, 2000). Wee *et al.* (2011) observaron que el rendimiento de azúcares reductores aumenta a medida que aumenta la concentración enzimática hasta cierto punto, aumentos posteriores de la misma no afectan el rendimiento.

Temperatura

La temperatura es uno de los factores cruciales en la hidrólisis enzimática. Esto se debe a que a medida que aumenta la temperatura aumenta el rendimiento de azúcares reductores hasta cierto punto debido a que aumentan el número de colisiones entre el sustrato y la enzima, y por lo tanto, se requiere de menos tiempo para transformar la misma cantidad de sustrato (Amenaghawon *et al.*, 2016). Sin embargo, este comportamiento cambia bruscamente a temperaturas posteriores debido a que se afectan la estructura y estabilidad enzimática por desnaturalización (Copeland, 2000). Además, cada enzima tiene su propia temperatura óptima, que debe ser tomada en cuenta para obtener el mayor rendimiento de hidrólisis.

pH de la solución

El pH de una solución puede afectar a las enzimas al variar el estado de ionización de sus aminoácidos constituyentes, alterando así su estructura 3D (Khanna, 2010). A su vez, las propiedades estructurales y de carga del sustrato también pueden variar. Esto puede afectar, en ambos casos, el reconocimiento del sustrato y la catálisis. Además, cada enzima tiene su propio pH óptimo, que debe ser tomado en cuenta para obtener el mayor rendimiento de hidrólisis.

Tiempo y velocidad de agitación

El tiempo de reacción y la velocidad de agitación están relacionados mutuamente debido a que la agitación aumenta las colisiones entre el sustrato y la enzima, disminuyendo el tiempo requerido para completar la reacción (Tengborg *et al.*, 2001; Kaghazchi *et al.*, 2005). Sin embargo, Mussatto *et al.* (2008) encontraron que la velocidad de agitación no afectó significativamente el rendimiento de glucosa a partir de celulosa.

Pretratamiento del almidón

Algunas fuentes de almidón son resistentes tanto a digestiones microbianas como enzimáticas. El tamaño del gránulo es uno de los factores que contribuye a este fenómeno, y por lo tanto, se hace imprescindible un pretratamiento (O'Brien y Wang, 2008; Sunarti *et al.*, 2012).

1.3 Enzimas

Las enzimas son biopolímeros de aminoácidos que presentan actividad biocatalítica caracterizada por alta versatilidad, especificidad, eficiencia y control. Por lo tanto, las enzimas son herramientas muy importantes en la biotecnología, ingeniería química, tecnologías de los alimentos y en la agricultura.

Entre los muchos usos de las enzimas se encuentra la catálisis de la hidrólisis del almidón. Las principales enzimas que intervienen en este proceso son: alfa-amilasa, la beta-amilasa, la AMG y la pululanasa (Anto *et al.*, 2006).

1.3.1 Alfa-amilasa

Entre las enzimas hidrolíticas del almidón, la alfa-amilasa es una de las más importantes y la que más éxito comercial ha alcanzado. Se estima que el uso de la amilasa abarca un cuarto del mercado de enzimas (Saxena y Singh, 2011).

La alfa-amilasa, es una glucanasa endoactiva que cataliza la hidrólisis al azar de los enlaces α -(1,4) glicosídicos de la región central de las cadenas de amilosa y amilopectina, excepto en las proximidades de los puntos de ramificación (Suckling, 2012). La hidrólisis de la amilopectina por esta enzima produce glucosa, maltosa y una serie de dextrinas que contienen enlaces ramificados conformados por cuatro o más residuos de moléculas de glucosa que presentan enlaces α -1,6 provenientes de las uniones glicosídicas de la estructura original. Los productos obtenidos en mayor concentración son maltosa, maltotriosa y maltopentosa, hidrolizando completamente la maltohexosa (Damodara, 2015). Las amilasas tienen potencial aplicación en un amplio número de procesos de la industria textil, papelera, del detergente, farmacéutica y de fermentación. Sin embargo, con los avances de la biotecnología estas enzimas tienen expansión en muchos otros campos como la clínica, medicina y la química analítica (Rinku *et al.*, 2012; Sharanappa *et al.*, 2011). La aplicación más extendida de la alfa-amilasa está en la industria del almidón, la cual se utiliza para hidrolizar durante el proceso de licuefacción que convierte el almidón en jarabe de glucosa (Quintero *et al.*, 2010).

1.3.2 Amiloglucosidasa

Conocida como glucoamilasa o amiloglucosidasa (AMG) es empleada en la producción de jarabes glucosados, ya que tiene la capacidad de hidrolizar los enlaces α -1,4 de extremos no reductores de polisacáridos para la formación de glucosa. Esta enzima también posee la capacidad de hidrolizar enlaces α -1,6 a más baja velocidad, pudiéndose completar la hidrólisis de almidón con la combinación de las tres enzimas alfa-amilasa, pululanasa y AMG de manera completa (Pingyi, 2015)

El peso molecular de la AMG puede variar dependiendo de su fuente. Existen dos tipos de AMG, tipo I y II. Las AMG tipo II tienden a tener un peso molecular mayor a los 100 kDa. Las AMG tipo 1 poseen pesos moleculares cercanos a 60 kDa. El peso molecular de las AMG fúngicas también depende de la fuente. Para AMG formadas a partir de *Aspergillus niger*, su peso molecular se encuentra entre 60 y 70 kDa (Pornpong, 2014).

Curiosamente, la pululanasa, enzima desramificante, ha sido utilizada en algunos estudios para prevenir la reacción inversa de condensación de la glucosa catalizada por la AMG (Findrik *et al.*, 2010).

1.4 Tecnologías

La extracción de almidón de los tallos de yuca residuales para la obtención de azúcares simples se lleva a cabo a partir del método de hidrólisis enzimática con la utilización de las enzimas alfa-amilasa y AMG. Se demostró que dicha extracción varía con el tamaño de partícula (Zhu *et al.*, 2013).

Para llevar a cabo el proceso de extracción se realizan una serie de operaciones unitarias como son la molienda de los tallos de yuca, sedimentación y filtración.

Los tallos de yuca residuales de la variedad SC205 contienen un 30% de almidón (masa seca). Hasta el 15% del almidón de los tallos puede ser extraído utilizando técnicas simples basadas en agua, potencialmente conduciendo a un aumento del 87% en la producción global de almidón de yuca. La integración de la

producción de biocombustibles, utilizando residuos y aguas residuales de la extracción del almidón, puede rendir un valor agregado.

El rendimiento del almidón se desarrolla en dos posibles escenarios utilizando 37,5 t de raíces de yuca y 18,8 t de tallos, ambos en base seca (figura 1.3). El lodo de la producción de biogás y las cenizas remanentes después de la combustión de los residuos sólidos de los tallos de yuca, pueden ser reciclados como fertilizantes. Además, el agua filtrada después de la fermentación para biogás fue reutilizada en algunos procesos de la producción de almidón. Por lo tanto, las raíces de yuca utilizadas como biocombustibles y otros productos pueden ser reemplazadas por tallos de yuca sin expansión del área de cultivo, y haciendo las raíces de yuca accesibles como alimento para 30 millones de personas adicionales hoy en día (Zhu *et al.*, 2013). Otros autores también han obtenido resultados positivos en la utilización de los tallos de yuca sobre la raíz en este proceso (Gao *et al.*, 2012).

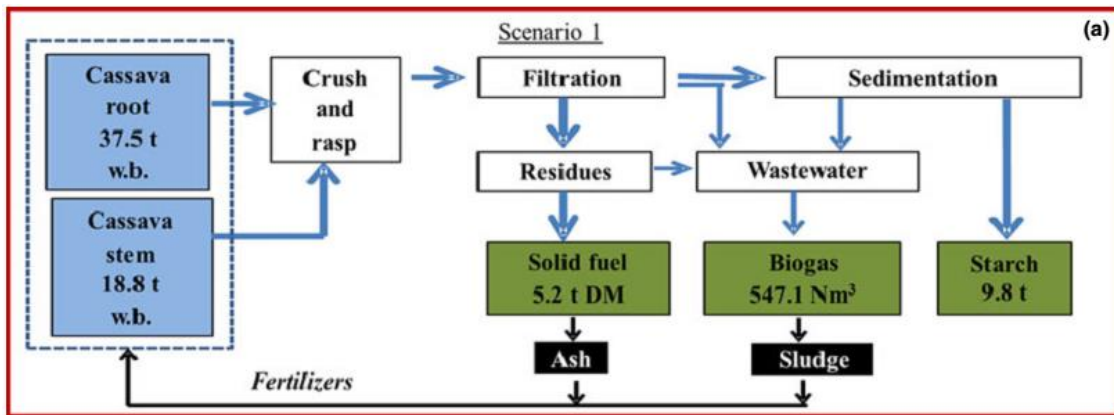


Figura 1.3a "Diagramas de flujos propuestos para la extracción de almidón". (a): escenario 1.

Fuente: Zhu *et al.*, 2015, p.81

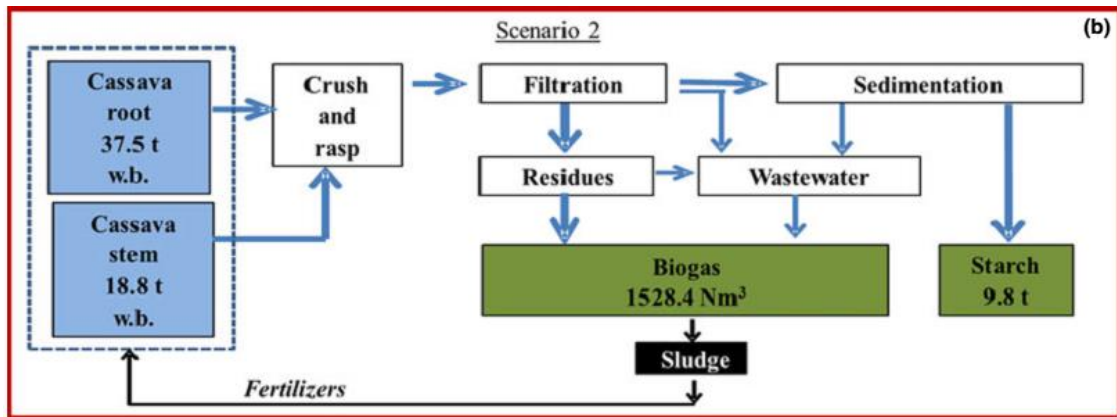


Figura 1.3b "Diagramas de flujos propuestos para la extracción de almidón". (b): escenario 2.

Fuente: Zhu *et al*, 2015, p.81

Pooja y Padmaja (2014) coinciden que la extracción de almidón utilizando técnicas simples basadas en agua representa un 15 % en los tallos y un 30% en la cáscara, constituyendo una mejor alternativa para la extracción del almidón. En la tabla 1.1 se presentan los valores promedios de la composición química de los tallos, hojas y cáscaras de la yuca, resultantes en este estudio.

Tabla 1.1 " Datos de composición (% base en peso seco) de las biomazas: tallos, hojas, y cáscaras de yuca".

Parámetros	Tallos de yuca	Hojas de yuca	Cáscaras de yuca
Almidón	15,00	2,43	29,84
Celulosa	22,80	17,30	14,17
Hemicelulosa	22,80	27,65	23,40
Lignina	22,10	20,10	10,88
Proteína cruda	3,68	19,96	5,29
Cenizas	1,90	2,50	3,70

Fuente: Pooja y Padmaja, (2014, p.58)

1.4.1 Descripción del proceso tecnológico de obtención de concentrado proteico

Se describe a continuación los aspectos esenciales de cada una de las etapas en la que consta el proceso de obtención de concentrado proteico base levadura *Torula* a partir de materias primas convencionales amiláceas (maíz, boniato, yuca amarga), y además afrecho de trigo y combinaciones de las mismas. Dicho proceso se puede ver en el anexo 1

Etapas de preparación de la materia prima.

La materia prima requiere ser lavada para eliminar la suciedad porque esta interfiere negativamente en el proceso. Posteriormente, es necesario un tratamiento térmico para disminuir la humedad con el fin de facilitar la molienda.

Etapas de hidrólisis enzimática.

El objetivo de la hidrólisis enzimática es transformar el almidón presente en la materia prima. Se requiere la adición de agua, cloruro de sodio (NaCl), las enzimas alfa-amilasa y AMG. Posteriormente, se adiciona vapor directo para aumentar la temperatura, de forma tal que esta se mantenga controlada y no afecte la actividad enzimática. Se controla pH.

Etapas de fermentación.

El objetivo de la etapa de fermentación es que el microorganismo (*Cándida utilis*) se reproduzca y crezca de forma aeróbica, con el correspondiente incremento de la biomasa. Al inicio del proceso fermentativo, se adicionan el inóculo y los nutrientes. Se controla el pH.

Etapas de termólisis y concentración.

