

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE INGENIERIA QUÍMICA**



**“VIABILIDAD DEL SUSTRATO DE LA HIDRÓLISIS  
ALCALINA DE LA CÁSCARA DE YUCA PARA LOS  
*Lactobacillus casei*”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRO EN INGENIERIA QUÍMICA**

**Bach. Albertina Diaz Gutierrez**

CALLAO, 2020

PERÚ



## HOJA DE REFERENCIA DEL JURADO

### MIEMBROS DEL JURADO

Dra. LIDA CARMEN SANEZ FALCÓN	PRESIDENTE
Dr. JULIO CÉSAR CALDERON CRUZ	SECRETARIO
Mg. RAYMUNDO CARRANZA NORIEGA	MIEMBRO
Dr. JUAN TAUMATURGO MEDINA COLLANA	MIEMBRO
Dra. SONIA ELIZABETH HERRERA SÁNCHEZ	ASESORA

Libro: N°01	Folio N° 009	Acta N° 007-2020-SPG-FIQ/UNAC
Fecha de Aprobación de tesis:		20 de Febrero del 2020
Resolución de sustentación de Unidad de Posgrado:		N° 003-2020-CD-UPG-FIQ-UNAC

## **DEDICATORIA**

**A mi familia de los que siempre he recibido amor: A mis padres que con mucho trabajo y esmero se preocuparon en darnos una formación personal y profesional, con valores y ética. Que Dios tenga en su gloria a mi padre, Alberto Diaz Cabana que siempre estará en mi corazón y en los mas dulces recuerdos. A Justina que con su sonrisa mantiene viva la alegría en momentos duros y felices. A mis hijos y esposo, Alexis, Omar y Ricardo por su cariño y amor. A mi hermano y hermanas que siempre estan cuando los necesito.**

***ALBERTINA DIAZ GUTIERREZ***

## **AGRADECIMIENTO**

**En primer lugar, dar gracias a Dios, que con su inmenso amor permite que este con vida para lograr mis metas y una de ellas es la presente tesis. Agradezco a los Docentes de la primera promoción de la Maestría en ingeniería Química de la UNAC, por su excelente nivel académico; a mis colegas, exalumnos y amigos que siempre me apoyaron y alentaron.**

**Un especial agradecimiento a Raymundo Carranza, por su cariño y apoyo.**

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	10
<b>ABSTRACT</b>	11
<b>I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACION</b>	12
1.1 Identificación del problema	12
1.2 Formulación del problema	13
1.3 Objetivos de la Investigación	13
1.4 Justificación	14
<b>II. MARCO TEÓRICO</b>	15
2.1 Antecedentes de estudio	15
2.2 Marco Teórico	18
2.2.1 La yuca	18
2.2.2 Materiales Lignocelulosicos	24
2.2.3 Biomasa	28
2.2.4 Alimento Nutracéutico	29
2.2.5 Pretratamiento de Material Lignocelulósicos	31
2.2.6 Hidrolisis	33
2.2.7 Proceso de Hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa.	34
2.2.8 Viabilidad bacteriana	38
2.3 Marco conceptual	38
2.3.1 La cascara de yuca	38
2.3.2 Pretratamiento de la cascara de yuca	39
2.3.3 La hidrólisis alcalina de la cascara de yuca	39
2.3.4 Viabilidad del sustrato para el Lactobacillus casei	39
2.4 Definición de términos básicos	40
<b>III. VARIABLES Y HIPÓTESIS</b>	43
3.1 Definición de las variables	43

3.1.1. Variable dependiente _____	43
3.1.2 Variable Independiente _____	43
3.2 Operacionalización de las variables _____	44
3.3 Hipótesis general e Hipótesis específicas _____	45
3.3.1 Hipótesis general _____	45
3.3.2 Hipotesis especifica dependiente _____	45
3.3.3 Hipotesis especifica independiente _____	45
<b>IV. METODOLOGÍA.....</b>	<b>46</b>
4.1 Tipo de Investigación _____	46
4.2 Diseño de la investigación _____	46
4.2.1 Plan de Investigación _____	47
4.2.2 Diseño Experimental _____	47
4.2.3 Requerimientos: Equipos, Materiales y Reactivos _____	47
4.2.4 Métodos _____	49
4.2.5 Técnicas _____	52
4.3 Población y Muestra _____	52
4.3.1 Población _____	52
4.3.2 Muestra _____	52
4.3.3 Determinación del Número de Muestra y Tamaño _____	53
4.3.4 Producción de cáscara de yuca _____	53
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos _____	54
4.4.1 Técnicas de recolección de datos. _____	54
4.4.2 Instrumentos de recolección de datos. _____	55
4.5 Procesamiento estadístico y análisis de datos _____	56
<b>V. RESULTADOS.....</b>	<b>57</b>
5.1 Porcentaje de la cáscara respecto a la raíz de yuca _____	57
5.2 Características bromatológicas de la cáscara de yuca _____	57
5.3 Contenido de metales en la cáscara de yuca _____	57
5.4 Evaluación del Pretratamiento en la cáscara de yuca _____	58

5.4.1	Pretratamiento sin Alcalí (0,0 N <sub>NaOH</sub> ) a 40°C	58
5.4.2	Pretratamiento con Alkali (0,03 NNaOH)	59
5.5	Selección de temperatura de hidrólisis	60
5.6	Hidrólisis alcalina (NaOH) en cáscara de yuca pre tratadas.	60
5.6.1	Hidrólisis en cáscara de yuca con NaOH de fracción sólida	61
5.7	Evaluación del sustrato de la cáscara de yuca	61
<b>VI.</b>	<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>65</b>
<b>VII.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>69</b>
<b>VIII.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>70</b>
<b>IX.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>71</b>
<b>X.</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>77</b>
10.1	Matriz de consistencia:	80
10.2	Glosario	82
10.3	Porcentaje de cáscara respecto a la raíz de yuca	84
10.4	Características Bromatológicas de la cáscara de yuca	84
10.5	Contenido de metales (ppm) en la cáscara de yuca	86
10.6	Resultados de la Evaluación del Pretratamiento	87
10.7	Selección de temperatura de hidrólisis	89
10.7.1	Hidrólisis al 0%, blanco	89
10.7.2	Hidrólisis al 0.1 %	91
10.7.3	Hidrólisis al 0.2 %	93
10.7.4	Hidrólisis al 0.3%	95
10.7.5	Hidrólisis al 0.4%	97
10.8	Evaluación de la hidrólisis alcalina en cáscara de yuca	99
10.8.1	Hidrólisis alcalina a 80°C, sin pretratamiento alcalino	99
10.8.2	Hidrólisis con NaOH a 80°C, con pretratamiento alcalino	100
10.8.3	Cinética de hidrólisis de la cáscara de yuca	100



10.8.4	Concentración de azúcares reductores en el crecimiento bacteriano, para muestras pretratadas sin Alcalí _____	101
10.8.5	Concentración de azúcares reductores en el crecimiento bacteriano, para muestras pretratadas con Alcalí y a 80 °C _____	102
10.9	Evaluación de crecimiento bacteriano por conteo de placas ___	103

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Taxonomía " <i>manihot esculenta crantz</i> " .....	19
Tabla 2	Concentración de elementos minerales en hojas y raíces de yuca .....	20
Tabla 3	Concentraciones de cianuro en plantas seleccionadas.....	21
Tabla 4	Composición media de la raíz entera, de la corteza y del cilindro central en el porcentaje .....	22
Tabla 5	Composición química de la harina de yuca de la raíz completa y de la raíz sin cáscaras (base seca).....	24
Tabla 6	Beneficios de los probióticos en la salud.....	31
Tabla 7	Características bromatológicas de la cáscara de yuca .....	57
Tabla 8	Análisis de metales presentes en muestras de cáscara de yuca.....	58
Tabla 9	Peso promedio de la cáscara de yuca .....	84
Tabla 10	Porcentaje de humedad de la cáscara de yuca .....	84
Tabla 11	Porcentaje de cenizas de la cáscara de yuca .....	85
Tabla 12	Análisis de metales presentes en muestras de cáscara de yuca.....	86
Tabla 13	Azúcares reductores a 0% y 40°C .....	87
Tabla 14	Azúcares reductores a 0.1% y 40°C.....	87
Tabla 15	Azúcares Reductores a 0.2% y 40°C .....	88
Tabla 16	Azúcares Reductores a 0.3% y 40°C .....	88
Tabla 17	Azúcares Reductores a 0.4% y 40°C .....	89
Tabla 18	Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0% .....	89
Tabla 19	Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0.1% .....	91
Tabla 20	Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0.2% .....	93

Tabla 21	Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0.3% .....	95
Tabla 22	Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0.4% .....	97
Tabla 23	Azúcares reductores en los hidrolizados a diferentes concentraciones de álcali, pretratadas a 80°C sin alcalí .....	99
Tabla 24	Azúcares reductores en los hidrolizados de la cáscara de yuca con NaOH, con pretratamiento a 0.03N y a 80°C.....	100
Tabla 25	Cinética de Hidrólisis por Concentración de Azúcares Reductores de la cáscara de yuca, con pretratamiento a 0.03N y a 80°C .....	100
Tabla 27	Azúcares reductores en la parte líquida luego de sembrar las muestras de cáscara de yuca con pretratamiento a 0N y 80°C.....	101
Tabla 28	Azúcares reductores en la parte sólida luego de sembrar con 1 mL a las muestras hidrolizadas de cáscara de yuca con pretratamiento sin álcali y a las temperaturas de 80 y 120 °C.....	102
Tabla 29	Azúcares reductores en la parte líquida luego de sembrar las muestras de cáscara de yuca con pretratamiento a 0.03N y 80°C.....	102
Tabla 30	Azúcares reductores en la parte sólida luego de sembrar con 1mL a las muestras hidrolizadas de cáscara de yuca con pretratamiento a 0.03N y 80°C .....	103
Tabla 31	Cantidad de Inóculo agregado a las muestras hidrolizadas de la cáscara de yuca .....	103
Tabla 32	Conteo de placas de muestras sin pretratamiento a 80°C inoculada a diferentes mL a la parte líquida.....	104

Tabla 33	Conteo de placas de muestras sin pretratamiento a diferentes concentraciones de hidrólisis.....	104
Tabla 34	Recuento de <i>Lactobacillus casei</i> con pretratamiento en la parte líquida.....	105
Tabla 35	Recuento de <i>Lactobacillus casei</i> con pretratamiento en la parte sólida.....	105

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Raíz de yuca. ....	21
Figura 2. Componente de biomasa de lignocelulosa.....	25
Figura 3. Matriz lignocelulósico. ....	25
Figura 6. Estructura general de la biomasa hemicelulosica. ....	28
Figura 7. Reacción de Hidrolisis en polimeros. ....	33
Figura 8. Formas de la glucosa, .....	34
Figura 9 Esquema de las reacciones químicas en la hidrólisis alcalina de la lignina .....	37
Figura 10. Azúcares reductores en el hidrólisis sin pretratamiento. ....	59
Figura 11. Azúcares reductores en la hidrólisis con pretratamiento. ....	59
Figura 12. Influencia de la temperatura en la hidrólisis en la producción de azúcares reductores.....	60
Figura 13. Azúcares reductores en la hidrólisis de la fracción sólida con pretratamiento y a 80°C. ....	61
Figura 14. Influencia de la cantidad de inóculo en el crecimiento bacteriano para la producción de azúcares reductores a 0.03N y 40°C.....	62
Figura 15. UFC en sustratos hidrolizados de la fracción líquida a 80°C con pretratamiento a 0.03N y 40°C.....	63
Figura 16. UFC en sustratos hidrolizados de la fracción sólida a 80°C con pretratamiento a 0.03N y 40°C. ....	64
Figura 17. Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0%.....	90
Figura 18. Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0.1%.....	92
Figura 19. Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0.2%.....	94
Figura 20. Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0.3%.....	96

Figura 21. Evaluación de la temperatura en el hidrólisis de la cáscara de yuca 0.4% .....	98
Figura 22. Cinética de Hidrólisis de la concentración de Azúcares de la cáscara de yuca hidrolizada.....	101

## RESUMEN

La yuca es un insumo indispensable en los platos de la cocina peruana, este producto deja como residuo la corteza con la cascarilla; este residuo representa el  $10.13 \% \pm 0,5864$  en peso respecto a la yuca, es rico en carbohidratos, proteínas y minerales. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el proceso de pretratamiento e hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca para obtener un sustrato viable para las bacterias *Lactobacillus casei*. El pretratamiento se realizó a  $40^{\circ}\text{C}$  con NaOH a 0.0, 0.03 y 0.05 N, por 1 hora, se evaluó mediante la producción de azúcares reductores en la hidrólisis alcalina, resultando el mejor pretratamiento a 0.03 N de NaOH a  $40^{\circ}\text{C}$ , por 1 hora; para la hidrólisis, se licuó 50 g. de cáscara pretratada con 200 mL de agua, separando la fracción líquida de la sólida; la fase líquida se utilizó directamente como sustrato y la fracción sólida se hidrolizó con 200 mL de NaOH a (0.0, 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4)%, resultando la mejor condición de hidrólisis a 0,3% de NaOH,  $80^{\circ}\text{C}$ , durante 75 min para la fase sólida, obteniéndose un sustrato con 343 mg/L en azúcares reductores (DNS) con una conversión del 50.01% de la biomasa, está reacción es de primer orden con una constante específica de velocidad de 0.9253, con una regresión de la curva cinética de  $R^2 = 0.9996$ . Para el crecimiento bacteriano, los sustratos se llevaron hasta un pH entre 4.5 - 5.5 con ácido fosfórico, inoculadas con 1 mL de cepas *Lactobacillus casei* a  $10^4$  UFC; para la fracción líquida se alcanzó el mayor crecimiento en placa a las 24.5 horas a  $36^{\circ}\text{C}$ , su velocidad específica de crecimiento de 0.3064 Log UFC/hora, tiempo de latencia de 4.3826 horas y  $R^2 = 0.9987$  y para el sustrato de la fracción sólida su velocidad de crecimiento fue de 1.4655 Log UFC/hora, tiempo de latencia de 19.2004 horas y  $R^2 = 0.9941977$ ; demostrando la viabilidad de los sustratos que se obtuvieron por pretratamiento e hidrólisis alcalina para los *Lactobacillus casei*.

**Palabras clave:** Viabilidad, Hidrólisis, *Lactobacillus*, Cáscara y Azúcares Reductores.

## ABSTRACT

The yucca is an indispensable supply in the dishes of Peruvian cuisine, this edible root leaves the bark of the husk as residue; This residue represents  $10.13\% \pm 0.5864$  by weight with respect to cassava, it is rich in carbohydrates, proteins and minerals. The present work aimed to determine the process of pretreatment and alkaline hydrolysis of yucca husk to obtain a viable substrate for *lactobacillus casei* bacteria. The Pretreatment was carried out at  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  with NaOH at 0.0, 0.03 and 0.05 N, for 1 hour, it was evaluated by the production of reducing sugars in alkaline hydrolysis, the best pretreatment at 0.03 N of NaOH at  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  was obtained, by 1 hour; for hydrolysis, 50 g was liquefied. of shell pretreated with 200 mL of water, separating the liquid fraction from the solid; The liquid phase was used directly as a substrate and the solid fraction was hydrolyzed with 200 mL of NaOH at (0.0, 0.1, 0.2, 0.3 and 0.4)%, resulting in the best hydrolysis condition at 0.3% NaOH,  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , for 75 min for the solid phase, obtaining a substrate with 343 mg / L in reducing sugars (DNS) with a conversion of 50.01% of the biomass, this reaction is of the first order with a specific speed constant of 0.9253, with a regression of the kinetic curve of  $R^2 = 0.9996$ . For bacterial growth, the substrates were brought to a pH of 4.5-5.5 with phosphoric acid, inoculated with 1 mL of *lactobacillus casei* strains at  $10^4$  UFC; for the liquid fraction the highest plate growth was achieved at 24.5 hours at  $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ , its specific growth rate of 0.3064 Log UFC / hour, latency time of 4.3826 hours and  $R^2 = 0.9987$  and for the solid fraction substrate its growth rate of 1.4655 Log UFC / hour, latency time of 19.2004 hours and  $R^2 = 0.9941977$ ; demonstrating the viability of the substrates that were obtained by pretreatment and alkaline hydrolysis for *lactobacillus casei*.

**Keywords:** Viability, Hydrolysis, Lactobacillus, Shell and Reducing Sugars.



# I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACION

## 1.1 Identificación del problema

El cultivo de yuca es una actividad significativa en la agricultura peruana, propia de la costa y la selva, la comercialización e industrialización de este producto generan grandes volúmenes de cáscara que están compuestas por hidratos de carbono (biomasa), la fracción ligno-celulósica tiene una estructura compleja que consta de dos polímeros de carbohidratos, (Tejada Benítez et al., 2010) la celulosa (35-50%) y la hemicelulosa (15-25%), y un polímero fenólico la lignina (20-25%) .(Martinez Galisteo, Padilla Peña, Garcia Alfonso, Barcena Ruiz, & Diez Dapena, 2011) La hidrólisis alcalina, ácida o enzimática pueden transformar estos componentes en unidades monoméricas de glucosa, el grado de conversión permitirá decidir el método de elaboración del sustrato viable para la bacteria probiótica *Lactobacillus casei*. La obtención de un sustrato a partir de los residuos de la raíz de yuca mediante la hidrólisis por ácidos o hidróxidos o enzimas, es una reacción química en la cual se rompe necesariamente un enlace entre dos átomos o moléculas para producir azúcares fermentables, estos métodos requieren de un pretratamiento para vencer el obstáculo de la lignina que es una barrera para la hidrólisis de la celulosa presente en la cáscara de yuca.

## **1.2 Formulación del problema**

Para el aprovechamiento de la cáscara de yuca, luego de retirar la cascarilla que se encuentra adherida a la epidermis de la raíz, se desarrolló un método para liberar la celulosa de la lignina y luego hidrolizarla para obtener un sustrato con alto contenido de azúcares fermentables que permiten la viabilidad para las bacterias *lactobacillus casei*.

### **1.2.1 Problema general**

¿Cómo obtener un sustrato viable para las bacterias *lactobacillus casei* de la cáscara de yuca?

### **1.2.2 Problemas específicos**

¿Cuáles son las condiciones óptimas para la hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca?

¿Cómo evaluar la viabilidad del sustrato y la cinética de crecimiento que se obtiene por la hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca para las bacterias *lactobacillus casei*?

## **1.3 Objetivos de la Investigación**

### **1.3.1 Objetivo general**

Determinar el proceso de pretratamiento e hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca para obtener un sustrato viable para las bacterias *lactobacillus casei*.

### **1.3.2. Objetivos específicos**

Determinar las condiciones óptimas del pretratamiento y de hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca para obtener un sustrato viable para el crecimiento bacteriano de los *lactobacillus casei*.

Evaluar la viabilidad y la cinética de crecimiento bacteriano (*Lactobacillus casei*) en los hidrolizados de la cáscara de yuca.

#### **1.4 Justificación**

Por la naturaleza orgánica de la biomasa de la cáscara de yuca, contiene almidones, azúcares y otros polisacáridos como la celulosa, hemicelulosa y lignina, este último es inhibitorio para el crecimiento bacteriano (Gil, 2017) por lo que no es deseable la presencia de lignina que acompaña generalmente a la fibra y la epidermis; existen procedimientos que permiten hidrolizar la fracción celulósica y lignocelulosa en vegetales, en el presente trabajo se ha propuesto efectuar la hidrólisis alcalina antecedida por un pre-tratamiento térmico y ligeramente alcalino del material lignocelulósico presente en la parenquima cortical (cáscara interna) de la yuca para obtener un sustrato rico en azúcares fermentables. Según antecedentes metodológicos de (Johnny & Pineda, 2013), muestra el desarrollo de la hidrólisis de la fracción lignocelulósica en cáscaras.

El presente trabajo busca identificar oportunidades y avances en materia de bioprocesos para el aprovechamiento de la cáscara de yuca en la obtención de productos fermentables.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes de estudio

La producción de yuca cuenta con grandes áreas de cultivo en zonas y regiones del país, las que son utilizadas en fábricas industriales donde se procesa este tubérculo (Ceballos & de la Cruz, 1990), quienes utilizan la parénquima interior o pulpa dejando como residuo la cáscara y cascarilla. La producción mundial de yuca se estima alrededor de 278 mil TM/año, de las cuales alrededor del 50% se encuentra en África, 30% en Asia y el 20% en América Latina, datos de (Ben-Belhassen & Abbassian, 2017).

La raíz de la yuca “Manihot esculenta” está compuesta de tres tejidos: el parenquima interior o pulpa, la entrecáscara o corteza o parenquima cortical; cascarilla o peridermis. La cascarilla y la cáscara representa el 15 – 20 % del peso de la raíz fresca y la pulpa el 80 – 85 %, en esta última porción existe entre el 90 – 95 % de almidón y en la corteza se encuentran las proteínas, grasas y minerales. (Marmolejo & Torres, 2016).

Los materiales lignocelulósicos requieren de un proceso de remoción de la lignina. El pre tratamiento de la fracción lignocelulósica, según (Johnny & Pineda, 2013) busca principalmente dos objetivos: Primero, desorganizar la estructura celular lignica del material para dejar expuesta la celulosa, con el objetivo de facilitar la acción de las enzimas o los ácidos en el proceso de la hidrólisis y obtener glucosa. Segundo, hidrolizar la hemicelulosa hasta xilosa y sus monómeros respectivos; para ambos hidrolizados hemicelulosicos y celulósicos, que contienen esencialmente xilosa y glucosa, respectivamente, se ha observado que la relación líquido-sólido es un factor determinante en el rendimiento y la concentración de la xilosa. Para (Gómez López, 2017), la hidrólisis

transforma los residuos celulósicos en glucosa, que por fermentación se convierte en biocombustible por la formación de etanol, este producto es posible obtenerlo mediante la hidrólisis de los residuos de la cáscara de yuca.

Generalmente se expone la preocupación de minimizar la presencia de sustancias que afectan la hidrólisis de materiales lignocelulosicos, por lo que se considera la etapa del pre tratamiento la cual consiste en adecuar este material para la obtención de azúcares reductores (Kumakura & Kaetsu, 1983) y de esta manera tener mejor resultado en las etapas de hidrólisis y fermentación, desde el punto vista económico, esta etapa es crítica, porque tiene un gran costo de operación, además menciona que corresponde a esta etapa la responsabilidad de la posibilidad de la transformación de la fibra celulósica en azúcares.

En la investigación de (Reales, Castaño, & Zapata, 2016), sobre los pretratamientos químicos de la deslignificación de tallos de yuca se indica que el pretratamiento alcalino remueve mayor cantidad de lignina comparándolos con los métodos organosolv y ácido, siendo la concentración de NaOH el factor más influyente, indica que el método organosolv es el que remueve menos lignina.

En la investigación de (Aruwajoye, Faloye, & Kana, 2017) se realiza el tratamiento térmico de la cáscara de yuca para la producción de azúcares fermentable (A.F.); para el pretratamiento indica que la temperatura de remojo *óptima* es de 69.62 °C y el tiempo de remojo fue de 2.57 h, además de 5 minutos en autoclave para la esterilización; se desarrolla la hidrólisis con ácido clorhídrico al 3.68 % y una carga de sólidos de 9.65 %, con lo cual logra obtener un rendimiento de 0.93g A.F./g de cáscara de yuca pretratada.

En el trabajo de investigación de (Monsalve, Isabel, Pérez, Adriana, & G, 2006) se desarrolla la hidrólisis ácida del almidón de yuca donde se evaluó la concentración de almidón para poder obtener azúcares reductores, utilizo ácido sulfúrico al 20% (40 - 50 mL / 500 g) y afirma

que la concentración de almidón de yuca *óptima* es de 170 g/L, a un pH de 0.8 por 5 horas se logra una conversión completa a azúcares reductores.

Además, se puede apreciar en el trabajo de (Pintau, 2006), sobre la caracterización e hidrólisis ácida y enzimática de residuos agrícolas como sustrato para la producción de etanol, durante el pre tratamiento de estos residuos se liberan celulosa y la hemicelulosa, que por hidrólisis se descomponen en azúcares fermentables.

En la tesis de (Espinosa, 2013) trata al residuo biomásico del plátano mediante la hidrólisis alcalina con NaOH a tres concentraciones: 1,5; 2,0 y 2,5 mol/L, y a tres temperaturas: 50, 70 y 90 °C en un determinado tiempo para provocar la exposición y libre acceso a la celulosa y concluye que la mejor concentración de hidróxido de *sodio* fue de 2 molar a la temperatura de 70 °C.

En otras investigaciones se ha evaluado la hidrólisis enzimática de yuca por celulosas y gluco-amilasas en el contexto de alta eficiencia. Si se hidroliza la celulosa el rendimiento de unidades D-glucosa se incrementa;(Kosugi et al., 2009), reporta que la pulpa de yuca contiene aproximadamente 60% de almidón y 20% de fibra de celulosa, en la que se hidrolizó la celulosa utilizando la *trichoderma reesei cellulase*.

En el Perú todavía no se legisla y normaliza eficazmente el aprovechamiento de los residuos orgánicos que generan las industrias que procesan las frutas, verduras y tubérculos (Lázaro & Arauzo, 1994) propone el aprovechamiento de los residuos sólidos de la industria de conserva de vegetales.

El aprovechamiento integral de los materiales lignocelulosicos según la gran variedad de las fuentes que provienen, se aprecia en (Álvarez et al., 2012) que abarca desde cultivos energéticos diseñados para tal fin hasta residuos forestales, en donde depende de los criterios técnicos y económicos; en particular en los países tropicales es común encontrar

fuentes de lignocelulosa con gran potencial para ser usadas en la producción de biocombustibles.