Los objetivos fundamentales de la etapa de termólisis y concentración son primeramente finalizar el crecimiento del microorganismo, y después concentrar la biomasa hasta eliminar el agua necesaria para obtener un producto con 80% de sólidos en la suspensión.

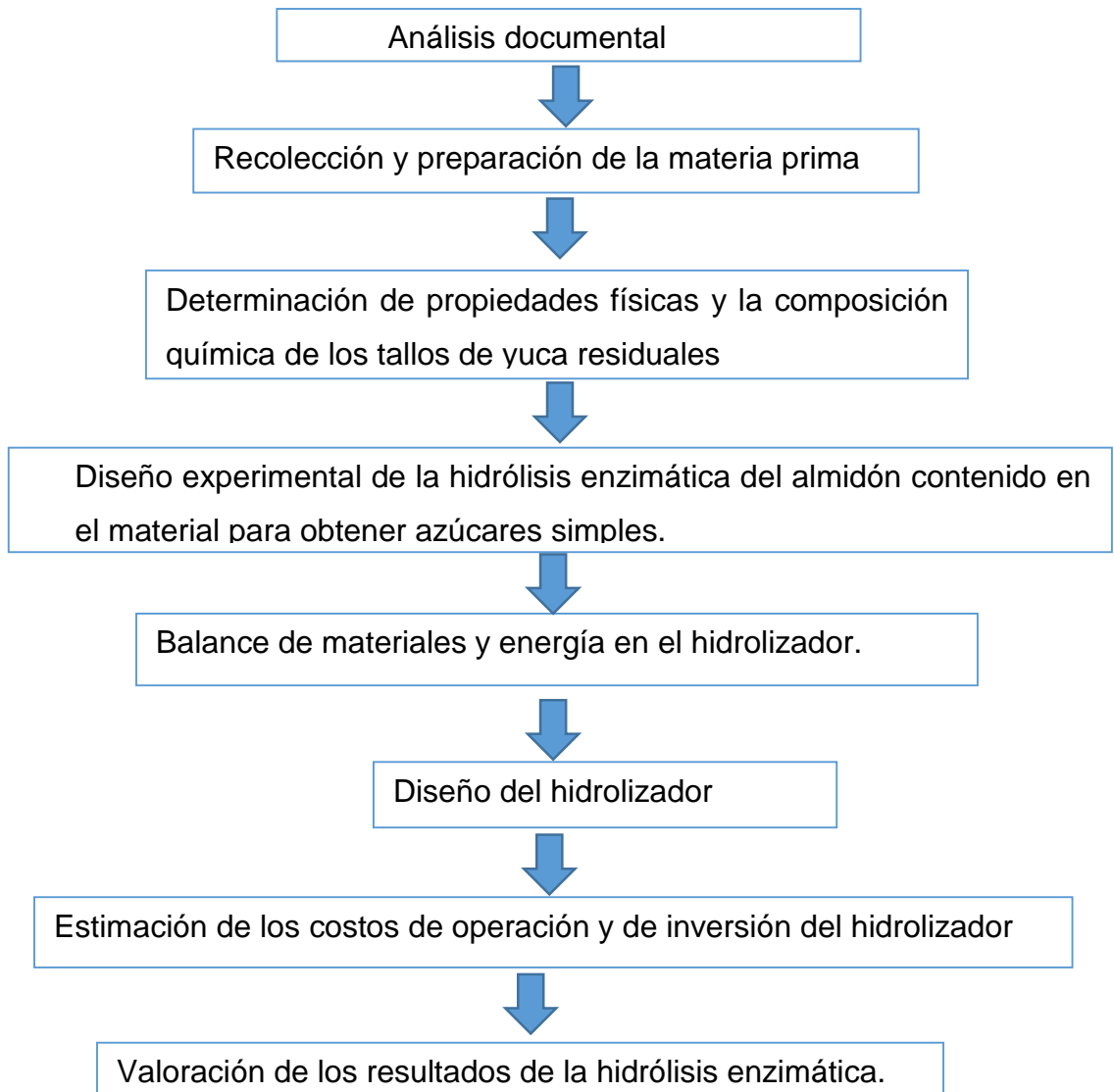
1.5 Conclusiones parciales del capítulo

1. Los tallos de yuca son residuos agrícolas con potencial para la producción de alimento animal debido a su alta disponibilidad, alto contenido de carbohidratos y bajo costo.
2. Las yucas amargas por su mayor rendimiento, mejor calidad de almidón y ser no comestibles por los humanos son apropiadas para la producción de alimento animal.
3. Los factores más importantes de la hidrólisis enzimática del almidón a considerar en el presente trabajo son: el tiempo de reacción, la fuente de almidón, su pretratamiento y la velocidad de agitación.
4. La tecnología para la obtención de concentrado proteico a partir de tallos de yuca residuales es una alternativa prometedora sobre las materias primas amiláceas convencionales.

CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente capítulo se describen los procedimientos y técnicas utilizadas en la investigación. El trabajo experimental se desarrolló en el laboratorio del Grupo de Biorrecursos del Departamento de Química e Ingeniería Química de la Universidad de Matanzas en la Sede “Camilo Cienfuegos y en la UEB España Republicana de LABIOFAM.

2.1 Etapas de la investigación.



2.2 Análisis documental

Se realizó el análisis documental pertinente y se visitó el Ministerio de la Agricultura Provincial donde se consultó el reporte de las siembras de yuca en la provincia en la campaña 2016-2017, se constata las variedades de yuca más cosechadas y su distribución por municipio. Se muestra en el anexo 2.

2.3 Recolección y preparación de la materia prima

Los tallos de yuca (C-74-725) se recolectaron en UBPC "Ceiba Mocha" en diciembre de 2017. El suelo es de tipo ferralítico rojo y la cosecha dura entre 12-14 meses. Los tallos frescos se cortaron en trozos de 10 cm de longitud y se secaron al sol durante 1 semana, luego se secaron en estufas durante 2 días a 60 °C, a continuación se trituraron en un molino artesanal de tipo martillo hasta un tamaño de partícula de 2 mm aproximadamente. Posteriormente se tamizó en un juego de tamices hasta un tamaño inferior a 0.5 mm. Para la determinación de la composición química de la materia se utilizaron las fracciones de 1 mm y para la hidrólisis las de 0.5 mm. Las fracciones retenidas en cada tamiz fueron conservadas en bolsas de polietileno a temperatura ambiente.

2.4 Determinación de las propiedades físicas y la composición química de los tallos de yuca residuales

2.4.1 Caracterización física de los tallos de yuca

Los tallos una vez recolectados y separados de la raíz, fueron cortados a partir de los 40-110 cm de longitud aproximadamente, ya que de 70-100 cm es donde existe mayor contenido de almidón (Zhu, *et al*, 2013).

Para determinar la densidad de los tallos de yuca se tomaron 11 trozos de tallos frescos sin previo secado, se les determinó el volumen por inmersión en una probeta de 1L. Se pesaron en balanza técnica de sensibilidad de 0,01g.

Estos valores se procesan estadísticamente en el software Statgraphics plus versión 5.

Es necesario determinar cuántas veces la variedad es capaz de absorber su peso en agua, por lo que se tomaron 10 g de tallo triturado y tamizado de tamaño de partícula de 1mm y de 0.5 mm y se le incorporó agua destilada hasta que se mojó todo el material, esto se hace con el fin de ajustar los rangos de la relación líquido-sólido para el diseño de experimento.

2.4.2 Composición química de los tallos de yuca

La materia se caracterizó según el contenido de humedad, las cenizas, sustancias extractivas, carbohidratos estructurales y la lignina a partir de los procedimientos analíticos de la Academia Forestal de San Petersburgo, Rusia (Obolenskaja, 1986), actualizados a partir de protocolos del *National Renewable Energy Laboratory* de los EE.UU. (Sluiter *et al.*, 2008a).

- **Humedad**

El material se secó en una estufa de tipo durante 24h para garantizar peso constante, el contenido de humedad se determinó gravimétricamente en una balanza analítica.

- **Cenizas**

Se determinó con el material previamente seco resultante de la prueba de humedad. Se determinó después de la incineración del material a 550 °C en un horno mufla analógica con control térmico.

- **Extractivos en etanol**

Se tomaron 5 g de la materia prima y se colocaron en un aparato Soxhlet de 75 mL y se realizó la extracción con 160 mL de etanol al 95% durante 1 día utilizando un baño María para calentar. Al concluir la extracción el dedal con los sólidos residuales se lavó con etanol y se secó al aire por 2 días y luego en estufa a 40 °C por 24 h. El etanol fue separado del extracto por rotoevaporación. El balón con el extracto secó a 40°C por 24 h, y posteriormente se cuantificó gravimétricamente.

- **Polisacáridos fácilmente hidrolizables (PFH)**

La determinación de los polisacáridos fácilmente hidrolizables nos da una medida del contenido de hemicelulosa presente en el material, para ello se realizó la siguiente técnica analítica:

Se basa en el método de análisis gravimétrico por solubilización de las hemicelulosas. En un balón esmerilado de 100 mL se mezclaron 2 g de muestras libres de extractivos con 20 mL de ácido clorhídrico al 5 % en masa. La mezcla se agita cuidadosamente durante 30 minutos. Se refluja durante 3 h en baño María luego se filtra al vacío y el residuo sólido se seca a 105°C durante 24 h y se pesa.

$$PFH = \frac{(m_0 - m_1)}{m_0} \times 100 \quad (2.1)$$

Donde:

m_0 : masa inicial de la muestra, (g)

m_1 : masa del residuo, (g)

El contenido de PFH también fue determinado a partir de los azúcares reductores totales en el filtrado.

- **Polisacáridos difícilmente hidrolizables (PDH)**

La determinación de los polisacáridos difícilmente hidrolizables nos dice que cantidad de celulosa tiene el material, para ello se realizó la siguiente técnica analítica:

El método se basa en el análisis gravimétrico por solubilización de la celulosa. Se pesa el residuo obtenido en la determinación de polisacáridos fácilmente hidrolizables en un vaso de precipitado de 100 mL. Se mezcla con 15 mL de ácido sulfúrico al 72% y se agita periódicamente durante 2 h a temperatura ambiente. Luego se transfiere la mezcla cuantitativamente a un balón esmerilado de 500 mL. Se añade 135 mL de agua destilada y se calienta a reflujo durante 2 h en baño María. Se filtra a vacío y el residuo sólido se seca y se pesa.

$$PDH = \frac{(m_2 - m_3)}{m_0} \times 100 \quad (2.2) \text{ Donde:}$$

m_0 : masa inicial de la muestra, (g).

m_2 : masa inicial del residuo de la determinación de PFH, (g).

m_3 : masa final del residuo de este proceso, (g).

El contenido de PDH también fue determinado a partir de los azúcares reductores totales en el filtrado.

- **Lignina**

Se determinó mediante la cuantificación gravimétrica del residuo obtenido en la determinación de PDH. El contenido de lignina se calculó utilizando la siguiente expresión:

$$\% \text{ Lignina} = \frac{m_3}{m_0} \times 100 \quad (2.3)$$

Donde:

m_0 : masa inicial de la muestra, (g).

m_3 : masa final del residuo de la determinación de PDH, (g).

2.5 Diseño experimental de la hidrólisis enzimática a los tallos de yuca

Este procedimiento se realiza para determinar la convertibilidad enzimática del almidón contenido en el material para su transformación en azúcares simples.

Para cuantificar la conversión del almidón nativo procedente de los tallos de yuca residuales se siguió la metodología planteada por Martín *et al.* (2017).

En la experimentación, las variables fijadas fueron:

- Temperaturas óptimas para la alfa-amilasa y la AMG (85°C y 60°C, respectivamente)
- pH óptimos para la alfa-amilasa y la AMG (5.8 y 4.5, respectivamente)
- Dosis de las enzimas (0,8 mg/g de almidón para ambas) (Herrera, 2014)
- Tamaño de partícula (entre 0.5 mm y 1 mm) (Zhu *et al.*, 2013)
- Tiempo de hidrólisis (24 h).

Se confeccionó un diseño de experimento de compuesto central elaborado por el software *Statgraphics plus versión 5.0 para Windows*, además se incluyó la aleatoriedad de los experimentos, de forma tal que se pudiera garantizar la repetibilidad de los mismos. Se realizaron 3 réplicas.

Las variables que componen el diseño se fijaron en los siguientes rangos:

Velocidad de agitación ($V_{\min}=300\text{rpm}$ y $V_{\max.}=600\text{rpm}$)

Relación líquido – sólido ($RLS_{\min}=10$ y $RLS_{\max.}=15$)

A continuación se muestra en la tabla 2.1, la combinación de las variables para la realización de cada uno de los experimentos.