Los prebióticos son compuestos que el organismo no puede digerir, pero estimulan, de manera selectiva, el crecimiento y la actividad de las bacterias beneficiosas. Son hidratos de carbono (una “fibra especial”) presentes en algunos alimentos que a pesar que nuestro sistema digestivo no es capaz de digerir, son fermentados en el tracto gastrointestinal y utilizados como “alimento” por determinadas bacterias intestinales beneficiosas. Los prebióticos más estudiados son dos: la inulina y los fructo-oligosacáridos (conocidos también como FOS), y pueden aparecer de forma natural en algunos alimentos o ser añadidos por el fabricante para agregarles beneficios concretos, (Fond et al., 2015)

## 2.2 Marco Teórico

### 2.2.1 La yuca

La yuca es una planta monoica, que presenta ramificaciones simpodial y porte arbustivo. Debido a la forma de cultivo y las condiciones ecológicas, su altura varía de 1 a 3 m. (Domínguez, 1983).

La yuca o mandioca “*manihot esculenta crantz*” pertenece a la familia euphorbiaceae la cual está constituida por unas 7,200 especies que se caracterizan por el desarrollo de vasos laticíferos compuestos por células secretoras o galactocitos, que producen una secreción lechosa. Su centro de origen genético se encuentra en la Cuenca Amazónica según (Fretes Francisco, 2010), la siembra de este producto se adapta a diferentes condiciones geográficas, tolera sequías pues la fisonomía de la planta tiene mecanismos de defensa y puede adaptarse a los cambios climáticos. La **FAO** señala que la yuca es la tercera

fuelle más importante de calorías en las regiones tropicales, después del arroz y el maíz. Ver Tabla 1.

*Tabla 1*  
*Taxonomía "manihot esculenta crantz"*

División	Fanerógama
Subdivisión	Angiosperma
Clase	Dicotiledónea
Orden	Euforbiales
Familia	Euforbiáceas
Género	Manihot
Especie	Esculenta
Nombre científico	<i>Manihot esculenta crantz</i>
Variedades comerciales	Valencia, Negrita, Lima 21, Lima 40, Tailima, entre otras.

*Fuente: Valdez, J.; Hernández, R. 2014. Guía técnica para la producción de yuca.*

La mandioca es un alimento rico en hidratos de carbono complejos (principalmente almidón), fibra, también contiene proteína vegetal, vitaminas A, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub> o ácido fólico, C, K y minerales como el potasio, magnesio, fósforo, calcio, hierro y *sodio*. La yuca o guacamota tiene acción energética, depurativa, hipocolestemiante, neuroestimulante, antitrombótica, antioxidante, antiinflamatoria, inmunoestimulante, antibacteriana (uso externo).

La mandioca es un arbusto perenne, leñoso, de tamaño variable y fotoperiodo corto. En el continente africano tanto las hojas como las raíces son procesadas y utilizadas para el consumo humano ya que poseen un valor nutricional con niveles muy altos de proteínas como se puede apreciar en la siguiente *Tabla 2*.



*Tabla 2*  
*Concentración de elementos minerales en hojas y raíces de yuca*

Elemento	Concentración en hojas (mg/100g peso seco)		Concentración en raíces (mg/100g peso seco)	
	Promedio	D.E.	Promedio	D.E.
<b>Fe</b>	94.4	37.8	9.6	2.49
<b>Mn</b>	67.9	10.5	1.2	1.00
<b>B</b>	66.1	7.7	2.4	0.51
<b>Cu</b>	7.3	0.6	2.2	0.35
<b>Zn</b>	51.6	11.8	6.4	1.35
<b>Ca</b>	7198	888	1153	147
<b>Mg</b>	11.4	3.0	66.4	27
<b>K</b>	10109	903	8903	882
<b>P</b>	3071	234	1284	113
<b>S</b>	2714	145	273	40

Fuente: Ceballos y Cruz, 2003 *Hernán Ceballos y Gabriel Antonio De La Cruz A. Taxonomía y Morfología de la Yuca*

En la tesis de (Cerron Barrera, 2016) titulado “Inclusión de diferentes niveles de harina de cáscara de yuca (*manihot esculenta crantz*) en la alimentación de cuyes en fases de crecimiento y acabado” cita a (Mc Dowell, 1975) quien afirma que la yuca posee un elemento tóxico que es el ácido cianhídrico o prúsico, que se encuentra en mayor proporción en la cáscara. La presencia de este factor tóxico hace que el suministro se haga con mucho cuidado; ya sea sancochada, o en forma de harina. Así mismo cita a (Buitrago, 1990) quien afirma que la deshidratación natural por acción de los rayos solares es quizás el sistema más seguro para destruir el ácido cianhídrico. Ver tabla 3.

*Tabla 3*  
*Concentraciones de cianuro en plantas seleccionadas*

<b>Especies de Plantas</b>	<b>Concentración (mg/Kg)</b>
Hojas	377-500
Raíces	138
Raíces desecadas	46 <100
Puré	81
Punte de Bambú	Max. 8000
Poroto Blanco (Birmania)	2100
Almendra (Amarga)	280-2500
Sorgo (planta joven)	Max. 2500

*Fuente:*(Ronald, 1991)

**a) La raíz de yuca:** es la parte más utilizada y apreciada a escala comercial (Gil-Llanos, 2015) y esta se compone de tres tejidos: el peridermis, cáscara o cascarilla; parénquima cortical, entre cáscara o corteza y el parénquima interior o pulpa. Ver figura 1.



*Figura 1. Raíz de yuca. Fuente: Elaboración propia.*

La raíz de yuca consta de las siguientes partes según (Velásquez Serrano & Villanueva Sánchez, 2010)

- La película suberosa que se desprende fácilmente y que representa 1-2% de raíz total
- La cáscara o corteza que forma un 12-20% de la raíz
- El cilindro central o pulpa que tiene dos clases de elementos llenos de almidón forma 78-85% de la raíz. Ver tabla 4.

*Tabla 4*

*Composición media de la raíz, entera, de la corteza y del cilindro central en el porcentaje*

Fracciones	Raíz entera		Corteza		Cilindro central	
	Húmeda	seca	Húmeda	seca	Húmeda	Seca
<b>Humedad</b>	61.0	-	72.0	-	59.0	-
<b>Proteína{</b>	1.2	3.1	1.5	5.4	1.0	2.4
<b>Grasa</b>	0.4	1.1	0.6	2.1	0.4	1.0
<b>Carbohidratos</b>	34.9	89.4	21.7	77.5	37.3	91.0
<b>Fibra</b>	1.2	3.1	2.1	8.9	1.1	2.7
<b>Cenizas</b>	1.3	3.3	1.7	6.1	1.2	2.9

*Fuente:* (Velásquez Serrano & Villanueva Sánchez, 2010)

## **b) La cáscara de yuca**

En el trabajo de investigación de (Rosales & Páucar, 1996) explica que la cáscara de yuca es un subproducto obtenido de la utilización de la raíz de yuca, tanto en alimentación humana directa como en la industrialización, la cáscara es en gran proporción parte del residuo, que se acumula y desecha; es una necesidad dar uso a dichos restantes, que pueden utilizarse como fuente de energía renovable, evitando así vectores negativos que afectan el medio ambiente.

En el proyecto de investigación de (Ceballos & Ospina, 2003) afirma que la cáscara esta compuesta por la corteza y la peridermis, esta a su vez esta compuesta por células de corcho (felema o súber) muertas que envuelven la superficie de la raíz. Al aumentar el diametro de la raíz , la continuidad de las capas celulares se rompe, lo cual causa fisuras longitudinales lo cual le da su característica a su superficie. Por debajo de estas fisuras se forman nuevas células de corcho a partir del felogeno, presentan una coloracion que va desde el blanco o crema, hasta el café claro y el marron oscuro. Por debajo de la peridermis se encuentra la corteza o capa cortical (felodermis); este tejido es de 1 a 2 mm de espesor, su color varia desde blanco, crema, hasta el rosado. En la corteza estan presente los tejidos del floema, las cuales contienen las mas altas concentraciones del glucosido *cianogénico*.

En el trabajo del “Uso de la cáscara de yuca en raciones para cerdos en crecimiento” (Rosales & Páucar, 1996), menciona también que la cáscara de yuca, en base seca, aporta 2000 kcal/kg de energía digestible para cerdos, 5,3% de proteína y niveles relativamente altos de fibra (14%). Es deficiente en aminoácidos azufrados tales como lisina (0.1%) y metionina-cistina (0.06%). Los valores de calcio y fósforo son de 0.90 y 0.30%, respectivamente.

La harina de cáscara de yuca, contiene regulares niveles de carbohidratos solubles, por lo que se considera un insumo energético, que podría reemplazar, en proporciones adecuadas, a otros insumos más costosos, tal como el polvillo de arroz, vease la Tabla N° 5 “*Composición química de la harina de yuca de la raíz completa y de la raíz sin cáscaras (base seca)*”

*Tabla 5*  
*Composición química de la harina de yuca de la raíz completa y de la raíz sin cáscaras (base seca)*

<b>Componentes</b>	<b>Contenido (%)</b>	
	<b>Raíz con cáscara</b>	<b>Raíz sin cáscara</b>
<b>Materia seca</b>	100.00	100.00
<b>Carbohidrato disponible</b>	83.80	92.4
<b>Proteína Cruda</b>	3.05	1.56
<b>Ceniza</b>	2.45	2.00
<b>Hemicelulosa</b>	1.16	1.45
<b>Extracto entero</b>	1.04	0.88

*Fuente: Extraído de Buitrago 1990*

## **2.2.2 Materiales Lignocelulosicos**

Según (Correa-Guimaraes, 2015) en su tesis doctoral “Aprovechamiento de residuos lignocelulósicos para la producción de biocombustibles y bioproductos” afirma que los materiales lignocelulósicos o metabolitos primarios son hidratos de carbono (azúcar simple, almidón, celulosa, etc.) y lignina.

Los materiales lignocelulósicos presentan una estructura y composición química heterogénea (González, 2018), están constituidos principalmente por tres polímeros presentes en la pared vegetal, celulosa (40-50%), las hemicelulosas (20-30%) y lignina (10-30%), así mismo afirma que existen otros compuestos minoritarios de bajo peso molecular, solubles en disolventes orgánicos o agua y pequeñas cantidades de proteínas y sales minerales. (ver Figura 2)

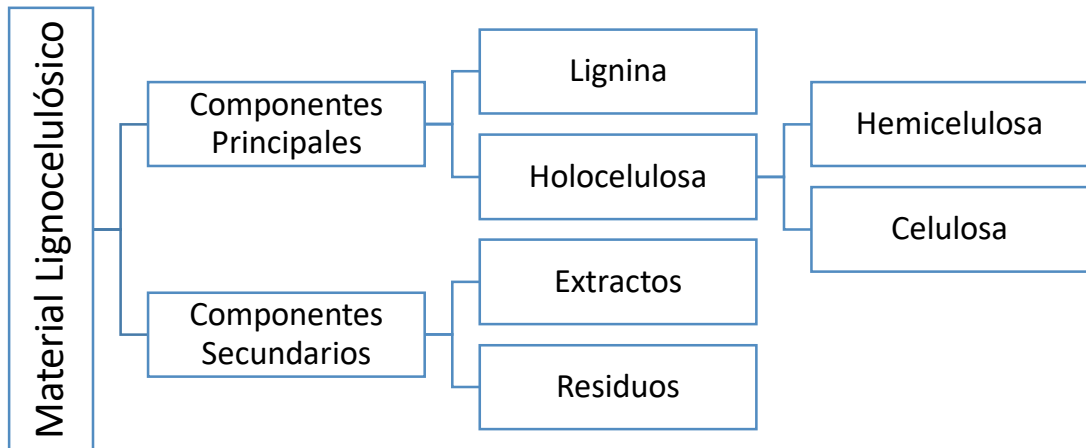


Figura 2. Componente de biomasa de lignocelulosa. Fuente: (Romero, 2003)

En la investigación del pretratamiento de la biomasa celulósica para la obtención de etanol en el marco de una refinería de Barroso, se considera al material celulósico como un material lignocelulósico (MLC) que está constituido por los tejidos de los vegetales cuya celulosa forma capas recubiertas de hemicelulosa y sobre las que se deposita la lignina, esta estructura surge como una necesidad de los vegetales.

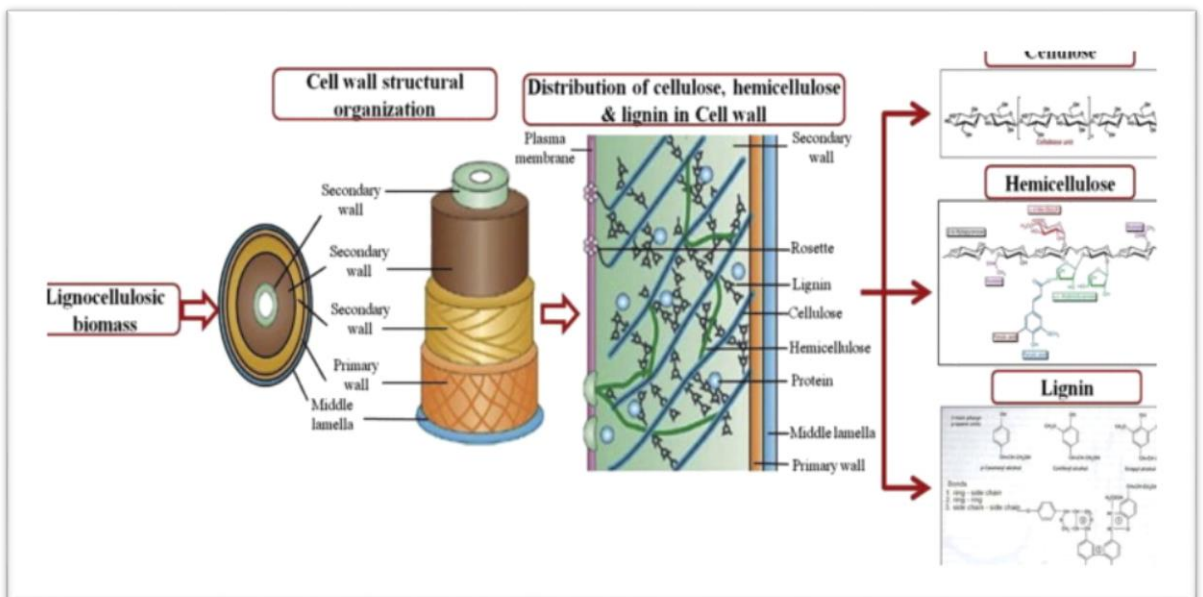


Figura 3. Matriz lignocelulósico. Fuente: (Menon & Rao, 2012)

Esta pared celular permite crear y sostener la estructura aérea en las plantas para captar la radiación solar, así tejidos con células lignificadas dota a sus órganos, principalmente a los tallos de mayor esbeltez y mayor resistencia mecánica, además de mejorar su regulación hídrica y su resistencia a patógenos. Ver figura 3.

### *Lignina*

Es de naturaleza no polisacárida, se encuentra en las paredes celulares, complejo polimérico aromático, amorfo, insoluble en agua, su precursor es fenoxi que son radicales libres y pueden tomar diferentes formas, esto hace que la lignina tenga diferentes formas de estructura polifenilpropanoide, donde las unidades básicas están unidas mediante C-C y uniones aril-eter, su forma depende de cómo interactúa con la celulosa y la hemicelulosa, (Alvarez, 2012)

### *Celulosa*

Es un polímero sencillo lineal de monómeros de glucosa compuesto de unidades  $\beta$ -D-glucopiranosas, estas a su vez están unidas por medio de enlaces glucosídicos en la configuración  $\beta$  (1-4), lo cual permite la formación de la unidad de celobiosa que es la unidad más pequeña que se repite en la cadena polimérica. (Fontecha, 2011), son de dos tipos: la nativa o cristalina, como el algodón o el papel de filtro y la celulosa modificada que es amorfa y soluble como el carboximetilcelulosa. (Ver Figura 4 .)

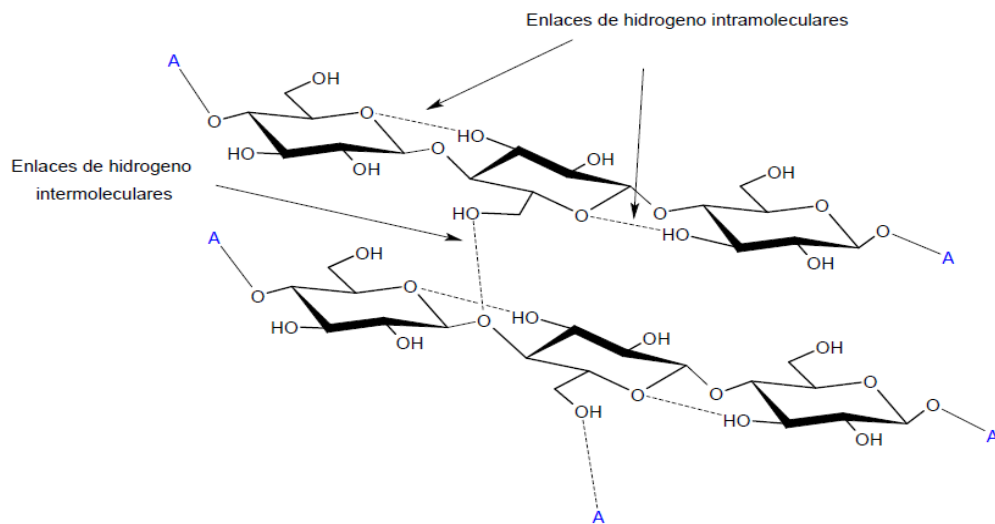


Figura 4. Estructura de la celulosa. Fuente: Mateus 2011

### Hemicelulosa

Es un polímero complejo con un peso molecular más bajo que la celulosa, esta formado por pentosas y hexosas los cuales estan unidas entre sí por enlaces glicosidos  $\beta$ -1,4 y, en ocasiones, por  $\beta$ -1,3. (Pérez, Muñoz-Dorado, De La Rubia, & Martínez, 2002). Ver figura 5

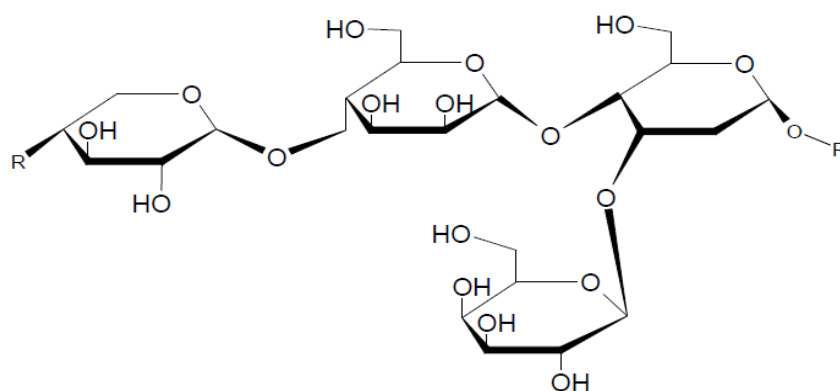


Figura 5. Estructura de la hemicelulosa. Fuente: (Arellano Perales, Houbron, & Elena Rustrían Portilla ORIZABA, 2015)



### 2.2.3 Biomasa

En el artículo de investigación científica y tecnológica de (Cortes, 2013) afirma que la biomasa que proviene de plantas, árboles y desechos de animales, que es la materia orgánica que puede ser utilizada para producir energía a gran escala lo cual pretende sustituir los combustibles fósiles. Así mismo afirma que la biomasa puede servir como materia prima en la producción de sustancias químicas de gran valor comercial.

#### Biomasa lignocelulosa

En la tesis de (Arellano Perales et al., 2015) denominada “obtención de bioetanol a partir de materiales lignocelulósicos sometidos a hidrólisis enzimática” menciona que la biomasa lignocelulosa es una matriz compuesta principalmente por celulosa, esteres extraíbles, lignina, carbohidratos, hemicelulosa, proteínas y material animal. Es un heteropolímero complejo y el componente estructural de las plantas. Ver figura 6.

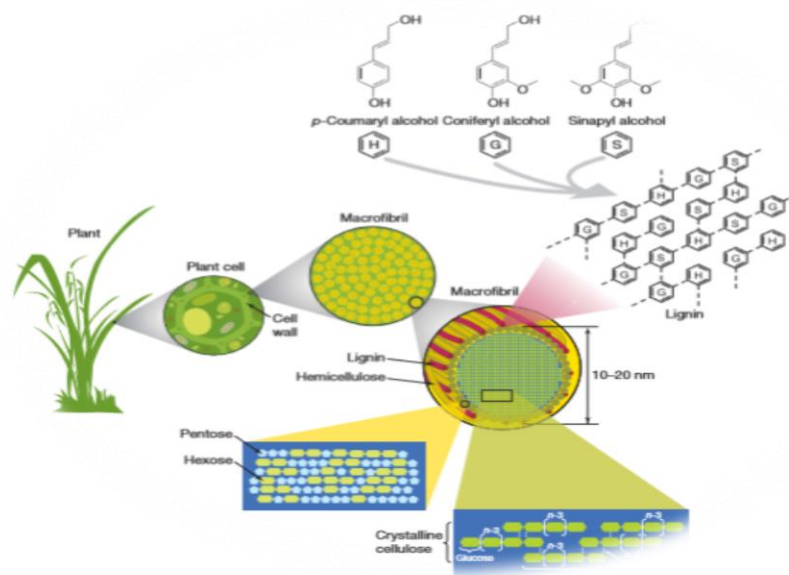


Figura 6. Estructura general de la biomasa hemicelulosa.  
Fuente: (Rubin, 2008)

## 2.2.4 Alimento Nutracéutico

Los alimentos nutracéuticos son aquellas sustancias químicas o biológicas que pueden estar presentes como componentes naturales de los alimentos o adicionarse a los mismos y que resultan especialmente beneficiosos tanto en la prevención de enfermedades como en la mejora de las funciones fisiológicas del organismo. (Monsalve et al., 2006).

### a) *Prebiótico*

Los prebióticos se definen como sustancias no digeribles que brindan un efecto beneficioso para el organismo estimulando selectivamente el crecimiento favorable o la actividad de un número determinado de bacterias autóctonas, (Oliveira Fuster & González-Molero, 2007)

La importancia de los prebióticos: radica en sus efectos fisiológicos que van desde el aumento de la absorción del calcio por parte de los fructooligosacáridos a los efectos derivados de su interacción con las bacterias saprofitas, es decir, mejora del metabolismo de la glucosa y los lípidos por los ácidos grasos de cadena corta y protección contra las infecciones. En el trabajo de (Roberfroid, 2007) se muestran los efectos benéficos para la salud como:

- Efecto bifidogénico, proliferación de bacterias anaerobias y disminución de microorganismos potencialmente patógenos
- Balance hidroiónico intestinal, ya que acidifican la luz intestinal Trofismo de coloncitos.
- Modulación positiva de la inmunidad, citokinas e inmunoglobulina A.
- Efecto metabólico: favorece el metabolismo lipídico y glucídico a nivel sistémico.
- Producción de ácidos grasos de cadena corta a nivel local.

### b) *Probiótico*

Según (Oliveira Fuster & González-Molero, 2007) en su trabajo de investigación “probióticos y *Prebióticos* en la práctica clínica” afirma que los probióticos son sustancias secretadas por los microorganismos que estimulan el crecimiento de otros, así mismo afirma que en la actualidad son un producto que contiene cepas de microorganismos viables que brindan efectos beneficiosos al que los consume. Los probióticos son bacterias que presentan efectos beneficiosos para los seres humanos y los animales (Wahyono, Pudjono, & Widyati, 2010).

En la GMO (Guía Mundial de la Organización Mundial de Gastroenterología, 2017) nos dice que las especies más utilizadas como probióticos son los *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, pero la levadura *Saccharomyces Boulardii* y algunas de las especies *E. coli* y *Bacillus* también son utilizados, los probióticos presentan beneficios para la salud, como se puede visualizar en la tabla 6.

### **c) Fibra**

Según (Jayaraman, 2003), menciona que las fibras proporcionan resistencia y rigidez y actúan como refuerzo en un material compuesto reforzado con fibra. Afirma también que las fibras naturales son compuestas de fibrillas de celulosa huecas mantenidas juntas por una matriz de lignina y hemicelulosa, las propiedades mecánicas dependen del contenido de celulosa en la fibra, del grado de polimerización de la celulosa y del ángulo de microfibrilla.

*Tabla 6*  
*Beneficios de los probióticos en la salud*

	Modulan el perfil de citoquinas
	Inducen tolerancia a antígenos alimentarios
Beneficios inmunológicos	Activan a los macrófagos para que aumenten la presentación de antígenos a los linfocitos B y que aumenten la secreción de inmunoglobina A tanto a nivel local como sistémico
	Modificar las toxinas de los patógenos
	Mejoran la función de la barrera intestinal
	Compiten por la adherencia de los patógenos
	Eliminan los radicales superóxidos
Beneficios no inmunológicos	Producen bacteriocinas que inhiben los patógenos
	Alteran el pH local para crear un ambiente local desfavorable para los patógenos
	Estimulan la producción de mucina por parte del epitelio
	Digieren el alimento y compiten con los patógenos nutrientes

*Fuente:* (Guía Mundial de la Organización Mundial de Gastroenterología, 2017)

### **2.2.5 Pretratamiento de Material Lignocelulósicos**

Los pretratamientos de material lignocelulósico presentan como finalidad remover la lignina, hidrolizar la hemicelulosa a azúcares fermentables, y reducir la cristalinidad de la celulosa para liberar la glucosa. (Cuervo, Folch, & Quiroz, 2001)

#### **a. Acido**

En la tesis de (González, 2018) menciona a Jones y Semrau (1984), quienes afirman que en este pretratamiento, los ácidos tanto diluidos como concentrados son utilizados como catalizadores, este

pretratamiento pretende solubilizar la fracción de hemicelulosas para que la celulosa sea más accesible a las enzimas. Los ácidos concentrados permiten obtener mayor rendimiento, pero se debe emplear grandes cantidades de estos, a su vez que son tóxicos.