Tabla 2.1 Condiciones del diseño experimental

Corridas	Velocidad de agitación (rpm)	RLS
1	300	15.0
2	300	10.0
3	450	9.00
4	600	15.0
5	450	12.5
6	450	16.0
7	662	12.5
8	600	10.0
9	240	12.5
10	450	12.5

Fuente: Elaboración propia

Para realizar la conversión del almidón se realiza el siguiente procedimiento según (Martín, *et.al.* 2017):

1. Mezclar los tallos pesados previamente con la cantidad de agua destilada según el diseño
2. Ajustar el pH a 5.8
3. Encubar por 15 minutos a 85 °C
4. Añadir la enzima termoestable α -amilasa
5. Mantener 2h con esta enzima
6. Refreshar la mezcla hasta 60 °C
7. Ajustar el pH a 4.5
8. Transcurrido 15 minutos añadir la AMG y mantener por 24h
9. Filtrar

10. El líquido se conserva en frío para determinar el contenido ART

11. El sólido se seca, se pesa para determinar el rendimiento de sólidos

La variable respuesta para este diseño es los azúcares reductores y se analizó, además, el rendimiento de sólidos

Para determinar la cantidad de azúcares reductores obtenidos se toman muestras del líquido extraído del hidrolizado y se lee en espectrofotómetro.

Azúcares reductores totales

La concentración de azúcares reductores totales (ART) se determinó colorimétricamente por el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNSA) como desarrollador de color. La absorbancia se leyó a 540 nm en un espectrofotómetro. Para procesar los resultados se utiliza el paquete *Statgraphics Plus versión 5.0 for Window*.

Los valores obtenidos se ajustaron por mínimos cuadrados y se obtuvo la ecuación de la recta mejor ajustada a los valores experimentales de la curva patrón, mediante la cual se calcularon las concentraciones de las muestras. Ver anexo 2.

Rendimiento de sólidos

Para determinar el rendimiento de cada experimento se utilizó la ecuación:

$$\% \text{Rendimiento} = 100 * \frac{(M_{\text{final}})}{M_{\text{inicial}}} \quad (2.4)$$

Donde:

m_{final} : masa final después de la hidrólisis (g)

m_{inicial} : masa inicial (g).

Para ello, se pesó el sólido resultante de cada experimento, previamente secado, así como el material lignocelulósico inicial seco.

2.6 Balance de materiales y de energía en el hidrolizador

2.6.1 Balance de masa

Para conocer el volumen que ocupa toda la mezcla a hidrolizar se hace necesario establecer la relación líquido – sólido (RLS) con que ocurre la hidrólisis enzimática

mediante la adición de la alfa-amilasa y amiloglucosidasa. Para esto se fija RLS= 13

De aquí que:

$$F_{agua} = RLS \cdot F_{tallos} \quad (2.5)$$

Donde:

F_{agua} : flujo de agua cruda para hidrolizar, (kg/día).

La masa de almidón se determina por la siguiente ecuación:

$$m_{almidón} = MS \cdot X_{alm} \quad (2.6)$$

Donde:

MS : masa seca, (kg/h)

$m_{almidón}$: masa de almidón, (kg/h)

X_{alm} : Fracción de almidón

Según Herrera y Pons la transformación de almidón a glucosa es de 1,11 por lo que la masa de glucosa puede calcularse por la siguiente ecuación

$$m_{glucosa} = m_{almidón} \cdot 1,11 \quad (2.7)$$

Donde:

$m_{glucosa}$: masa de glucosa, (kg/h)

Cálculo de dosificación de enzimas

En la etapa de hidrólisis se añaden dos enzimas, en primer lugar la alfa-amilasa y posteriormente la AMG, es necesario establecer la cantidad de enzima a emplear, por lo que se usa la relación de 0.8 g de enzima/kg almidón a hidrolizar.

Entonces:

$$m_{enz} = 0,8 \text{ g} \cdot m_{almidón} \quad (2.8)$$

Donde:

m_{enz} : masa de enzima a agregar al hidrolizador, (kg/h).

2.6.2 Balance de energía

Durante la hidrólisis es necesario garantizar la temperatura para que ocurra adecuadamente la actividad de las enzimas, por lo que se calcula el flujo de vapor necesario en el hidrolizador para mantener estables dichas condiciones.

$$m_s \cdot cp_s \cdot T_s + m_v \cdot h_v = m_s \cdot cp_s \cdot T_F + m_v \cdot h_L \quad (2.9)$$

Donde:

m_s : flujo de la suspensión, (kg/h).

cp_s : capacidad calórica de la suspensión, (kJ/kg °C).

T_s : temperatura de la suspensión, (°C).

m_v : flujo de vapor, (kg/h).

h_v : entalpía del vapor, (kJ/kg).

h_L : entalpía del líquido, (kJ/kg).

m_f : flujo a la salida del equipo, (kg/h).

T_F : temperatura final, (°C).

Para calcular el flujo de la suspensión se emplea la expresión siguiente:

$$m_s = F_{tallos} + F_{agua} \quad (2.10)$$

Donde

F_{tallos} : flujo de tallos, (kg).

F_{agua} : flujo de agua, (kg).

Para calcular la capacidad calórica de la suspensión se emplea la ecuación siguiente:

$$cp_i = 4,18 \cdot (1 - X_i) \quad (2.11)$$

Donde:

Cp_i : capacidad calorífica de cualquier suspensión, (kJ/kg °C).

X_i : fracción de sólidos en la suspensión.

La fracción de sólidos en la suspensión se calcula por la siguiente expresión:

$$X_s = \frac{MS}{F_{tallos} + F_{agua}} \quad (2.12)$$

Los valores de entalpía se extraen de las tablas de Keenan *et al.*, (1988), de las tablas 1 y 2. En el caso de usar la tabla 1 se necesita la temperatura de la suspensión y la tabla 2 la presión del vapor.

2.7 Diseño del hidrolizador

Una vez que se tiene el valor del flujo de agua para que ocurra la hidrólisis, se hace necesario determinar el volumen que ocupa, para ello se utiliza el valor de

densidad calculado anteriormente. Con este volumen y el volumen que ocupan los tallos se calcula el volumen de la suspensión a hidrolizar, para ello se usan las expresiones siguientes:

$$V_{agua} = \frac{F_{agua}}{\rho_{agua}} \quad (2.13)$$

Donde:

V_{agua} : volumen de agua cruda para hidrolizar, (m^3).

ρ_{agua} : densidad del agua cruda para hidrolizar, (kg/m^3).

$$V_s = V_{tallos} + V_{agua} \quad (2.14)$$

Donde:

V_s : volumen de la suspensión en el hidrolizador, ($m^3/día$).

Utilizando la heurística 9.6 del Turton (1998), el volumen anterior calculado y el número de hidrolizadores fijado se llevará a cabo el diseño del equipo.

- Determinar el diámetro y la altura de los tanques.

Las dimensiones se calculan partiendo de la ecuación siguiente:

$$V = \frac{\pi \cdot D^2}{4} \cdot H \quad (2.15)$$

Donde:

V : volumen del tanque, (m^3).

D : diámetro del tanque, (m).

H -altura del tanque (m).

- Selección del material de construcción de los tanques.

El material de construcción debe ser resistente a la corrosión y baratos para disminuir los costos de inversión.

Un elemento fundamental en el proceso es el agitador ya que la velocidad de agitación es un parámetro del diseño, por lo que se usa la metodología del Rosabal y Valle (2006), en la cual se siguen los siguientes pasos para la adecuada selección del mismo.

- Selección del agitador

Para la correcta selección del agitador es necesario conocer las propiedades físicas de la suspensión, siempre teniendo en cuenta el consumo de potencia y si es eficiente.

- Determinar las dimensiones del agitador.

Las dimensiones del agitador se calculan mediante los datos que brinda la tabla 21 del apéndice.

Donde:

d/D: relación diámetro del agitador – diámetro del tanque.

Z: número de hélices.

A: ángulo de inclinación

- Determinar la potencia que requiere el agitador.

La potencia que consume el agitador se calcula por la ecuación siguiente:

$$N = K_N \cdot \rho_s \cdot n^3 \cdot d^5 \quad (2.16)$$

Donde:

N: potencia de agitación, (W).

K_N: número de potencia.

ρ_s: densidad de la suspensión, (kg/m³).

n: velocidad de rotación del rodete, (s⁻¹).

Como el tanque se diseñó con un criterio de altura del líquido diferente al diámetro (H ≠ D) es posible usar la figura 9.7, para calcular el valor de K_N. Pero es necesario multiplicar el valor obtenido por el término (H/D)^{0.5}.

Para hacer uso de este gráfico es necesario calcular el Reynolds modificado:

$$Re_m = \frac{n \cdot d^2 \cdot \rho_s}{\mu_s} \quad (2.17)$$

Donde:

Re_m: Reynolds modificado.

μ_s: viscosidad de la suspensión.

Para realizar los cálculos correspondientes a la potencia es necesario conocer las propiedades físicas de la suspensión, las cuales se calculan por las siguientes ecuaciones:

$$\frac{1}{\rho_s} = \frac{x}{\rho_p} + \frac{1-x}{\rho_l} \quad (2.18)$$

$$x = \frac{m_p}{m_s} \quad (2.19)$$

$$\varphi = \frac{x \cdot \rho_l}{(\rho_p - (\rho_p - \rho_l) \cdot x)} \quad (2.20)$$

$$\mu_s = \mu_l \cdot (1 + 2,5 \cdot \varphi) \quad (\text{Para } \varphi \leq 0,1) \quad (2.21)$$

$$\mu_s = \mu_l \cdot \frac{0,59}{(0,77 - \varphi)^2} \quad (\text{Para } \varphi \leq 0,3) \quad (2.22)$$

Donde:

ρ_p : densidad del sólido, (kg/m³).

ρ_l : densidad del líquido, (kg/m³).

X: fracción másica de sólido.

m_p : masa de sólido, (kg).

m_s : masa de la suspensión, (kg).

Φ : fracción de volumen del sólido en la suspensión.

μ_l : viscosidad del líquido, (kg/m s).

2.7.1 Estimación del costo de inversión y de operación del hidrolizador

Para la estimación del costo de inversión se utiliza el *software Capcost 2008* actualizado para el año 2017, con un índice de costo de \$ 567.5

Además se necesita saber las ganancias en esta etapa del proceso para ello se utiliza la siguiente ecuación:

$$G = Vp - Cp \quad (2.23)$$

Donde:

G: ganancia, (\$/a)

Vp: valor de la producción, (\$/a)

Cp: costo de producción, (\$/a)

El valor de la producción se determina de la siguiente manera:

$$Vp = p_{up} \cdot N \quad (2.24)$$

Donde:

Vp: valor de la producción (\$/a)

Pup: precio unitario del producto (\$/kg), según tiene un valor de 2.587 \$/kg

N: volumen de producción (kg/a)

El costo de producción no es más que la sumatoria del costo de las materias primas, el costo de las utilidades y la amortización.

Las materias primas en la etapa son: los tallos de yuca y las enzimas, para determinar el costo de la materia prima se utiliza la siguiente ecuación:

$$C_{mp} = C_{tallo} + C_{enz} \quad (2.25)$$

Donde:

C_{mp}: costo de materias primas, (\$/)

C_{tallo}: costo de los tallos de yuca (\$

C_{enz}: costo de las enzimas

Para calcular el costo de los tallos y las enzimas se emplea la siguiente expresión:

$$C_{mat} = c.u.mat \cdot F_{mat} \quad (2.26)$$

Donde:

C_{mat}: costo del material a emplear (tallos, enzima)

c.u. mat: costo unitario del material a emplear

F_{mat}: cantidad de material a utilizar

El precio unitario de los tallos es de 0.01 \$/kg, según Iglesias (2016) y para las enzimas 23.5 \$/kg de alfa-amilasa y 23.73 \$/kg el de la amiloglucosidasa, según Hereira (2012)

Las utilidades empleadas en el proceso se encuentran: agua, vapor y electricidad. Para determinar los costos de las mismas se emplean las siguientes ecuaciones:

Costo del agua:

$$C_{agua} = c.u.agua \cdot F_{agua} \quad (2.27)$$

Donde:

C_{agua}: costo del agua

c.u.agua: costo unitario del agua, según Hereira (2012) es de 0.01\$/kg

F_{agua}: flujo de agua a utilizar

Costo de la electricidad:

$$C_{elect} = c.u.elect \cdot N \quad (2.28)$$

Donde:

C elect: costo de la electricidad

c.u.elect: costo unitario de la electricidad, según Hereira (2012) utiliza el valor es de 0.06 KW-h

N: potencia del agitador

Costo del vapor:

$$C \text{ vapor} = c. u. \text{ vapor} \cdot F \text{ vapor} \quad (2.29)$$

Donde:

C vapor: costo del vapor

c.u. vapor: costo unitario del vapor, según Hereira (2012) es de 4 \$/t

F vapor: flujo de vapor

Para determinar la amortización se fija un tiempo de vida útil del equipo de 10 años, de este modo la misma se calcula por la siguiente ecuación:

$$A = \frac{I}{td} \quad (2.30)$$

Donde:

A: amortización

I: inversión calculada por el Capcost 2008.

td: tiempo de vida útil del equipo

El análisis económico se realiza para la variedad C-74-725 y para la variedad Señorita.