#### **b. Alcalino**

En la investigación de (Carvalho, Duarte, & Gírio, 2008) menciona que el pretratamiento alcalino aumenta la digestibilidad de la celulosa, este tipo de pretratamiento puede dividirse en dos grupos: i) pretratamientos que utilizan *sodio*, potasio o hidróxido de calcio; y ii) pretratamientos que utilizan hidróxido de amonio. Este método es más eficaz para la solubilización de lignina exhibiendo celulosa y solubilización de hemicelulosas.

#### **c. Biológico**

En la tesis de (Arellano Perales et al., 2015) afirma que los principales organismos que descomponen la lignina están presentes en el grupo de los hongos, estos degradan los polímeros mediante la secreción de enzimas extracelulares. Así mismo afirma que este método presenta mayor rendimiento por producto y pocas reacciones laterales, sin embargo, la velocidad de hidrólisis en la mayoría de procesos es muy baja.

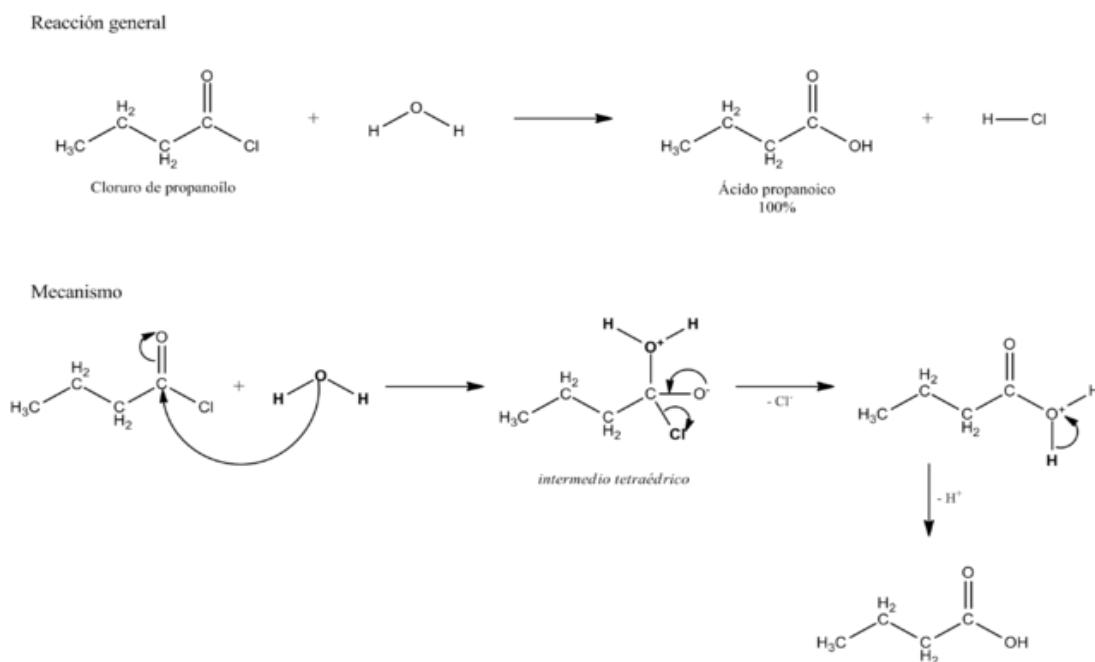
#### **d. Térmico**

Durante este pretratamiento el material lignocelulósico se calienta, por encima de 150-180 °C comenzara a solubilizarse la hemicelulosa y poco después la lignina. Este rango de temperatura es probablemente una indicación, ya que dependerá de la composición del material lignocelulósico. Durante este proceso parte de la hemicelulosa se hidroliza y forma ácidos, los cuales siguen catalizando el hidrólisis de la hemicelulosa. (Cortes, 2013).

## 2.2.6 Hidrolisis

La **hidrólisis**, en química, es una reacción de descomposición doble con agua como uno de los reactivos. Por lo tanto, si un compuesto está representado por la fórmula AB en la que A y B son átomos o grupos y el agua se representa por la fórmula HOH, la reacción de hidrólisis puede representarse por la ecuación química reversible:  $AB + HOH \rightleftharpoons AH + BOH$ .

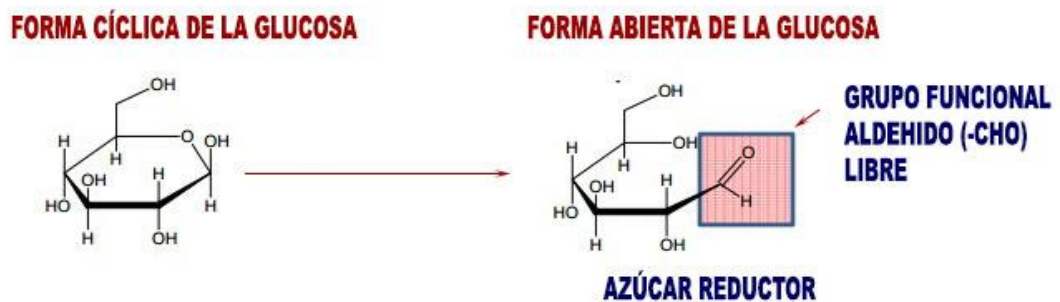
Los reactivos distintos del agua y los productos de la hidrólisis pueden ser moléculas neutras -como en la mayoría de las hidrólisis que implican compuestos orgánicos- o moléculas iónicas, como en las hidrólisis de sales, ácidos y bases. (Ver figura 7).



*Figura 7. Reacción de Hidrolisis en polimeros. Fuente: Encyclopedia Britannica, 2016*

En la biotecnología y los organismos vivos, estas sustancias son a menudo polímeros (Encyclopedia Britannica, 2016).

La hidrólisis de la celulosa y hemicelulosa considera la transformación de almidones en sustancias más simples como en azúcares, se puede lograr por hidrólisis (Reyna, Robles, Reyes, Mendoza, & Romero, 2004); la sacarificación, que es la transformación del almidón en azúcares fermentables: sacarosa, glucosa, maltosa y lactosa, que son azúcares reductores, la reactividad de los distintos azúcares se debe a la presencia del grupo carbonilo, que en el caso de los azúcares reductores el grupo carbonilo está presente de una forma abierta la cual no es muy estable. En la *Figura 8* se aprecia las dos formas de la glucosa.



*Figura 8. Formas de la glucosa, Fuente: Delgado 2015*

### 2.2.7 Proceso de Hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa.

La acción de químicos o enzimas liberan hexosas y pentosas de la hemicelulosa y alternativamente glucosa de la celulosa. La hidrólisis provoca la ruptura de los polímeros de celulosa y hemicelulosa, obteniéndose los monómeros respectivos. La hidrólisis completa de celulosa da exclusivamente el monómero D-glucosa, mientras que a partir de las hemicelulosas se obtienen un conjunto de pentosas y hexosas, como manosa, glucosa, xilosa, etc. Los azúcares de cinco carbonos son difíciles de fermentar por los microorganismos comunes. (Tahezadeh & Karimi, 2008)

**1) Hidrólisis ácida:** son procesos químicos que tratan la hidrólisis de los polímeros de la celulosa y hemicelulosa en monosacáridos. Los ácidos más empleados son el ácido *sulfúrico* y clorhídrico.

- **Ácido concentrado:** obtienen alto rendimiento, casi del 90% de la glucosa potencial y requieren baja temperatura, pero son procesos de alto costo pues se debe recubrir todo el material y no es sencilla toda su recuperación o neutralización.
- **Ácido diluido:** se requieren altas temperaturas y presentan rendimientos muchos menores. La alta temperatura induce la degradación de los azúcares hemicelulósicos, sobre todo cuando los tiempos de residencia son largos.

La hidrólisis ácida presenta un rendimiento relativamente bajo y alta formación de subproductos, necesitando un alto consumo de energía, mientras que la hidrólisis enzimática consume menos energía y puede dar un producto puro con rendimiento cuantitativo, pero la enzima es una macromolécula por lo que su acceso a la celulosa está restringido por muchos factores que no afectan a la catálisis ácida, el obstáculo principal es la envoltura de lignina en torno a las fibras celulósicas por ello se debe tomar en cuenta un pre tratamiento.

**2) Hidrólisis enzimática:** Se utiliza un conjunto de enzimas producidos por microorganismos como hongos o bacterias, las células, que en realidad producen una mezcla de acciones enzimáticas sobre el sustrato que terminan con la degradación de este, las células más utilizadas y sobre las que más se han investigado pertenecen a hongos de los generos trichoderma, phanerochaete y fusarium (Barroso, 2010).

La susceptibilidad a la  $\alpha$ -amilasa y glucosidasa se debe a la gelatinización que sufren durante el tratamiento, probablemente como una consecuencia de la degradación molecular en conjunto con un incremento en la solubilidad en agua. (Martín & López, 2009).

**3) Hidrólisis alcalina:** Como el hidróxido de sodio diluido que produce un hinchamiento, permitiendo un incremento en el área de superficie interna de las células reduciendo el grado de polimerización



y cristalinidad de la celulosa, causando la separación de las uniones estructurales entre la lignina y los carbohidratos (Fan, Gharpuray, & Lee, 1988); el mecanismo de la hidrólisis alcalina de la biomasa parece estar basada en la saponificación de los enlaces ésteres intramoleculares que unen los xilanos de la hemicelulosa y otros componentes. La efectividad de este tratamiento depende del contenido de lignina del material a tratar. La literatura reporta que la digestibilidad de las maderas duras tratadas con NaOH aumenta de un 14% a un 55% con una remoción de lignina del 24-55%, con un contenido inicial del 20%. Para maderas blandas (contenido de lignina mayor al 26%) el método no es tan efectivo.

La disolución de la lignina empieza con la ruptura de los enlaces  $\alpha$ -arileter y arilgliceron- $\beta$ -aril- eter, fragmentando la lignina. La ruptura de los enlaces comienza con la protonación de grupos hidroxilo o éter en el carbono  $\alpha$  de un monómero dando lugar a la formación del correspondiente ácido conjugado, esta especie puede progresar la ruptura de los enlaces  $\alpha$  y  $\beta$  o condensarse en otros monómeros.

Se conocen tres mecanismos según la progresión del ácido conjugado:

- a) En el equilibrio ion oxonio de estructura quinónica correspondiente, cuya estabilidad supone la ruptura irreversible del enlace  $\alpha$ -arileter. Además, al presentar un exceso de carga en el carbono  $\alpha$  pueden experimentar una adición *nucleofílica* de una molécula de agua o alcohol.
- b) También puede ocurrir una sustitución *nucleofílica* por una molécula de agua o alcohol que produzca la ruptura del enlace  $\alpha$ -arileter.
- c) O incluso el ácido conjugado puede romper directamente el enlace  $\alpha$ -arileter y formar un carbocatión. Ver figura 9.

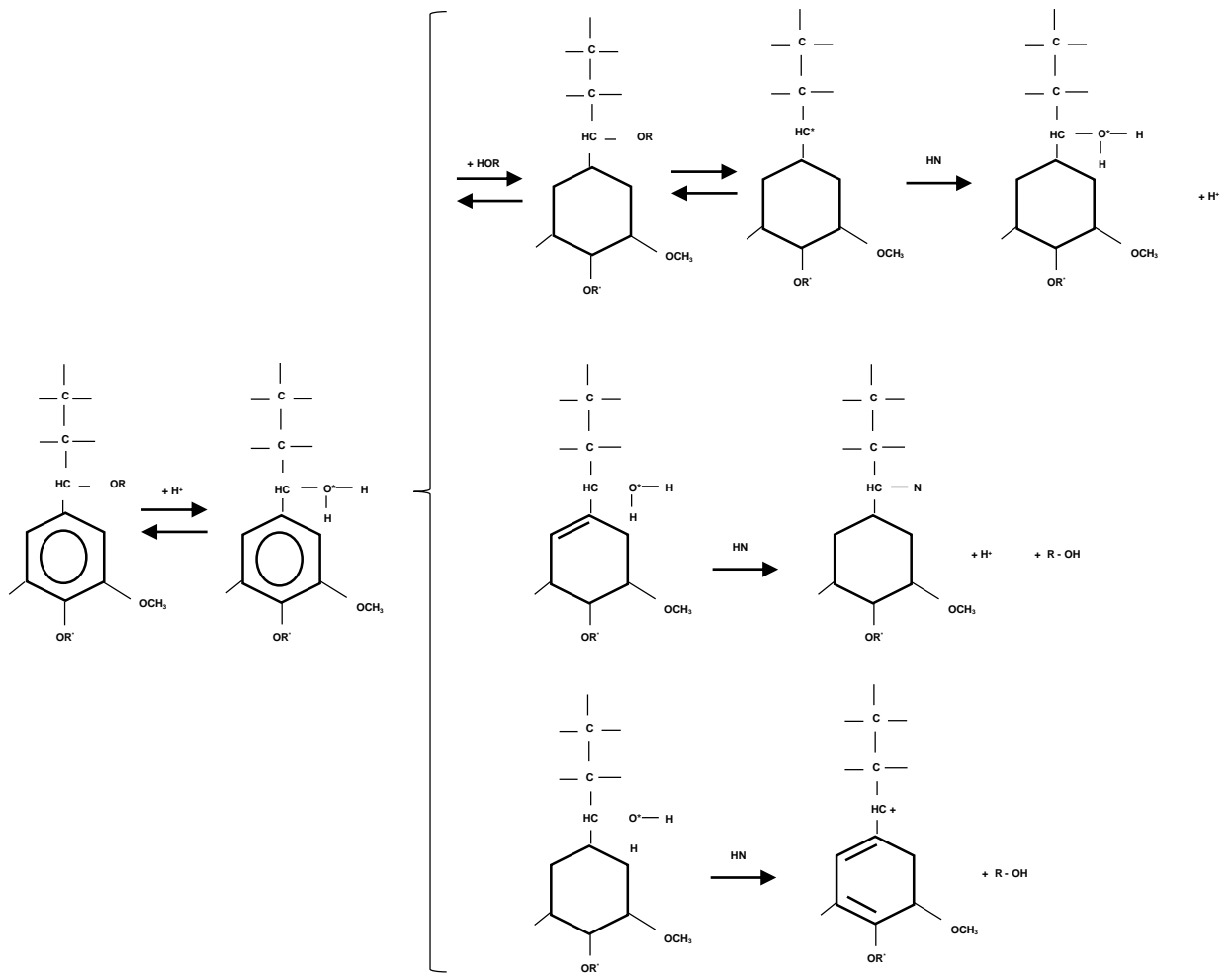


Figura 9 Esquema de las reacciones químicas en la hidrólisis alcalina de la lignina