2.8 Valoración de los resultados de la hidrólisis enzimática.

Para la utilización del hidrolizado de tallos de yuca residuales en la fermentación con *Cándida utilis* para la alimentación animal, es necesario una concentración de azúcares reductores de entre un 20-30 g/L. Partiendo de que este estudio dio una concentración de 2 g/L, se evaluaron combinaciones de tallos de yuca con otros residuos (maicena de rechazo y raíz de yuca).

Balance de materiales con combinaciones de las materias primas

Se realizan balances de materiales para las variedades C-74-725 y Señorita como caso base y posteriormente se realizan mezclas de los materiales auxiliares mencionados en distintas proporciones:

- 40 % de tallo de yuca residuales; 50 % de raíz de yuca; 10 % de maicena
- 35 % de tallo de yuca residuales; 50 % de raíz de yuca; 15 % de maicena
- 25 % de tallo de yuca residuales; 50 % de raíz de yuca; 25 % de maicena
- 15 % de tallo de yuca residuales; 50 % de raíz de yuca; 35 % de maicena

Se fija como base de cálculo la obtención de 100 kg de biomasa, lo que representa 200 kg de glucosa para un rendimiento del 50%, a la vez esto significa un total de 180.18 kg de almidón para 1.11 rendimiento según Herrera (2014). El balance de agua se realiza sobre la base de obtener una concentración de 20 g/L.

Con el fin de economizar las materias primas se realizan combinaciones de las mismas para garantizar que el producto final a obtener en la etapa de fermentación cumpla con la proteína bruta. Este indicador debe cumplirse para que se pueda clasificar como un material voluminoso.

Para calcular el porcentaje de proteína bruta se utiliza la siguiente ecuación:

$$\% Pb = \frac{P}{Ms\ t} \quad (2.31)$$

Donde:

%Pb: porcentaje de proteína bruta

P: proteína para 100kg de biomasa

Ms t: masa de sólidos totales

La proteína se determina:

$$P = 0.5 \cdot m_{biom}$$

Donde:

m_{biom} : masa de biomasa

CAPÍTULO III: ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

El presente capítulo se realizará un análisis de los resultados obtenidos en la investigación según las etapas planteadas en el capítulo II

3.1 Análisis documental

En análisis documental se puede tener constancia de que la siembra de yuca se lleva a cabo en todos los municipios de la provincia de Matanzas, predominan cuatro variedades representando un total de 1276.4 ha, lo cual se refleja en el anexo 3, de las cuales las más representativas son C-74-725 y Señorita. La variedad utilizada (C-74-725) representa un tercio del total recolectado en los municipios de Colón, Perico, Martí, Cárdenas y Jovellanos que son los más cercanos al Central España Republicana y viene dado por un valor de 425 ha.

Si se considera un rendimiento de 20 t/ha y que se generan 170 kg de tallos/t de yuca, esto representa un valor anual de 1445 t/a. de esta cantidad no se aprovecha el 80% por lo que se puede procesar 1156t/a. Suponiendo que la planta trabaja 300 d/a tenemos un flujo diario de 3850kg.

3.2 Propiedades físicas y composición química de los tallos de yuca residuales

3.2.1 Propiedades físicas

El anexo 4 refleja los resultados de la determinación de masa, volumen y densidad de cada uno de los trozos de tallos evaluados.

La tabla 3.1 muestra el análisis estadístico realizado a las variables masa, volumen y densidad de los tallos de yuca.

Tabla 3.1: Resumen de la caracterización estadística

Parámetros estadísticos	Masa (g)	Volumen (mL)	Densidad (kg/m ³)
Media	33.6591	58.6364	573
Desviación estándar	10.6715	15.015	0,119822
Varianza	113.882	225.455	0,0143
Rango	35.57 (18-53)	50 (40-90)	0.36 (360-734.2)
Coficiente de Curtosis	-0.1021	0.4747	-0,5597
Coficiente de asimetría	0.542	1.4605	-0.6623
Coficiente de variación (%)	31.7048	25.6072	20.8892

Fuente: Elaboración propia

Como puede observarse, las tres variables siguen una distribución normal pues cumplen con los coeficientes de Curtosis y de asimetría (rango de -2 y 2). Además, todos los histogramas de frecuencia tienen la forma de una curva gaussiana (Anexos 5). Todos los coeficientes de variación presentan un valor elevado, lo que significa que la dispersión de los datos es alta. Esto es lógico ya que todos los tallos muestreados no tienen ni el mismo peso ni la misma forma y fueron seleccionados aleatoriamente.

A su vez, los tallos de yuca triturados y tamizados fueron capaces de absorber 7 veces su peso. Este resultado (variedad C-74-725) es superior en una unidad al obtenido para la variedad de yuca Señorita (Orozco, 2015).

3.2.2 Composición química

En el procesamiento de los tallos se mide la humedad, pues los resultados se reportan en base seca. La media de las 3 réplicas arrojó un valor de 18%.

Para determinar la composición química de los tallos de yuca en base seca, se llevó a cabo una secuencia de técnicas analíticas, incluyendo la determinación de cenizas, extractivos, polisacáridos fácil y difícilmente hidrolizables (hemicelulosa y celulosa, respectivamente), y lignina.

Tabla 3.2: Composición química de los tallos de yuca

Componentes	Contenido (% en masa)
Celulosa	33.12
Hemicelulosa	37.71
Lignina	13.19
Extractos totales	7.87
Cenizas	8.11

Fuente: Elaboración propia

Como se puede observar los carbohidratos totales representan el 70% de la composición química de los tallos. Según Orozco (2015) el porcentaje de carbohidratos totales en la variedad Señorita representa alrededor del 68 %, este valor es cercano al obtenido para la variedad estudiada. Según Han (2011) los polisacáridos totales representan un 60 % este valor es inferior al obtenido tanto para la variedad estudiada como para Señorita.

Para Orozco (2015) la lignina es de 21.52 %, mientras Han (2011) plantea que esta es de 33.8%. Ambos valores son muy superiores a los obtenidos para la variedad C-74-725.

En cuanto a los extractivos totales, Orozco (2015) reporta un valor de 5.72 %. Este valor es ligeramente inferior al determinado experimentalmente.

Según Orozco (2015) las cenizas tienen un valor del 5.1%, Han (2011) reporta un valor de 2.2 % mientras que Martín (2007) plantea 8%, valor que coincide al obtenido para la variedad estudiada.

La variabilidad de los datos puede estar dada por la influencia de otros factores como lo son: la variedad de los tallos, tiempo de cosecha, lugar de siembra, el clima y el suelo.

3.3 Diseño experimental de la hidrólisis enzimática de los tallos de yuca residuales

En el diseño experimental se analizaron dos variables: la relación líquido-sólido y la velocidad de agitación. Los resultados de los azúcares reductores totales se pueden apreciar en la tabla 3.3

Tabla 3.3: Resultados del diseño experimental de azúcares reductores totales y rendimiento sólidos

RLS	Velocidad de agitación(rpm)	ART (g/L)	Rendimiento
15.0	300	1.0420	93.6249
10.0	300	1.7413	90.1156
9.0	450	1.4215	95.9122
15.0	600	2.2600	73.0115
12.5	450	2.1570	80.8192
16.0	450	1.8676	91.0587
12.5	662	1.6892	95.8195
10.0	600	1.9797	94.0975
12.5	240	1.1213	92.1403
12.5	450	2.1570	81.1389

Fuente: Elaboración propia

Los valores reportados de azúcares reductores totales como resultados de la hidrólisis enzimática a las condiciones del diseño son bajos, lo que está

relacionado con la concentración del sustrato. Se infiere que el contenido de almidón presente también es bajo e inferior a lo reportado por Orozco (2015).

Existe correspondencia en gran medida entre los valores de rendimientos de sólidos totales y la concentración de azúcares reductores. Para valores donde se obtiene mayor cantidad de azúcares el rendimiento es menor, esto tiene un comportamiento lógico porque a menor rendimiento la transformación de almidón a glucosa va a ser mayor.

A pesar de que el comportamiento de los rendimientos de sólidos es lógico, puede existir alguna pérdida debido a la técnica analítica utilizada, de aquí que los resultados tengan un margen de error mayor. Por ende, se considera como variable respuesta en el procesamiento estadístico del diseño los azúcares reductores totales.

A continuación se muestra el comportamiento estadístico del diseño experimental. El diagrama de Pareto (figura 3.1) muestra la influencia de las variables velocidad de agitación y relación líquido-sólido, así como la interrelación entre ellas.

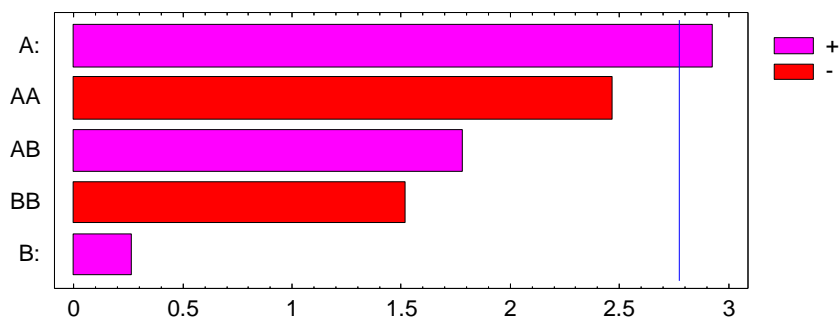


Figura 3.1: Diagrama de Pareto para velocidad de agitación (A: velocidad de agitación; AA: velocidad de agitación al cuadrado; AB: interrelación entre la velocidad de agitación y la relación líquido - sólido; BB: relación líquido - sólido al cuadrado; B: relación líquido-sólido).

En el diagrama se observa que la variable de mayor influencia estadística es la velocidad de agitación. El valor de la probabilidad para este caso es menor que 0.05 ya que se trabaja con un 95 % de confianza, se evidencia la confiabilidad de los datos. Desde el punto de vista práctico también es necesario seleccionar adecuadamente la relación líquido-sólido, ya que esta se afecta tanto por la absorción de agua del material como por evaporación.

En el gráfico de superficie respuesta (figura 3.2) se obtiene un valor óptimo para la combinación de una velocidad de agitación de 530 rpm y una relación líquido-sólido de 13.

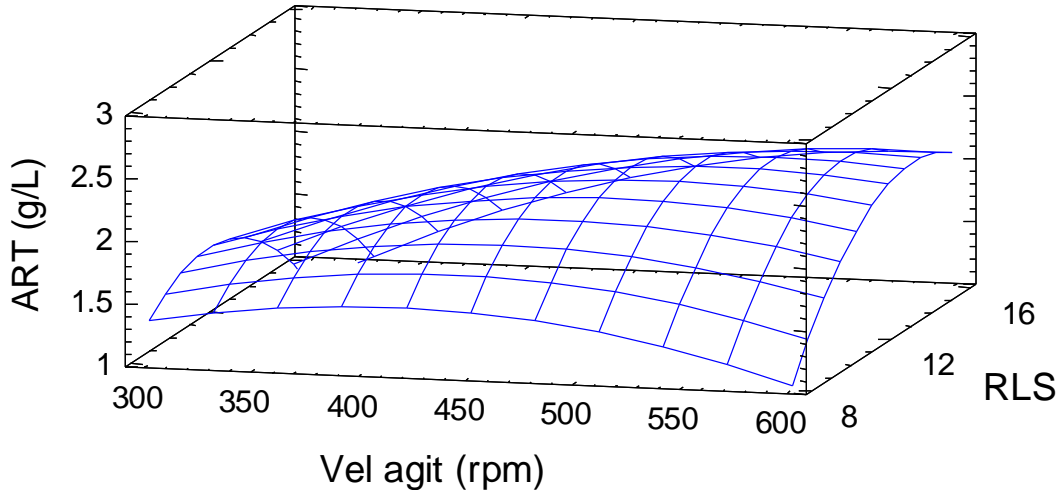


Figura 3.2: Diagrama de superficie de respuesta (ART: azúcares reductores totales; Vel agit: velocidad de agitación; RLS: relación líquido-sólido).

En la figura se observa que la concentración de azúcares reductores totales aumenta con el aumento de la velocidad de agitación hasta cierto punto (530 rpm). Esto se puede deber a que al aumentar la velocidad de agitación, aumenta el número de colisiones entre el sustrato y la enzima, y por lo tanto, se requiere de menos tiempo para transformar la misma cantidad de sustrato (Azmi *et al.*, 2017). A su vez, con velocidades mayores que 530 rpm, la cantidad de producto formado disminuyó ligeramente. Esto puede atribuirse a que altas velocidades de agitación desnaturalizan las enzimas y conducen a la pérdida de la actividad enzimática por cizallamiento. Resultados similares fueron reportados por Tengborg *et al.* (2001), Kaghazchi *et al.* (2005).

Además, se determinó el modelo matemático que se ajusta al sistema.

$$ART = -2.98 + 0.0065V_{agit} + 0.509RLS - 0.000014V_{agit}^2 + 0.00065V_{agit} \cdot RLS - 0.031RLS^2$$

El modelo q se ajusta para un $R^2=81.86\%$ y una probabilidad de 0.0075 indicando que existe una correlación significativa para un 95% de confianza es:

$$ART = -2.98 + 0.0065V_{agit} - 0.000014V_{agit}^2$$

Donde

V_{agit} : velocidad de agitación, (rpm)

ART: azúcares reductores totales, (g/L)

Además del modelo, se puede ver la tabla Anova y el gráfico de contorno en el anexo 6.

3.4 Balance de materiales y de energía en el hidrolizador

3.4.1 Balance de masa

A continuación se reflejan los resultados de los balances de masa, en algunos casos se aplica un balance por componentes donde se utilizan ecuaciones restrictivas y restrictivas especiales.

La tabla muestra los resultados de las ecuaciones utilizadas en el balance de materiales.

Tabla 3.4: Resultados de balances de masa

Etapas	Flujo	Corrientes
Recepción y preparación de la materia prima	3850	Tallos de yuca (kg/d)
	3157	Materia seca (kg/d)
Hidrólisis Enzimática	50050	Agua (kg/d)
	158	Almidón (kg/d)
	175	Glucosa (kg/d)
	0.13	Enzimas (kg/d)

Fuente: Elaboración propia

De los 3157 kg/d de materia seca que tiene el material solo un 5% es de almidón, lo que va a repercutir en la transformación a azúcares reductores.

La cantidad de agua añadir representa la humedad impregnada en los tallos además de la relación líquido-sólido según el flujo de tallo a tratar.

3.4.2 Balance de energía

Los resultados del balance de energía realizado en el hidrolizador vienen dado en la tabla siguiente:

Tabla 3.5: Resultados de balances de energía

Equipo	Hidrolizador
Temperatura de entrada (°C)	30
Temperatura de salida (°C)	60
Entalpía del vapor (kJ/kg)	2779,3
Entalpía del líquido (kJ/kg)	251,13
Porcentaje de sólido (%)	6
Capacidad calórica (kJ/kg °C)	3,92
Flujo de la suspensión (kg/d)	53900
Flujo de vapor necesario (kg/d)	2507

Fuente: Elaboración propia

3.5 Diseño del hidrolizador

El hidrolizador consiste en un tanque cilíndrico con fondo elíptico para evitar la existencia de zonas muertas (Torres y González, 2015). Este viene acompañado de un agitador para mantener la suspensión en constante movimiento.

El agua necesaria para abastecer a los hidrolizadores representa 50 m³. Incorporando el volumen de tallos a utilizar, el volumen total de la suspensión es de 58 m³. Si se considera un 20 % de sobrediseño, se tiene un volumen de 70 m³, por lo que se propone dos tanques de 40 m³.

Diámetro y altura:

Según Turton, en su heurística 3 recomienda que el diseño de los tanques se realice de forma vertical para un volumen superior a los 38 m³.

Según heurística 4 el dimensionamiento del tanque va a estar dado por la relación de que la altura va a ser tres veces el diámetro (H/D=3).

Despejando de la ecuación de volumen se tiene que el hidrolizador va a tener una altura de 9 m y un diámetro de 3m.

Material de construcción

Se elige como material de construcción acero inoxidable serie 304 ya que es el más empleado en la industria de los alimentos por su gran resistencia a la corrosión y rotura. (Torres y González, 2015).

Diseño del agitador

Se escoge un agitador de rodete de propela marina (hélice), ya que este tipo es usado para introducir flujos ascendentes de líquido y trabajar a altas velocidades de agitación (300-1000 rpm). El agitador al igual que el tanque será construido de acero inoxidable serie 304.

Para determinar las dimensiones del agitador se utilizó la tabla 21 del Rosabal.

$$d/D = 0,30$$

$$d = 0,9 \text{ m}$$

$$Z = 3$$

$$\alpha = 40^\circ$$

Para determinar la potencia que consume el agitador se calculó las propiedades físicas de la suspensión.

Tabla 3.6: Resultados del cálculo para la potencia del agitador del hidrolizador.

Parámetros	Valores
Fracción másica de sólidos (%)	7,00
Densidad de la suspensión (kg/m ³)	952
Fracción de volumen de sólido	0.116
Viscosidad de la suspensión (kg/m s)	2,6•10 ⁻⁴
Reynold modificado	4,4•10 ⁷
Potencia (Watt)	1.9•10 ⁶

Fuente: Elaboración propia.

Para los cálculos se utilizaron las siguientes densidades:

Para los tallos se utilizó 573 kg/m^3 , valor arrojado por el software Statgraphics Plus 5.0 al realizar la prueba de normalidad y para el agua se utilizó 1000 kg/m^3 .

Como se puede apreciar en la tabla el Re_m sobrepasa el valor permisible en la figura 9.7. Según Rosabal y Valle (2006) para valores superiores a 10^6 la línea tiende a ser recta por lo que no varía el valor de K_n . entonces la K_n tendrá un valor de 0,17.

Como el agitador seleccionado está diseñado para trabajar a altas velocidades de agitación, para el cálculo se escogió una velocidad de 535 rpm que es el valor óptimo en el diseño, lo que es lo mismo que 15 s^{-1} .

3.5.1 Estimación del costo de inversión y de operación del hidrolizador

Según el software Capcost 2008 y la actualización del índice de costo para el año 2017, el costo del hidrolizador es de \$ 1521472.

Los resultados de los costos de producción se muestran en la tabla 3.7

Tabla 3.7: Resultados de los costos de materias primas y utilidades

Costo de materias primas (\$/a)	Tallos de yuca (kg/a)	12513
	Enzimas (kg/a)	1873
Costo de las utilidades (\$/a)	Agua (kg/d)	178.5
	Electricidad(kW)	1211
	Vapor (kg/a)	2550

Fuente: Elaboración propia

Como se muestra en la tabla los costos de mayor influencia son el de los tallos y el del vapor.

La variedad estudiada tiene en su composición un contenido de almidón de un 5%, lo que significa que la transformación en azúcares simples va a estar afectada por este bajo valor.

La variedad Señorita tiene un contenido de almidón del 10 % según Orozco (2015), esto aumenta la cantidad de glucosa a obtener y por ende la cantidad de biomasa a producir.

Se realiza un análisis económico desde el punto de vista de la influencia del contenido de almidón presente en cada una de las variedades mencionadas, como se muestra en la tabla 3.7.

Tabla 3.8: Resultados del análisis económico para ambas variedades

Indicadores	C-74-725	Señorita
Valor de la producción (\$/a)	115445	229386
Costo de materias primas (\$/a)	11386	11386
Costo de utilidades (\$/a)	3940	3940
Amortización (\$/a)	152147	152147
Costo de producción total (\$/a)	167473	167473
Ganancia(\$/a)	-52028	61913

Fuente: Elaboración propia

Evidentemente la utilización de la variedad C-74-725 no es factible económicamente, más que haber ganancias va a existir pérdidas considerables en la etapa, esto es razonable ya que posee muy bajo contenido de almidón en su composición. Además, el mayor costo está asociado a la amortización, que es el valor de reposición del equipo por concepto de inversión.

Para la variedad Señorita, la cual posee un mayor contenido de almidón se puede apreciar ganancias en la etapa, esto es lógico ya que al tener mayor almidón va a aumentar el volumen de producción manteniéndose fijos los costos de producción, es por ello que aumenta el valor de la producción y se comienza a tener ganancias. Los balances reportan que se comienza a obtener ganancia a partir de un 8% de almidón para la variedad C-74-725. Ver anexo 7

3.6 Valoración de los resultados de la hidrólisis enzimática

Balance de materiales para el caso base de las dos variedades

En la valoración del comportamiento nutricional de los alimentos es importante tener en cuenta como requisito a cumplir el porcentaje de proteína bruta, el cual para alimentos voluminosos debe alcanzar el 7% ($\%Pb \geq 7\%$).

Los balances de materiales para las variedades C-74-725 y Señorita se muestran en la tabla para 60 % de materia seca.

Tabla 3.9: Resultados de la comparación para ambas variedades

Variedades	C-74-725	Señorita
Masa total (kg/d)	3850	3850
Almidón (kg/d)	115	231
Fibra (kg/d)	2195	2079
Agua	1540	1540
Glucosa	128	256
Biomasa	64	128
Proteína	32	64
% proteína bruta	1.5	2.9

Fuente: Elaboración propia

Los resultados reflejan que ninguna de las dos variedades analizadas cumple con el requisito de proteína bruta, los valores reportados son bastante bajos por lo que no es factible desde el punto de vista técnico.

Una vía de mejorar los resultados es separar parte de la fibra después de la etapa de hidrólisis, y se considera posteriormente su aprovechamiento ya sea como combustible o se puede tratar química y enzimáticamente con celulasa.

Otra vía, es realizar combinaciones con otras materias primas amiláceas (maicena, raíz y tallos de yuca).

A continuación se muestran los resultados de las combinaciones analizadas. Para ello se considera que se logra en la etapa de fermentación como biomasa potencial 100 kg, esto representa la base de cálculo y conlleva a la formación de

proteína de 50 kg. Para producir esta biomasa se necesita 200 kg de glucosa y 180 kg de almidón.

Las combinaciones de materias primas: tallos de yuca (T), raíz (Y), maicena (M) están referidas al contenido de almidón total y los resultados se muestran en la tabla 3.10

La masa de sólidos totales necesaria para el cálculo del porcentaje de proteína bruta está referida a la salida de la etapa de fermentación que considera, la biomasa formada, las sales añadidas en esta etapa, la fibra y resto de la masa que no es almidón.

Tabla 3.10: Balance de materiales con combinaciones de las materias primas

Combinaciones de materias primas	% proteína bruta (C-74-725)	% proteína bruta (Señorita)
40 % T; 50 % Y; 10 % M	3.32	6.40
35 % T; 50 % Y; 15 % M	3.75	7.11
25 % T; 50 % Y; 25 % M	5.0	9.00
15 % T; 50 % Y; 35 % M	7.6	13.2

Fuente: Elaboración propia

Se observa en los resultados mostrados en la tabla 3.10 que para la variedad Señorita se logra el indicador de proteína bruta para la mayoría de las combinaciones probadas, sin embargo para la variedad C-74-725 solo se alcanza en la última combinación mostrada. Se observa que a medida que disminuye la proporción de tallos en la mezcla se favorece este indicador pero se incrementa el contenido de maicena. Es importante tener en cuenta, que desde el punto de vista económico, no es conveniente el incremento del contenido de maicena por su elevado costo, es por esto interesante compensar esta disminución con la combinación de las dos variedades.

Se muestran los resultados de los balances para la combinación en la que se alcanza el indicador de proteína bruta para la variedad C-74-725 y para la mezcla de los tallos.

Los resultados del resto de los balances para las combinaciones referidas se reflejan en el anexo 8.

Tabla 3.11: Resultados del balance para 15 % tallo, 50 % raíz, 35 % maicena

Materia	Composición másica (%)	C-74-725	Señorita
Masa total de tallos (kg/d)		900	450
Masa seca (kg/d)	60	540	270
Almidón (kg/d)	5	27	27
Fibra (kg/d)	95	513	243
Masa total de raíz (kg/d)		333	333
Masa seca (kg/d)	30	100	100
Almidón (kg/d)	90	90	90
Otros (kg/d)	10	10	10
Masa total de maicena (kg/d)		129	129
Masa seca (kg/d)	83	107	107
Almidón (kg/d)	98	63	63
Otros (kg/d)	2	1.3	1.3
Agua total		636	456
% proteína bruta		7.60	13.2

Fuente: Elaboración propia

Como se muestra en la tabla para ambas variedades se cumple el indicador de proteína bruta por lo que cumple con los requisitos de un alimento voluminoso.

Tabla 3.12: Resultados de los balances de materiales para la combinación 10 % de tallos C-74-725; 60 % de raíz de yuca; 15 % de maicena y 15 % de tallos de Señorita.