**4) Factores que afectan la hidrólisis alcalina:** El modelado de la hidrólisis de un polímero es complicado, los factores que intervienen están estrechamente relacionados con los materiales lignocelulósicos como lo es tamaño, forma de partículas, y el tipo de estructura si es proveniente de maderas blandas o duras, de la misma manera intervienen las condiciones de la extracción, así la concentración del álcali, la temperatura, el tiempo, la agitación, se debe tener especial cuidado con la cantidad de material, el contacto interfacial, la interferencia con otros compuestos. (Espinosa, 2013)

**5) El grado y la velocidad de hidrólisis:** Estos parámetros dependen de muchos factores, entre otros del pH, de la temperatura,

de la concentración de biomasa hidrolítica, del tipo de materia orgánica y del tamaño de partícula y sobre todo del hidrolizante. El modelo que se obtuvo por la hidrólisis con ácido sulfúrico, en el cual la constante de velocidad de reacción estuvo en la función de la concentración del ácido, tiempo y temperatura sobre el proceso, después de pretratar el bagazo a las condiciones establecidas y llevar a cabo la hidrólisis ácida, (Al Arni, Zilli, & Converti, 2007), se cuantificaron los azúcares reductores totales, donde el mayor porcentaje de conversión fue a la concentración de ácido de 16%, a 75°C durante 60 minutos.

### **2.2.8 Viabilidad bacteriana**

En el trabajo de investigación de (Tamagnini & Paraje, 2015) “¿Qué son las bacterias viables no cultivables?” menciona que la viabilidad de las células bacteriana ha sido determinada, tradicionalmente, por su habilidad para crecer y formar colonias en medios de cultivo en el laboratorio o por estudios en animales.

La viabilidad bacteriana es afectada cuando las reservas energéticas de la célula se agota, la cual provoca el descenso del pH interno, desnaturalizando las proteínas y funciones de la célula. (Vásquez M. Sandra, Suárez M. Héctor, 2009)

## **2.3 Marco conceptual**

### **2.3.1 La cascara de yuca**

La cascara o corteza de yuca es el objeto del presente estudio, se genera en cantidades significativa en los lugares de procesamiento o comercialización de la raíz de yuca, contiene proteínas, carbohidratos, minerales que le confieren un alto valor nutricional, las muestras para esta investigación se han obtenido en los mercados del Callao.

Representa el (15 – 20)% respecto al peso total de la raíz; esta cascara contiene azúcares y en su estructura lignocelulósica prevalece la celulosa en forma de almidones fácilmente hidrolizables, lo que ayuda a

entender porque la fracción líquida no requiere de la hidrólisis alcalina y si lo requiere la fracción sólida.

### **2.3.2 Pretratamiento de la cascara de yuca**

El pretratamiento térmico garantiza la destrucción del cianuro, pese a que está presente en menor proporción que en las hojas de la planta de la yuca. El pretratamiento alcalino NaOH a bajas concentraciones de la cascara de yuca que es un material lignocelulósico y que se ha reducido de tamaño (4-5)mm, se realiza para remover la lignina, desestabilizar la hemicelulosa y la celulosa para facilitar el trabajo a la hidrólisis y obtener azúcares reductores (AR).

### **2.3.3 La hidrólisis alcalina de la cascara de yuca**

Como las paredes celulares en la cascara de yuca no son tan rígidas, no requiere de altas concentraciones de hidróxido de sodio en el proceso de hidrólisis, al aumento de los iones  $(OH)^-$  aumenta el riesgo de la formación de furfural que puede dañar al sustrato. La temperatura juega un rol importante en este proceso, al aumentar la temperatura incrementa la dilatación de los enlaces, siendo más fácil romper estos enlaces presentes en la celulosa y hemicelulosa en muestras pretratadas.

La evaluación de la hidrólisis de la cascara de yuca se realiza para determinar la eficiencia del método, la velocidad o cinética de hidrólisis mediante la determinación de la concentración de los azúcares reductores en los sustratos que se obtienen a través del tiempo y las condiciones de alcalinidad.

### **2.3.4 Viabilidad del sustrato para el *Lactobacillus casei***

La bacteria *Lactobacillus casei*, para su reproducción requiere de nutrientes que garanticen el crecimiento en las condiciones de

temperatura, pH, cantidad de inóculo y principalmente la calidad de nutrientes presentes en el sustrato.

En el presente trabajo de investigación se obtienen sustratos a partir de muestras con pretratamiento alcalino, las que se reducen de tamaño mediante un licuado con agua, donde se obtienen dos fracciones una líquida y la fracción sólida, la fracción líquida se utiliza directamente como sustrato por contener azúcares fermentables, se acondicionan las muestras del sustrato líquido a un pH de (6 – 6.5), se inocula con cepas activadas y se dejan a temperatura de 37 °C, para ser evaluados a través del tiempo.

El sustrato que se obtiene de la hidrólisis de la fracción sólida de la cascara de yuca pretratada, se acondicionan y se precede igual que la fracción anterior.

La viabilidad del sustrato se mide por la capacidad nutritiva y la presencia de sustancias inhibitorias presentes que limitan o favorecen el crecimiento bacteriano para obtener un alimento probiótico.

## **2.4 Definición de términos básicos**

**HIDRÓLISIS.** (Tahezadeh & Karimi, 2008), Es una etapa que provoca la ruptura de los polímeros de celulosa y hemicelulosa, obteniéndose los monómeros respectivos, como los azúcares reductores.

(Gómez López, 2017), Es una reacción química en la cual se rompe necesariamente un enlace entre dos átomos o moléculas para formar monómeros más simples que el original material lignocelulósico, intervienen agua, ácidos fuertes, álcalis o enzimas.

**CÁSCARA DE YUCA.** La cáscara de yuca representa entre el 15 a 20%, del peso total de la raíz y su calidad es bastante uniforme, la cual contiene mayor proporción de proteína, grasa, fibra y minerales que en la pulpa; y que al secar se transforman en harina. Es deficiente en

aminoácidos azufrados tales como lisina (0.1%) y metionina-cistina (0.06%). Los valores de calcio y fósforo son de 0.90 y 0.30%, respectivamente. (Buitrago, 1990)

**PROBIÓTICO.** De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la definición de probiótico es: «Microorganismos vivos que, cuando son suministrados en cantidades adecuadas, promueven beneficios en la salud del organismo huésped»

Según la Organización Mundial de Gastroenterología (Guía Mundial de la Organización Mundial de Gastroenterología, 2017), desde el punto de vista científico y estricto, el término probiótico debe reservarse para aquellos microorganismos vivos que han demostrado su beneficio para la salud en estudios realizados con personas.

**PREBIÓTICOS.** Son un tipo de hidratos de carbono que nuestro intestino no puede digerir, y tienen la capacidad de modificar de forma selectiva la flora intestinal, ya que son utilizados por los probióticos como sustrato alimenticio.

**CELULOSA.** Es una fibra vegetal que conforma las paredes celulares de los árboles y otras plantas y que representa el 50% de su constitución física. La estructura química de la celulosa está conformada por uniones de moléculas de glucosa adheridas entre sí por la lignina, sustancia esta que refuerza las células, confiriéndoles consistencia y rigidez.

**GLUCOSA.** Molécula carbohidrogenada que en cadenas ordenadas forma celulosa y en asociación amorfa almidón. Esta ( $C_6H_{12}O_6$ ) es una hexosa (monosacáridos de seis átomos de carbono) y además es un aldehído (contiene un grupo  $-CHO$ ).

**HEMICELULOSAS.** Son polímeros de cadena más corta o ramificada de sacáridos con cinco átomos de carbono (pentosas).

**LIGNINA.** Es un grupo de compuestos químicos usados en las paredes celulares de las plantas para crear madera. La molécula de lignina es una molécula con un elevado peso molecular, que resulta de la unión de varios ácidos y alcoholes fenilpropílicos.

**pH.** Valor negativo del logaritmo de la concentración de iones Hidrogeno ( $H^+$ ) en una solución.

**SUSTRATO.** Medio o sustancia que contiene los nutrientes necesarios para el desarrollo de un microorganismo con el fin de favorecer la formación de metabolitos de interés industrial.

**BIOMASA.** Cantidad de células producidas (unidad de masa) por unidad de volumen que se lleva a cabo en un proceso biotecnológico.

### III. VARIABLES Y HIPÓTESIS

#### 3.1 Definición de las variables

##### 3.1.1. Variable dependiente

$G(y)$ = Viabilidad del sustrato de la cáscara de yuca para bacterias *lactobacillos casei*

$y_1$ = Microorganismos

$y_2$ = Sustrato

$y_3$ = Viabilidad

##### 3.1.2 Variable Independiente

$F(x)$  = Hidrólisis de la cáscara de yuca

$x_1$ = Cáscara de yuca

$x_2$ = Pretratamiento

$x_3$ = Hidrólisis Alcalina



## 3.2 Operacionalización de las variables

Variabes	Dimensiones	Indicador	Métodos		
<b>I. INDEPENDIENTES</b>					
<i>F(x) = Hidrólisis de la cáscara de yuca</i>	<i>X<sub>1</sub> Cáscara de yuca</i>	<i>X<sub>1.1</sub> Variedad de yuca</i>	<i>X<sub>1.1</sub> Selección de variedades</i>		
		<i>X<sub>1.2</sub> g.c. yuca/ mL. agua</i>	<i>X<sub>1.2</sub> Relación peso / volumen</i>		
		<i>X<sub>1.3</sub> % sólidos</i>	<i>X<sub>1.3</sub> Índice de refracción</i>		
		<i>X<sub>2.1</sub> Tamaño de corte</i>	<i>X<sub>2.1</sub> Cronometría</i>		
		<i>X<sub>2.2</sub> Tiempo</i>	<i>X<sub>2.2</sub> Termómetro</i>		
	<i>X<sub>2</sub> Pretratamiento Térmica</i>	<i>X<sub>2.3</sub> Temperatura</i>	<i>X<sub>2.3</sub> Espectrofotometría</i>		
		<i>X<sub>2.4</sub> Azúcares reductores</i>			
		<i>X<sub>2.5</sub> pH.</i>			
		<i>X<sub>3.1</sub> Tiempo</i>	<i>X<sub>3.1</sub> Cronometría</i>		
		<i>X<sub>3.2</sub> Temperatura</i>	<i>X<sub>3.2</sub> Termómetro</i>		
	<i>X<sub>3</sub> Hidrólisis Alcalina</i>	<i>X<sub>3.3</sub> Azúcares reductores</i>	<i>X<sub>3.3</sub> Espectrofotometría</i>		
		<i>X<sub>3.4</sub> Concentración de hidróxido</i>	<i>X<sub>3.4</sub> Gravimetría</i>		
		<i>X<sub>3.5</sub> pH</i>	<i>X<sub>3.5</sub> Potenciometría, inicio y final</i>		
		<b>II. DEPENDIENTES</b>			
		<i>G(y)= Viabilidad del sustrato de la cáscara de yuca para bacterias lactobacillus</i>	<i>Y<sub>1</sub>= Microorganismos</i>	<i>Y<sub>1.1</sub> Lactobacillus casei</i>	<i>Y<sub>1.1</sub> Cultivo por plaqueo</i>
<i>Y<sub>1.2</sub> Inóculo</i>	<i>Y<sub>1.2</sub> Conteo de colonias</i>				
<i>Y<sub>1.3</sub> UFC/horas</i>	<i>Y<sub>1.3</sub> UFC/mL, Mac Farlan</i>				
<i>Y<sub>2</sub>= Sustrato</i>	<i>Y<sub>2.1</sub> Concentración</i>		<i>Y<sub>2.1</sub> % NaOH</i>		
	<i>Y<sub>2.2</sub> Azúcares reductores</i>		<i>Y<sub>2.2</sub> Espectrofotometría</i>		
	<i>Y<sub>2.3</sub> pH</i>		<i>Y<sub>2.3</sub> Potenciometría</i>		
	<i>Y<sub>3.1</sub> Temperatura °C</i>		<i>Y<sub>3.1</sub> Termómetro °C</i>		
	<i>Y<sub>3.2</sub> Tiempo de latencia</i>		<i>Y<sub>3.2</sub> Sin crecimiento</i>		
<i>Y<sub>3</sub>= viabilidad</i>	<i>Y<sub>3.3</sub> Cinética de crecimiento</i>		<i>Y<sub>3.3</sub> UFC/horas</i>		
	<i>Y<sub>3.4</sub> Biomasa</i>		<i>Y<sub>3.4</sub> % de conversión</i>		
			<i>Y<sub>3.5</sub> Recuento de colonias</i>		

### **3.3 Hipótesis general e Hipótesis específicas**

#### **3.3.1 Hipótesis general**

El pretratamiento y la hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca permiten obtener un sustrato viable para las bacterias *Lactobacillus casei*.