Materia	Composición másica (%)	Flujos iniciales
Masa total de tallos de C-74-725 (kg/d)		600
Masa seca (kg/d)	60	360
Almidón (kg/d)	5	18
Fibra (kg/d)	95	342
Masa total de raíz (kg/d)		400
Masa seca (kg/d)	30	120
Almidón (kg/d)	90	108
Otros (kg/d)	10	12
Masa total de maicena (kg/d)		33.19
Masa seca (kg/d)	83	27.55
Almidón (kg/d)	98	27
Otros (kg/d)	2	0.55
Masa total de tallos señorita (kg/d)		450
Masa seca (kg/d)	60	270
Almidón (kg/d)	10	243
Fibra (kg/d)	90	27
Agua de los materiales		705
% proteína bruta		6.9

Fuente: Elaboración propia

En este caso como el indicador está muy próximo a 7 puede lograrse cumplir con el mismo separando al final de la etapa de hidrólisis cierta cantidad de fibra (para 40 kg de fibra separados, se logra %Pb=7.35%)

3.7 Conclusiones Parciales:

1. En el análisis estadístico de las variables analizadas en la caracterización física de los tallos de yuca se evidencia que todas presentan un comportamiento normal, el valor medio de densidad de los tallos residuales es de 573 kg/m³ y mínima relación líquido – sólido es de 7.
2. La determinación de la composición química de los tallos de yuca de la variedad C-74-725 reveló que los carbohidratos estructurales representan el 70 % y el contenido de almidón es bajo.
3. Se demostró estadísticamente, que de las variables estudiadas en la hidrólisis enzimática, la que más influye en la concentración de azúcares reductores totales es la velocidad de agitación, obteniéndose un óptimo para las condiciones de máximo ART.
4. Se propone en la etapa de hidrólisis enzimática dos tanques de 40 m³ de diámetro 3 m y altura 9 m, con agitador de propela marina y fabricados de acero inoxidable serie 304, de diámetro 0.9 m.
5. El costo de inversión del hidrolizador es de \$ 1521472.
6. Los costos más influyentes son la amortización, la materia prima y entre las utilidades el vapor.
7. Los balances de materiales arrojan que no se alcanza el indicador de porcentaje de proteína bruta cuando se procesan los tallos de yuca residuales como única materia prima para las variedades C74 725 y Señorita, se requiere hacer combinaciones con otros materiales amiláceos.

CONCLUSIONES

1. Se obtiene un óptimo de máxima concentración de azúcares reductores para las condiciones de velocidad de agitación de 530 rpm (15 s^{-1}) y relación líquido-sólido de 13 en la hidrólisis enzimática.
2. La determinación de la composición química de los tallos de yuca reveló que contiene de celulosa 33.12 %, hemicelulosa 37.71 %, la lignina 13.19 %, extractos 7.87 % y cenizas 8.11 % en base seca.
3. Se propone en la etapa de hidrólisis enzimática dos tanques de 40 m^3 , de acero inoxidable serie 304, con un agitador de propela marina.
4. La valoración realizada en la etapa muestra que la variedad estudiada (C-74-725) no es factible técnica ni económicamente, y la situación económica se revierte para variedades con contenido de almidón superior a 8%.
5. Las mezclas de materias primas amiláceas que permiten obtener resultados favorables desde el punto de vista técnico son las combinaciones 15 % tallos; 50 % raíz; 35 % maicena y 10 % de tallos C-74-725, 60 % de raíz de yuca; 15 % de maicena y 15 % de tallos de Señorita.

RECOMENDACIONES

1. Valorar otras combinaciones de materias primas amiláceas para compensar bondades y carencias de distintas materias primas
2. Comprobar desde el punto de vista económico la factibilidad de las combinaciones de materias primas.
3. Separar parte de la fibra al concluir la etapa de hidrólisis y aprovecharlo en otros fines.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acuña, A; Aguilar, E; Benach; A; Morales, J; Martínez, E. (2010). “Visita técnica y capacitación sobre sistemas de producción de yuca en Brasil”. San José, Costa Rica, INTA. 43 p. Informe final. Archivos Dirección Ejecutiva
2. Agbor. V.B, N. Cicek, R. Sparling; A. Berlin; D.B. Levin. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application, *Biotechnology. Adv.* 29 (2011) 675–685. doi:10.1016/j. biotechadv.2011.05.005
3. Almenares; J.F.; Ngoma, F.; Serrat, M.J. (2011). “Aspectos tecnológicos generales para la conversión a etanol de la biomasa lignocelulósica”.
4. Álvarez, A.; García, E.; Domínguez, M.M., Granandos, J.M., Aguirre, A., Carmona, R., Morales, A., Herrera, P.J., Licea, A. y Mendoza, A.M. (2012). “Aprovechamiento Integral de los Materiales Lignocelulósicos”. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, Volumen 13(4). Disponible en: <http://www.ehu.eus/reviberpol/pdf/SEP12/alvarez.pdf>. [Consultado: 20 enero 2016].
5. Amenaghawon, N., Osagie, E. and Ogbeide, S. (2016). “Optimization of Combined Acid and Enzymatic Hydrolysis of Cocoyam Starch to Produce Fermentable Hydrolysate”. *Pertanika Journal of Science and Technology* 24(1): 123-136
6. Anto, H; Trivedi, U and Patel, K. (2006). “Glucoamylase production by solid-state fermentation using rice flake manufacturing waste products as substrate”. *Bioresource Tecnology*, Vol. 97(10), p. 1161-1166
7. Ayerbe, A. (2002). “Efecto en el rendimiento productivo de cerdos en la etapa de acabado por el remplazo del total del maíz por harina de yuca en la dieta (en línea)”. Tesis Lic. Santiago de Cali, Colombia. Universidad de San Buena Ventura. 52 p. Disponible en: http://www.clayuca.org/sitio/index.php/component/k2/item/download/19_307008feb051eb4b45d1cf031cce2bb1. (Consultado 2 ene. 2017).
8. Azmi, A.S. (2017). “A review on acid and enzymatic hydrolysis of sago starch”. *International Food Research Journal* 24.

9. Barroso C., M. (2010). "Pretratamiento de la biomasa celulósica para la obtención de bioetanol en el marco de una biorrefinería". Universidad Politécnica de Madrid
10. Berlin, A.; Balakshin, M. (2014). -Industrial lignins: analysis, properties, and applications. In V. K. Gupta, M. G. Tuohy, C. P. Kubicek, & J. F. Saddler (Eds.), Bioenergy Research: Advances and Applications (pp. 315-336). Elsevier Amsterdam. DOI: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444595614000188>
11. Carrasco. J. (2010). "La biomasa como fuente de energía y productos para la agricultura y la industria". Ministerio de Industria y Energía. **1-21**
12. Carrasco. J. (2012). "La biomasa como fuente de energía y productos para la agricultura y la industria". Ministerio de Industria y Energía. **1-50**
13. Chiaramonti D., Prussi M., Ferrero S., Oriani L., Ottonello P., Torre P., Cherchi F. (2012). "Review of pretreatment processes for Lignocellulosic ethanol production, and development of an innovative method. Biomass and bioenergy". 46, 25-35.
14. Clayuca Net. (2004). "Yuca por maíz en dieta porcina (en línea)". Boletín Electrónico del Consorcio Latinoamericano y del Caribe de Apoyo a la Investigación y Desarrollo de la Yuca. 19 p. Disponible en http://ciat-library.ciat.cgiar.org/articulos_ciat/2015/Clayuca_Net_No_6_Marzo_2004.pdf. Consultado 16 dic. 2016.
15. Copelan, R. (2000). "Enzymes a practical introduction to structure, mechanism and data analysis". Segunda Edición. New York
16. Damodara Rao Mendu, B.V.V. Ratnam, A. Purnima, C. Ayyanna. Affinity chromatography of α -amylase from *Bacillus licheniformis*. Enzyme and Microbial Technology. 2015; 37, 712–717.
17. Desrosier, N. (1989). "Elementos de Tecnología de alimentos", 6ª Edición. Editorial Continental.

18. Doss, A. Anand, S. (2012). "Purification and characterization of extracellular amylolytic enzyme from *Aspergillus* species". African Journal of Biotechnology. Vol.11 (83), 14941-14945 p. ISSN 1684-5315.
19. Espinel, E y López, E. (2009). "Purificación y caracterización de α -amilasa de *Penicillium commune* producida mediante fermentación en fase sólida". Revista Colombiana de Química, Vol. (38), p. 191-208
20. Fan LT, Gharpuray MM & Lee YH (1987) In: "Cellulose Hydrolysis Biotechnology Monographs". Editor (ed). Springer, Berlin, p. 57.
21. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Italia). (2016). "Identification of indicators for evaluating of sustainable animal diets. Animal Production and Health Working Paper". Roma, Italia. n°.15.
22. Ferrer JR, Páez G, Arenas de Moreno L, Chandler C, Mármol Z, Sandoval L "Cinética de la hidrólisis ácida de bagacillo de caña de azúcar", Revista de la Facultad de Agronomía LUZ, 19, 23 (2016)
23. Findrik, Z., Presečki, A.V. and Vasić-Rački, D. (2010). "Mathematical modeling of maltose hydrolysis in different types of reactor". Bioprocess and Biosystems Engineering 33(3): 299-307.
24. Galbe M. Zacchi G. (2002). "A review of the production of ethanol from softwood". Applied Biochemistry and Biotechnology. 59, 609-617.
25. Gálvez, Luis O. (2000). "Manual de los derivados de la caña de azúcar". La Habana. Imprenta MINAZ
26. Gao, R; Yuan, X; Li, J; Wang, X; Cheng, X; Zhu, W; and Cui, Z. (2012) "Performance and spatial succession of a full-scale anaerobic plant treating high- concentration cassava bioethanol wastewater". Journal of Microbiology and Biotechnology, Vol. 22, p. 1148–1154
27. Gerena, F.M. (2013) - Obtención de jarabes azucarados a partir de la hidrólisis química de residuos de cascara de naranja (*Citrus sinensis* / var *valencia*) y papa (*Solanum tuberosum*) variedad Diacol Capiro (R-12) para ser empleados como edulcorantes en la industria de alimentos. Duitama, Colombia

28. Giraldo, A; Velasco, R; Aristizabal J. (2005). "Obtención de harina a partir de hojas de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) para consumo humano (en línea)". *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 4(1):3342. Consultado 22 nov. 2006. Disponible en <http://www.unicauca.edu.co/biotecnología/ediciones-/vol4/4.pdf>
29. Gurung, N; Ray, S; Bose, S and Rai, V. (2013). "A broader view: microbial enzyme and their relevance industry, medicine and beyond". *BioMed Research international*. Vol. 1, p. 1-18.
30. Han, M., Kim, Y., Kim, Y. y Chung B. (2011). "Bioethanol production from optimized pretreatment of cassava stem". *Korean J. Chem. Eng.*
31. Hereira Almeida, Yandy. (2012). "Diseño de una planta de Anhídrido Acético". Matanzas. Trabajo de diploma en opción al título de ingeniero químico. Universidad de Matanzas.
32. Herrera, J. y Pons, J. (2014). "Sustratos Proteicos (SUSPROTEL). Aspectos Tecnológicos". *Fórum Ciencia y Técnica*, Matanzas, Cuba.
33. Howeler, RH. (2013). "Dry matter accumulation and nutrient absorption and distribution during the growth cycle of cassava". En: *The Cassava Handbook*. Colombia: Editorial CIAT. 351–410 p.
34. Hurtado B, J. (1997). "Valorización de las amiláceas "no – cereales" cultivadas en los países andinos: Estudio de las propiedades fisicoquímicas y funcionales de sus almidones y de la resistencia a diferentes tratamientos estresantes". Bogotá. Tesis en opción al grado científico D.C. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano.
35. Iglesias, O. (2016). "Propuesta tecnológica preliminar para la obtención de un Sustrato Proteico (base levadura *torula*) a partir de tallos de yuca residuales". Trabajo de diploma en opción al título de ingeniero químico. Universidad de Matanzas.
36. Jorgensen, H., Vibe-Pedersen, J., Larsen, J. & Felby, C., Liquefaction of Lignocellulose at High- Solids Concentrations. *Biotechnology Bioengineering* 96, 2007, pp. 862870

37. Kaghazchi, T. (2005). "Effect of agitation intensity on protein solubility behavior". *Chem.Eng.Technol*, vol.28, No.5.
38. Keenan, Joseph H., Keyes, Frederick G., Hill, Philip G., Moore Joan G. (1988). "Steam Tables". Edición Revolución.
39. Khanna, P. (2010). "Cell and molecular biology". New Delhi: I.K. International Publishing House
40. Lancho, A, C. (2015). "Obtención de jarabe a partir del almidón del maíz morado". *Zea mays L.* Callao, Perú.
41. Laureano, P.L., Teymouri, F., Alizadeh, H., y Dale, B.E. (2005). "Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass". *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 124 (1-3): 1081–1099.
42. Limayen A., Ricken S. (2012). "Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects". *Progress in Energy and Combustion Science*. 38, 449-447.
43. Liscano, Y. (2014). "Producción de bioetanol a partir de tallos de yuca. Medellín". Tesis en opción al título de Máster en Ciencias-Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Área de biotecnología, Colombia
44. Martín, C. (2012). "Estudio de la inhibición de la fermentación de hidrolizados de bagazo de caña de azúcar para la producción de etanol". p. 149.
45. Martín, C., Carrillo, E., Torres, M., García, L., Marcet, M., Thomsen, A.B. (2006). "Determination of the chemical composition of tropical cellulosic materials using the detergent sequential system". *Cellulose Chemistry and Technology* **40**, 399-403.
46. Martín, C., Thomsen, A.B. (2007). "Wet oxidation pretreatment of Lignocellulosic residues of sugarcane, rice, cassava and peanuts for ethanol production". *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*.
47. Martín, C.; Wei, M., Xiong, Sh., Jonsson, L. (2017). "Enhancing saccharification of cassava stems by starch hydrolysis prior to pretreatment".