#### **3.3.2 Hipotesis especifica dependiente**

H<sub>1</sub> = La condición *óptima* para elaborar el sustrato es 50 g/200 mL, de cáscara de yuca con agua.

#### **3.3.3 Hipotesis especifica independiente**

H<sub>2</sub> = El grado al 0.3% de hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca garantiza el crecimiento bacteriano.

## IV. METODOLOGÍA

### 4.1 Tipo de Investigación

La presente investigación por sus propósitos es de tipo aplicado, por que busca desarrollar un proceso adecuado para obtener un sustrato mediante la hidrólisis de la cáscara de yuca para el crecimiento bacteriano. Por su diseño interpretativo es experimental, porque la investigación se realizó mediante la observación, registro de datos y análisis de las variables implicadas mediante la inferencia, alcanzando un nivel correlacional. Por el periodo temporal es longitudinal porque es progresivo. Por el énfasis de la naturaleza de los datos manejados es del tipo cuantitativo porque las variables de la investigación son medibles en forma continua o discreta y por los medios para obtener los datos es de laboratorio.

### 4.2 Diseño de la investigación

$H_0$  = Mediante el pretratamiento y la hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca se obtiene un sustrato no viable para las bacterias *lactobacillus casei*.

$H_1$  = El pretratamiento y la hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca permiten obtener un sustrato viable para las bacterias *lactobacillus casei*.

El presente trabajo de investigación se desarrolló atendiendo a las variables formuladas, se tomó en cuenta la caracterización de la muestra y luego el procedimiento experimental en el pretratamiento, hidrólisis y viabilidad del sustrato para el crecimiento bacteriano:

#### **4.2.1 Plan de Investigación**

La investigación experimental se desarrollo en los laboratorios de: Investigación, Fisico Química y Microbiología del Laboratorio de Química de la Facultad de Ingeniería Química y el Laboratorio del Instituto de investigación Especializado en Agroindustria de la UNAC.

Método: exploratorio y experimental.

#### **4.2.2 Diseño Experimental**

El presente estudio corresponde al de una investigación de tipo experimental. La recolección de la muestra se realizó en los centros de abastos donde se comercializa la yuca, mercado Santa Rosa de Bellavista y Minka en el Callao que entregan la yuca pelada y queda como residuo la cáscara.

El diseño de experimentos para la hidrólisis de la biomasa cáscara de yuca es de dos factores (concentración de hidróxido de *sodio* y temperatura) con  $a = 2$  niveles,  $n = 3$  réplicas y corridas aleatorias. Se cuantificaron los Azúcares Reductores por el método espectrofotométrico de ácido 3, 5, Dinitro salicílico, mediante la curva estándar de glucosa y longitud de onda de 540 nm, para la hidrólisis y el crecimiento bacteriano. El crecimiento bacteriano se realizó en sustratos de la fase líquida y en sustratos hidrolizados de la fase sólida, se evaluó mediante azúcares reductores y por el conteo de colonias en placa.

#### **4.2.3 Requerimientos: Equipos, Materiales y Reactivos**

##### **a) Equipos**

- Balanza, determinación de humedad A&D mx-50 de 0.000 g.
- Balanza analítica digital de 0.1 mg.
- Estufa Memmert 20-250°C.

- Incubadora Memmert 20°C-50°C
- Mufla eléctrica XMT.
- Cuba de Baño María Memmert de 5°C- 80°C
- Equipo Kjeldahl VELP SCIENTIFICA (digestor/destilador de proteínas UDK 127),
- Molino Culatti CZ13. Licuadora Oster.
- Cuenta colonias. 1143-04.
- Autoclave QUIMIS modelo Q290-21 de 100°C-143°C y 0-3Kgf/cm<sup>2</sup>.
- Congeladora y refrigeradora.
- Potenciómetro de mesa.
- Espectrofotómetro visible UV longitud de onda 540 nm
- Refractómetro de mesa
- Otros.

#### **b) Materiales**

- Vaso precipitado de 50, 100, 250, 500 y 1000 mL.
- Fiola de: 100, 250, 500 y 1000 mL
- Pipetas de: 1, 5 y 10 mL.
- Probeta de: 50, 100, 250 y 1000 mL.
- Bureta de 25 y 50 mL.
- Matraz Erlenmeyer de 100 y 250 mL
- Crisol, Desecador, Luna de reloj.
- Bagueta de vidrio. Espátula.
- Placa Petri de vidrio.
- Tubos de vidrio con y sin tapa, gradilla.
- Botellas de vidrio 500 mL y 1 L
- Pinzas metálicas
- Mechero, rejilla, hornilla
- Papel de aluminio.
- Papel craft. Pabilo

- Cofias, guantes. Mascarilla.
- Cuchillo, Bolsa hermética, Etiqueta
- Asa de siembra bacteriológica.
- Otros.

#### c) Reactivos

- Na(OH) 0.1N, 0.5N, (1, 2,3, 4, 5 N) y 40 %
- Ácido clorhídrico 0.1N, 1N
- Ácido sulfúrico concentrado
- Ácido bórico al 4%
- Indicadores: Fenolftaleína 1%
- Tashiro Rojo de metilo 100% y azul de metileno 100%.
- CaCO<sub>3</sub>, sulfato de calcio, Biftalato ácido de potasio, sulfato de cobre 100%, sulfato de potasio 100%,
- Buffer pH 4 y 7.
- Reactivo 3, 5, Di-nitro salicílico (DNS).
- Solución estándar de Glucosa.
- Hipoclorito de *sodio* 1%
- Alcohol comercial 96°GL
- Detergentes

#### d) Medios de Cultivo

Cepas de *lactobacillus casei*, Caldo MRS, caldo nutritivo, Agar Agar, MRS, VRB, Plate Count, Sabouraud, agua peptonada, suero fisiológico.

### 4.2.4 Métodos

En el presente trabajo se desarrollaron los procedimientos para la selección y toma de muestra, así como la remoción de lignina empleando las técnicas térmicas y/o alcalinas en la cáscara de yuca. Se evaluó el proceso de hidrólisis alcalina con el hidróxido

de *sodio* de la cáscara de yuca mediante azúcares reductores por el método DNS. Para la determinación de los parámetros óptimos del proceso de digestión anaerobia de los sustratos que se obtienen a partir de los hidrolizados de la cáscara de yuca se realizó con azúcares reductores y el conteo en placa. Además, se complementó con el tratamiento estadístico, análisis químico, análisis instrumental, síntesis, deductivo, inductivo

#### **a) Preparación de la muestra**

**Recepción:** la cáscara de yuca, se clasificó la materia prima eliminando aquellas que se encontraron en mal estado.

**Pesado:** se pesó la materia prima que estuvo apta para el procesamiento.

**Limpieza y separación de cascarilla:** se procedió a lavar la materia prima con abundante agua para eliminar la tierra e impurezas y luego separar de forma manual la cascarilla y nuevamente se lava.

#### **b) Pre tratamiento - Deslignificación**

La cáscara limpia y seca se corta en trozos pequeños, esta operación consiste en aumentar la superficie de contacto de la cáscara, se realizó de forma manual utilizando cuchillos de acero inoxidable.

**Lavado:** Una vez terminado la operación de cortado se lava con agua potable y se enjuaga con agua destilada y agitando constantemente, se escurre y seca para eliminar el exceso de agua.

**Pre-tratamiento químico:** Se pesan muestras de 50 gramos en frascos de vidrio, se adiciona 200 mL de solución de Na(OH) a: blanco, 0.30, 0.50 Normal, para ablandar y eliminar la lignina presente en la muestra a 40, 60 y 80 °C,

por una hora, luego se enjuaga y se seca para determinar la pérdida de peso por deslignificación.

**c) Hidrólisis alcalina**

**Licuada de la muestra:** Cada muestra deslignificada se licua con 200 mL de agua esta muestra se separa en siete botellas esterilizadas para que queden rotuladas y listas para la hidrólisis de cada unidad experimental.

**Hidrolizado:** A cada unidad experimental se adiciona 100 mL de solución de hidróxido de *sodio* a: 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.50, 0.6 %, se lleva a un baño maría a 40, 60 y 80°C por dos horas, (Se repite este proceso con nuevas muestras a 120°C y 15 minutos en autoclave).

**d) Crecimiento bacteriano, fermentación con *lactobacillus***

**1. Neutralización del sustrato hidrolizado:**

El pH del sustrato que proviene de la hidrólisis alcalina es muy básico, se debe preparar el medio adecuado para la fermentación bacteriana, en este caso el pH debe ajustarse con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> alrededor de 4,5 – 5,5.

**2. Activación y obtención del inóculo de *lactobacillus acidophilus*.**

Los procedimientos para la activación y obtención de inóculo de *lactobacillus acidophilus* se realizaron según (Chamorro Rivadeneira, 2016) cita a Magallanes et al. (2013)



### **3. Inoculación de *Lactobacillus acidophilus* en los hidrolizados de tallos de brócoli.**

La inoculación del *Lactobacillus acidophilus* fue aplicado usando el método escala de Mc Farland de acuerdo a (Rodriguez, 1994)

#### **4.2.5 Técnicas**

##### **1) Determinación de azúcares reductores totales.**

Se determinó el contenido de azúcares reductores totales mediante el método espectrofotométrico con el DNS (3.5-DinitroSalicilico) usando el método (AOAC INTERNATIONAL, 2016) AOAC. Official Methods of Analysis 18th Edition.

#### **4.3 Población y Muestra**

##### **4.3.1 Población**

Sin población porque las muestras se obtuvieron como residuo del proceso de comercialización en mercados Santa Rosa y Minka.

##### **4.3.2 Muestra**

Se utilizó el muestreo aleatorio simple atendiendo a la variedad de la yuca, la zona de producción y la frescura de la raíz; para determinar el número de muestra en base al nivel de confianza se aplicó la siguiente formula:

- a) Tamaño de muestra:  
Muestra inicial: Se tomó 7kg de raíz de yuca
- b) Muestra de Análisis: depende de la técnica de análisis:
  - 1) Humedad: 1.00 g de muestra de 2-4 mm
  - 2) Cenizas y proteínas: 1g muestra de 2-4 mm
  - 3) Materia Orgánica, celulosa y hemicelulosa: 2 g. de muestra de 2-4 mm

- 4) Pre-tratamiento: 300 g. de cáscara de yuca
- 5) Hidrólisis y viabilidad: 10 g de muestra molida

### 4.3.3 Determinación del Número de Muestra y Tamaño

Se tomó una cantidad adecuada de cáscaras residuales del “mercado Santa Rosa y Minka”, atendiendo al método a emplearse.

#### 1) Determinación del número de muestra

Grado de confianza (elegida)	: C = 95% = 0.95
Límite de confianza	: Z = 1.96 (tablas estadísticas)
Error o precisión	: E = 1 – C = 0.05
Probabilidad	: p = 95% = 0.95 (elegida)
Probabilidad de desaciertos	: q = 1 – p = 0.05

**Muestra inicial:**

$$m = \frac{Z^2 * p * q}{E^2}$$

**Numero de muestra:** *m*

#### 2) Tamaño de la muestra

Está definida por cada técnica de análisis.

Pre - tratamiento del proceso de deslignificación: 100 g. cáscara

Hidrólisis: muestra deslignificada = 50 g.

Humedad: 1 g. de cáscara

### 4.3.4 Producción de cáscara de yuca

El universo poblacional está representado por las veces que se recolecta la cáscara de yuca en los mercados del Callao por los volúmenes de cáscara de yuca desechada que permite apoyar el proyecto.

## **4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

El desarrollo del presente trabajo de investigación ha utilizado técnicas, procedimientos e instrumentos para la observación y registro de datos, resultados de los análisis y mediciones realizadas, que necesitó la implementación del laboratorio con la disposición de equipos, materiales y reactivos, requeridos en cada etapa de investigación, adoptando diferentes técnicas y procedimientos, los cuales se describen y/o mencionan a continuación:

### **4.4.1 Técnicas de recolección de datos.**

#### **A. Análisis bromatológicos de la cáscara de yuca**

En este punto se menciona los métodos aplicados para el análisis proximal de la cáscara de yuca utilizada.