48. Martínez, P. N., Guarnizo Franco, A. y Valencia Sánchez, H. A. (2009). "Biomass and cellulose pretreatments for saccharification". *Scientiaet Technica*, No 42. Universidad Tecnológica de Pereira. Disponible en: <http://revistas.utp.edu.co/index.php/revistaciencia/article/viewFile/2655/1463>. [Consultado: 20 enero 2016].
49. Mera, I y Carrera Cataño, J. (2005). "Obtención de glucosa a partir de almidón de yuca *Manihot esculenta*". Facultad de Ciencias Agropecuarias. Vol. 3, p. 26.
50. Mestres, C. (1996). "Los estados físicos del almidón". En: Conferencia internacional sobre almidón. Propiedades físico-químicas, funcionales y nutricionales. Usos. 8-10 mayo. Quito, Escuela Politécnica Nacional, Instituto de Investigación Tecnológica .Pp. 1-16.
51. Monteiro, P and de Oliveira, P. (2010). "Application of microbial α -amylase in industry - A review". *Brazilian Journal of Microbiology*. Brasília (Vol. 85), p.1-12.
52. Montero, G. (2015). "Determinación de los principales componentes de la materia lignocelulósica; celulosa; hemicelulosa y lignina". Disponible en: <http://www.researchgate.net/publication/282365664>
53. Morales, J. (2014). "Desarrollo e implementación de un centro de capacitación para agricultores(as), técnicos agropecuarios y otros usuarios, para el procesamiento y uso de la yuca para la alimentación animal, humana y otras industrias". Capítulo 2. San José, Costa Rica. Informe Final. Proyecto PRIICA Cultivo Yuca País Costa Rica, INTA- PRIICA. 50 p.
54. Morales, J; Batista, M. (2016). "Respuesta de cerdos en engorde a dietas balanceadas con sustitución de maíz amarillo con harina integral de yuca (*Manihot esculenta*)". San José, Costa Rica, INTA. De próxima publicación
55. Mussatto, S. (2008). "The effect of agitation speed, enzyme loading and substrate concentration on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewers". *Cellulose Chemistry and Technology*.
56. Nuwamanya E, Chiwona-Karlton L, Kawuki R, Baguma Y. (2012). Bio-Ethanol Production from Non-Food Parts of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *AMBIO* 2012, 41:262–270. Published online: 11 October 2012

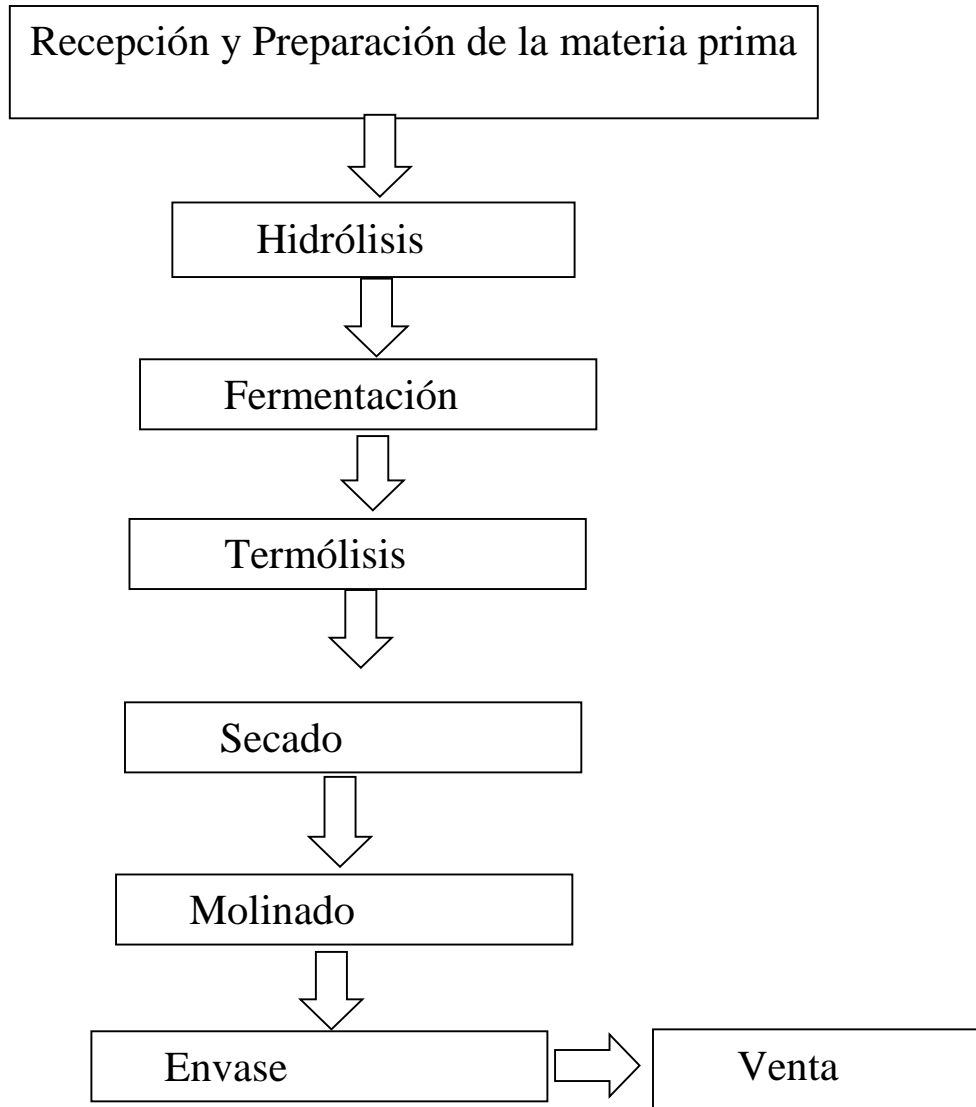
57. O'Brien, S. and Wang, Y.-J. (2008). "Susceptibility of annealed starches to hydrolysis by α -amylase and Glucoamylase". *Carbohydrate Polymers* 72(4): 597607.
58. Olivier Gibert, Andres Giraldo, José-Ricardo Uclés-Santos. A kinetic approach to textural changes of different banana genotypes (*Musa* sp). *Journal of Food Engineering*. 2016; 98, 471–479
59. Orozco, M.B. (2015). "Proceso de sacarificación de los tallos de yucas residuales para obtener levadura *Torula*". Matanzas. Trabajo de diploma en opción al título de ingeniero químico. Universidad de Matanzas.
60. Ospina, B; Ceballos, H. (2002). "La yuca en el tercer milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización". Cali, Colombia, CIAT, CLAYUCA. 585 p.
61. Pingyi Zhang, Roy L. Whistler, James N. BeMiller, Bruce R. Hamaker. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility-a review. *Carbohydrate Polymers*. 2015; 59, 443–458.
62. Pooja, N and Padmaja, G. (2014). "Pretreatment techniques to enhance the enzymatic degradability of agricultural and processing residues of cassava". *Journal Microbiology and Biotechnology Resource*. Vol. 4 (1), p. 57-67. ISSN 2231-3168
63. Pornpong Sutthirak, Saovanee Dharmsthiti, Sittiwat Lertsiri. Effect of glycation on stability and kinetic parameters of thermostable glucoamylase from *Aspergillus niger*. *Process Biochemistry*. 2014; 40, 2821–2826.
64. Prinsen, Pepijn (2010). "Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas". Sevilla. Tesis en opción al título de Master Estudios Avanzados en Química. Universidad de Sevilla. Disponible en: <http://digital.csic.es/handle/10261/66265>. [Consultado: 25 enero 2016].
65. Quintero, M; Montoya, O. y Gutiérrez, P. (2010). "Purificación y caracterización de una α -amilasa producida por la cepa native *Bacillus* sp". *BBM1. Dyna*. Vol. 162, p. 31-38.

66. R. Ravindran, A.K. Jaiswal. "A comprehensive review on pre-treatment strategy for lignocellulosic food industry waste: Challenges and opportunities, Bioresour". Technol. 199 (2016) 92–102. doi:10.1016/j.biortech.2015.07.106.
67. Regy, J. and Padmaja, G. (2013). "Comparative studies on the production of glucose and high fructose syrup from tuber starches". International Research Journal of Biological Sciences 2: 68-75.
68. Riaño, A.M (2010). "Producción de bioetanol a partir de residuos agroindustriales". Revista Tumbaga /5/61-91.univesidad de Tolima
69. Rinku, S; Luji, T; Rajila, C and Suganyadevi, P. (2012). "Amylase production by *Aspergillus niger* under submerged fermentation using *Ipomeas batatas*". International Journal Of Applied Biology and Pharmaceutical Technology. Vol. 3, p. 175-182.
70. Rosabal Vega, Julio M., Valle Matos, Manuel. (2006). "Hidrodinámica y Separaciones Mecánicas". Tomo II. Editorial Félix Varela.
71. Saxena, R Singh, R. (2011). "Amylase production by solid-state fermentation of agro-industrial wastes using *Bacillus* sp. Brazilian Journal of Microbiology". Vol. 42. P. 1334-1342. ISSN 1515-8382
72. Sharanappa, A; Wani, K and Patil, P. (2011). "Bioprocessing of food industrial waste for α -amylase production by solid state fermentation". International Journal of Advanced Biotechnology and Resource. Vol. 2, p. 473-480.
73. Suckling C. Enzyme Chemistry: Impact and applications. Chapman and Hall. Second Edition. London. 2012; p: 310-312; 315-318
74. Sun Y & Cheng J (2002). "Hydrolysis of Lignocellulosic materials for ethanol production: a review". Bioresource. Technol. 83: 1–11.
75. Sunarti, T.C., Dwiko, M., Derosya, V. and Meryandini, A. (2012). "Effect of Microwave Treatment on Acid and Enzymes Susceptibilities of Sago Pith". Procedia Chemistry 4(Suppl. C): 301-307
76. Tengborg, CH (2001). "Influence of enzyme loading and physical parameters on the enzymatic hydrolysis of steam pretreated softwood". Biotechnology. prog, vol. 17, No1.

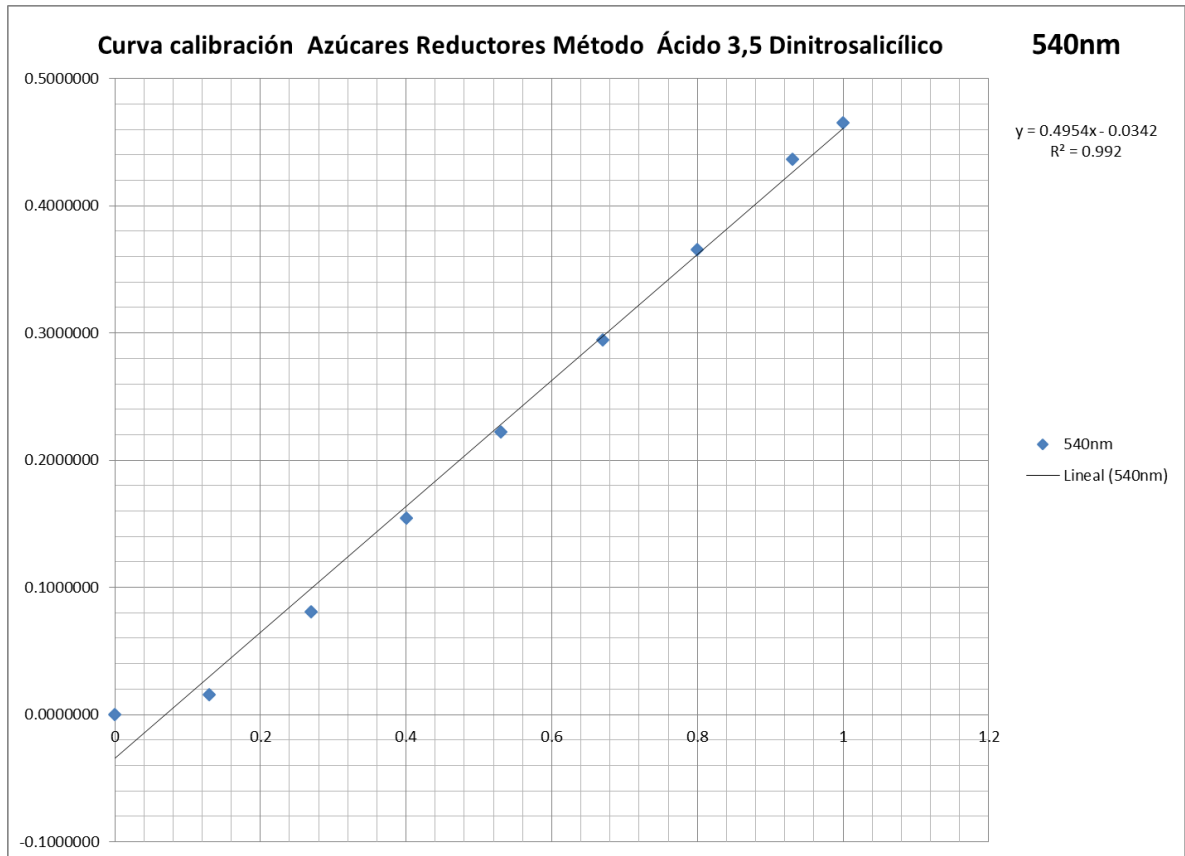
77. Tiemoko, Y. (1988). "The use of cassava broiler diets in Cote d'Ivoire. In IITA/ILCA/University of Ibadan Workshop on the Potential Utilization of cassava as Livestock Feed in Africa". (Ibadan, Nigeria). Proceedings. Ibadan. Nigeria, IITA.p.121-126.
78. Torres, Karen Itsen., González, María del Refugio. (2015). "Diseño de un tanque agitado para la etapa de hidrólisis en la producción de miel de agave". Revista de Divulgación Científica. Volumen 1, número 3. Disponible en: http://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/752/pdf_5. [Consultado 25 enero 2016].
79. Turton, R.; Bailie, R. (1998). "Analysis, synthesis and design of chemical processes". New Jersey, Prentice Hall.
80. Uribe, S. and Sampedro, J.G. (2003). "Measuring solution viscosity and its effect on enzyme activity". Biological Procedures Online 5(1): 108-115.
81. Uthumporn, U.; Zaidul, I.S.M. and Karim, A.A. (2010). "Hydrolysis of granular starch at sub-gelatinization temperature using a mixture of amylolytic enzymes". Food and Bioproducts Processing 88(1): 47-54
82. Wanbin, Z., Torbjorn A., Hakan, O., Maogui, W., Bjorn, H., Jiwei, R., Guanghui, X. y Shaojun, X. (2013). "Cassava stems: a new resource to increase food and fuel production". GCB Bioenergy.
83. Wanbin, Z., Bjorn, H., Dan, B., Hakan, O., Shaojun, X. (2015). "Enhancing fuel qualities of cassava crop residues by washing".
84. Wee, L.L., Annuar, M., Ibrahim, S. and Chisti, Y. (2011). "Enzyme-mediated production of sugars from sago starch: statistical process optimization". Chemical Engineering Communications 198(11): 1339-1353
85. Zhu, W.; Wei, M.; Xie, G.; Lestander, T.; Xiong, Sh. (2015). "Cassava stem wastes as potential feedstock for fuel ethanol production: A basic parameter study".

Anexos

ANEXO 1: DIAGRAMA DE FLUJO



Anexo 2: Curva de calibración de ART



Anexo 3: Disponibilidad de los tallos de yuca en Matanzas (Campaña 2016-2017)

Municipio	Total (ha/a)	Tipos de yuca			
		C-6329	CMC-40	C-74-725	Señorita
Matanzas	34.3	6.8	7.7	8.6	11.2
Cárdenas	47.9	17.1	10.6	9.7	10.5
Martí	59.5	11.3	-	28.2	20.0
Colón	68.4	14.8	9.8	19.5	24.3
Perico	108.7	21.5	14.7	29.6	42.9
Jovellanos	171.5	16.6	21.3	78.4	55.2
Pedro Betancourt	51.6	8.7	10.5	16.3	16.1
Limonar	72.0	10.3	-	41.7	20.0
Unión de Reyes	473.0	71.8	31.7	173.4	196.1
Ciénaga de Zapata	11.5	2.7	-	5.8	3.0
Jagüey Grande	127.1	31.7	20.5	23.3	51.6
Calimete	31.6	6.9	3.3	11.8	9.6
Los Arabos	19.3	4.6	1.8	4.9	8.0
Total	1276.4	224.8	131.9	451.2	468.5

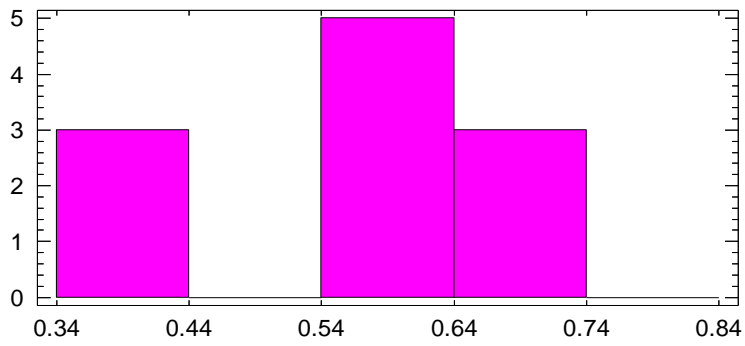
Anexo 4: Determinación de la densidad

No	Masa (g)	Volumen (mL)	Densidad (g/mL)	Densidad (kg/m ³)
1	46.14	65.00	0.7098	709.80
2	25.24	45.00	0.5609	560.90
3	36.71	50.00	0.7342	734.20
4	39.80	60.00	0.6633	663.30
5	53.97	90.00	0.5997	599.70
6	33.27	60.00	0.5545	554.50
7	34.42	55.00	0.6235	623.50
8	26.14	40.00	0.6335	633.50
9	21.00	50.00	0.4200	420.00
10	35.16	80.00	0.4393	439.30
11	18.40	50.00	0.3680	368.00

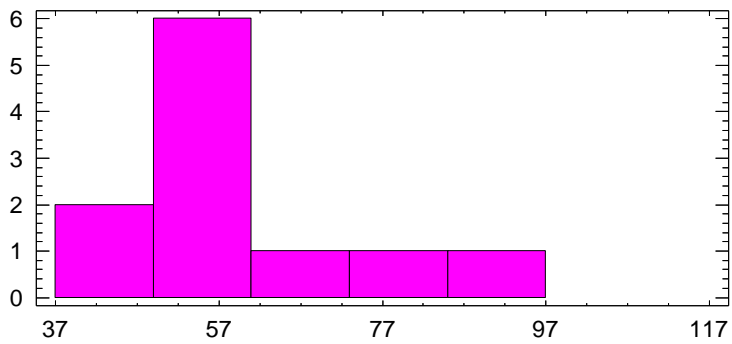
Fuente: Elaboración propia

Anexo 5: Histogramas de frecuencias

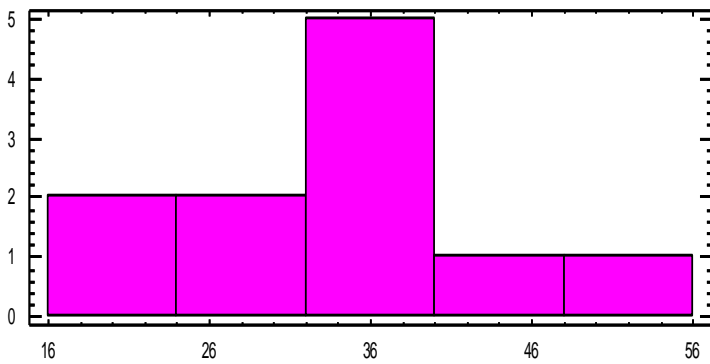
Histogramas de frecuencias para la densidad



Histograma de frecuencia para el volumen



Histograma de frecuencia para la masa



Anexo 6: Figura de contorno y tabla Anova

Tabla Anova

Efecto	SC	GL	CM	Fisher	Valor prob
A	0.647811	1	0.647811	8.58	0.0429
B	0.00533418	1	0.00533418	0.07	0.8036
AA	0.460842	1	0.460842	6.10	0.0689
AB	0.239904	1	0.239904	3.18	0.1493
BB	0.174662	1	0.174662	2.31	0.2030
Total error	0.302124	4	0.0755309		
Total corregido	1.66585	9			

Donde:

SC: suma de cuadrado

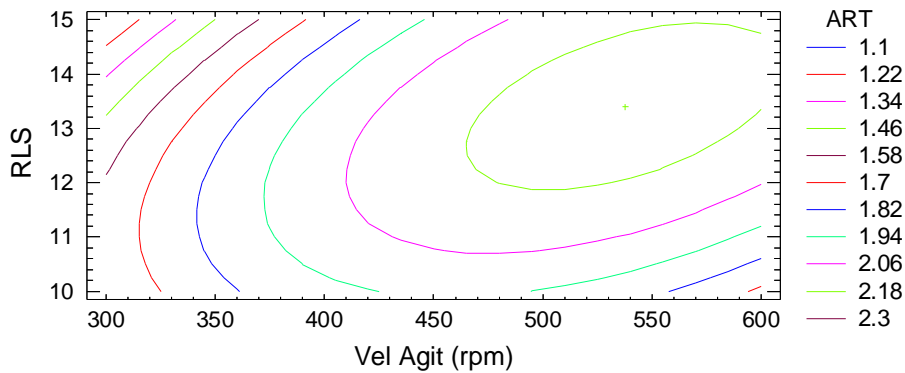
GL: grados de libertad

CM: cuadrado medio

Fisher: estadígrafo de comparación

Valor prob: valor de la probabilidad

Estimados de contorno para superficie de respuesta



Donde:

RLS: relación líquido - sólido

Vel Agit: velocidad de agitación

Anexo 7: Balance para lograr el % mínimo de almidón a partir del cual se obtienen ganancias

Composición de almidón	7%	8%
Valor de la producción (\$/a)	161819	184937
Costo de materias primas (\$/a)	11386	11386
Costo de utilidades (\$/a)	3940	3940
Amortización (\$/a)	152147	152147
Costo de producción total (\$/a)	167473	167473
Ganancia(\$/a)	-5654	17464

Fuente: Elaboración propia

Anexo 8: Balances para las mezclas con otros materiales amiláceos
Combinación de 25 % T, 50 % Y; 25 % M

Materia	Composición másica (%)	C-74-725	Señorita
Masa total de tallos (kg/d)		1501	750
Masa seca (kg/d)	60	900	450
Almidón (kg/d)	5	45	45
Fibra (kg/d)	95	855	405
Masa total de raíz (kg/d)		333.3	333.3
Masa seca (kg/d)	30	100	100
Almidón (kg/d)	90	90	90
Otros (kg/d)	10	10	10
Masa total de maicena (kg/d)		55	55
Masa seca (kg/d)	83	45.96	45.96
Almidón (kg/d)	98	45	45
Otros (kg/d)	2	0.92	0.92
% proteína bruta		5	9

Fuente: Elaboración propia

Combinación de 35 % T, 50 % Y; 15 % M

Materia	Composición másica (%)	C-74-725	Señorita
Masa total de tallos (kg/d)		2100	1050
Masa seca (kg/d)	60	1260	630
Almidón (kg/d)	5	63	63
Fibra (kg/d)	95	1197	567
Masa total de raíz (kg/d)		333.3	333.3
Masa seca (kg/d)	30	100	100
Almidón (kg/d)	90	90	90
Otros (kg/d)	10	10	10
Masa total de maicena (kg/d)		33.23	33.23
Masa seca (kg/d)	83	27.58	27.58
Almidón (kg/d)	98	27	27
Otros (kg/d)	2	0.55	0.55
% proteína bruta		3.75	7.11

Fuente: Elaboración propia

Combinación para 40 % T; 50 % Y; 10 % M

Materia	Composición másica (%)	C-74-725	Señorita
Masa total de tallos (kg/d)		2400	1200
Masa seca (kg/d)	60	1440	720
Almidón (kg/d)	5	72	72
Fibra (kg/d)	95	1368	648
Masa total de raíz (kg/d)		333.3	333.3
Masa seca (kg/d)	30	100	100
Almidón (kg/d)	90	90	90
Otros (kg/d)	10	10	10
Masa total de maicena (kg/d)		22.15	22.15
Masa seca (kg/d)	83	18.38	18.38
Almidón (kg/d)	98	18	18
Otros (kg/d)	2	0.3676	0.3676
% proteína bruta		3.32	6.40

Fuente: Elaboración propia

Anexo 9: Inventario de los equipos utilizados

Equipos	Marca	Modelo
Agitador mecánico	IKA-RW 20 digital	RW 20 D S1
Balanza analítica	ACCULAB(Sartorius group)	BSA-2202
Balanza técnica	Sartorius	BSA-2201
Baño termostático	Kottermann	D-3034
Espectrofotómetro	Ultrospec	2100 pro
Estufa	AISET	YLD-6000
Molino	Artisanal	
Mufla	YUPXIN	SX2
tamiz	Retsch	AS 200 basic
Plancha	IKA C-MGA HP 10	
Incubadora	Memmert	Tv40b

Fuente: Elaboración propia