Las muestras fueron previamente acondicionadas en limpieza y reducción de tamaño.

##### **1) Determinación de humedad.**

El analizador de humedad mediante el método termo-gravimétrico con lámpara infrarrojo. (AOAC INTERNATIONAL, 2016)

##### **2) Determinación de cenizas.**

Se determinó el porcentaje de cenizas aplicando el método directo (AOAC INTERNATIONAL, 2016)

##### **3) Determinación de Materia Orgánica.**

El material orgánico que se calcino experimento una pérdida de peso quedando la fracción de sustancias metálicas, este porcentaje de pérdida se consideró como materia orgánica (M.O.) que se expresa como porcentaje del peso de la muestra seca.

$$100 = \% \text{ cenizas} + \% \text{ M.O.}$$

$$\% \text{ MO} = \frac{(P1 - \text{Peso cenizas})}{P1} \times 100$$

**4) Determinación de metales en muestras de cáscara de yuca, base seca**

La ceniza que queda después de la calcinación de un gramo de muestra de yuca, se dejó digerir con Regia, se diluyó a 100 mL y se trasladó hasta el analizador de metales CP – Óptico de Emisión Espectroscópica de Plasma ICP. Reporte del Informe de Ensayo MINLAB N°CQ17086 ICP (véase la tabla 12)

**5) Determinación de azúcares reductores totales.**

Se determinó el contenido de azúcares reductores totales mediante el método espectrofotométrico utilizando como reactivo revelador el 3,5, dinitro salicílico con una longitud de onda de 540 nm descrito por (Boyd et al., 2012), determina el “Contenido de azúcares totales, azúcares reductores y no reductores en *Agave cocui* Trelease”. Usa el método de Miller con DNS (3,5-Dinitrosalicílico). (AOAC INTERNATIONAL, 2016)

**4.4.2 Instrumentos de recolección de datos.**

En la presente investigación se utilizó las tablas de comparación de la concentración de las unidades de colonias para la adición del Inóculo, escala de McFarlan. (Diaz Gutierrez, 2016)

Las tablas de diseño experimental de los datos obtenidos donde se relacionan en cada etapa las variables trabajadas.

## **4.5 Procesamiento estadístico y análisis de datos**

- Determinación del tamaño de muestra: Estadística descriptiva.
- Calculo del número de muestra: Estadística descriptiva e inferencial.
- Probabilidad de la confianza de los resultados en cada una de la etapas.
- Crombacht ( Modelo predictivo para el crecimiento bacteriano).

## V. RESULTADOS

### 5.1 Porcentaje de la cáscara respecto a la raíz de yuca

El porcentaje que representa la cáscara respecto a la raíz de yuca, se determinó en un 10.13% con una desviación estándar de  $\pm 0,58642189$ . (Véase la Tabla 9)

### 5.2 Características bromatológicas de la cáscara de yuca

Ver la Tabla 7.

*Tabla 7*  
*Características bromatológicas de la cáscara de yuca*

Contenido	(BS) Porcentual (%)	Desviación Estándar
Humedad	7,202	+/- 0,7685
Ceniza	9,72	+/- 1,1891
Materia Orgánica	76,43	+/- 1,1891
Proteínas (BS)	6,58	+/- 0,9375

*Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio (Elaboración Propia)*

### 5.3 Contenido de metales en la cáscara de yuca

Análisis mineralógico realizados en el laboratorio de MINLAB Código N° GQ17086 (Véase la Tabla 8), Observándose una mayor cantidad en ppm de metales de K, Ca, Mg y Na; 1g/100mL. Ver tabla 8.

*Tabla 8*  
*Análisis de metales presentes en cáscara de yuca, 1g/100mL*

Metales	Promedio (ppm)	Desviación Estándar
K	69.252	+/- 9.0790
Ca	28.113	+/- 3.2016
Mg	7.523	+/- 0.1294
Na	3.788	+/- 0.2006
Al	0.505	+/- 0.1258
Fe	0.468	+/- 0.3103
Zn	0.169	+/- 0.0103
Sr	0.156	+/- 0.0078
Se	0.137	+/- 0.0324
Tl	0.101	+/- 0.0740

*Fuente: Informe de Ensayo Minlab N° GQ17086*

## **5.4 Evaluación del Pretratamiento en la cáscara de yuca**

El pretratamiento se realizó a 40°C con y sin álcali, mediante la producción de azúcares reductores en el proceso de hidrólisis de la cáscara de yuca.

### **5.4.1 Pretratamiento sin Alcalí (Blanco) a 40°C**

Donde la hidrólisis al 0.3% en muestras de cáscara de yuca pretratadas a 40 °C por una hora, produce azúcares reductores de 243 mg/mL. Véase la Figura 9.

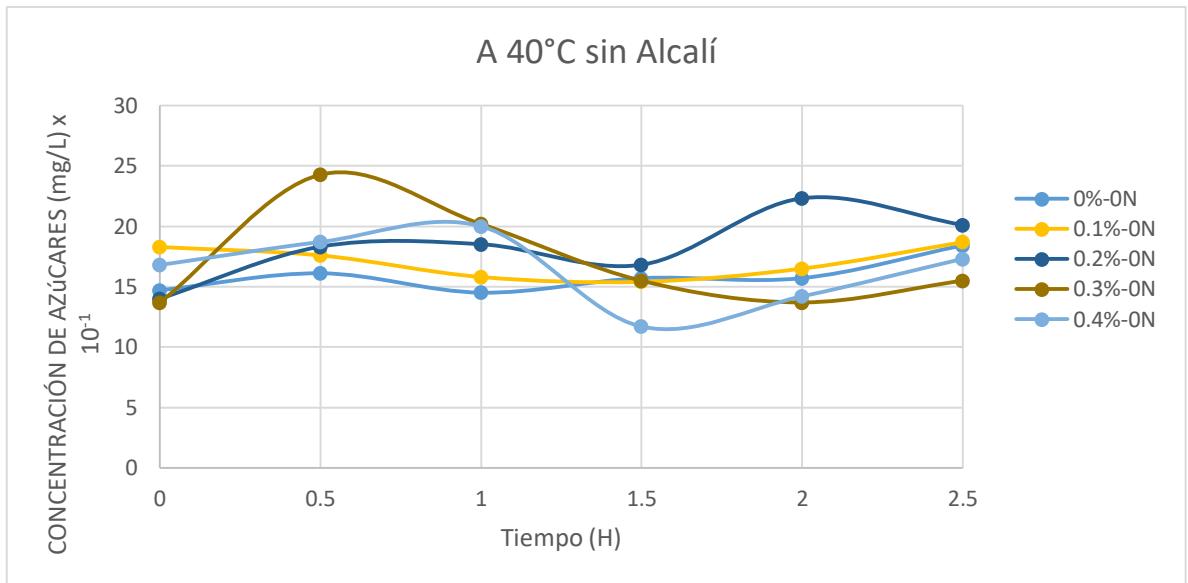


Figura 10. Azúcares reductores en el hidrólisis sin pretratamiento. Fuente: Elaboración Propia

#### 5.4.2 Pretratamiento con Alkali (0,03 NaOH)

En muestras de cáscara de yuca pretratadas con 0,03 N<sub>NaOH</sub>, 40°C por una hora, la hidrólisis al 0.3% produce azúcares reductores de 343 mg/mL (Método DNS). Véase la Figura 10.

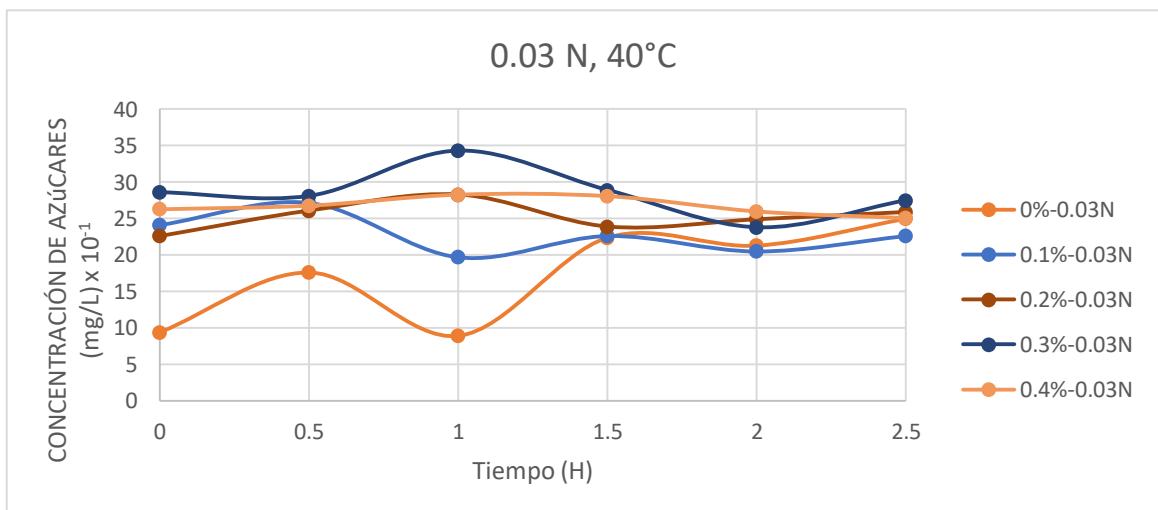


Figura 11. Azúcares reductores en la hidrólisis con pretratamiento. Fuente: Elaboración propia



## 5.5 Selección de temperatura de hidrólisis

La hidrólisis en cáscara de yuca, pretratadas a 0,03N, 40 °C por una hora sin NaOH (0%) realizadas a 40, 60 y 80 °C, logra la mayor producción de azúcares reductores de 285 mg/L a 80°C por 1.167 horas. Véase la Figura 11.

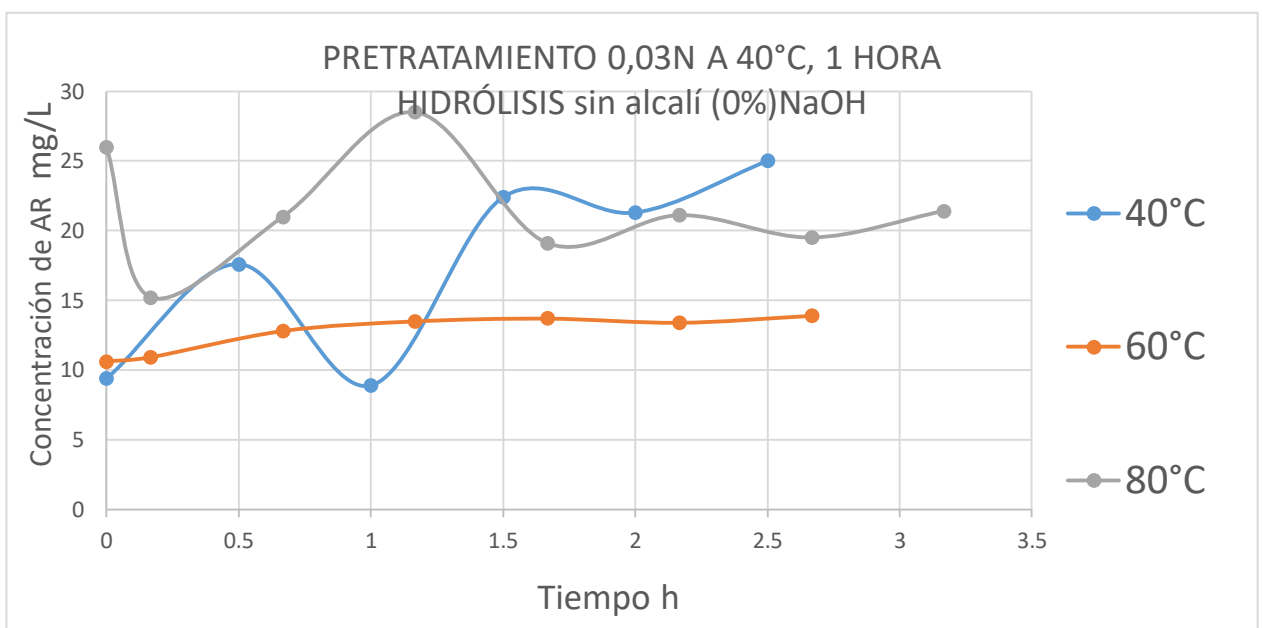


Figura 12. Influencia de la temperatura en la hidrólisis en la producción de azúcares reductores. Fuente: Elaboración propia

## 5.6 Hidrólisis alcalina (NaOH) en cáscara de yuca pretratadas.

La muestra de cáscara de yuca pretratada con 0,03 N NaOH a 40 °C por una hora, se redujo de tamaño (50 gramos/200 mL. de agua), Se dividió la fracción líquida (A) de la fracción sólida (B), hidrolizando solo la fracción sólida con soluciones de NaOH.

### 5.6.1 Hidrólisis en cáscara de yuca con NaOH de fracción sólida

Se obtuvo el mejor resultado al 0.3%, 80°C por 75 min dándonos una concentración de azúcares reductores de 1.002 g/L. Véase la Figura 12 y la Tabla 24.

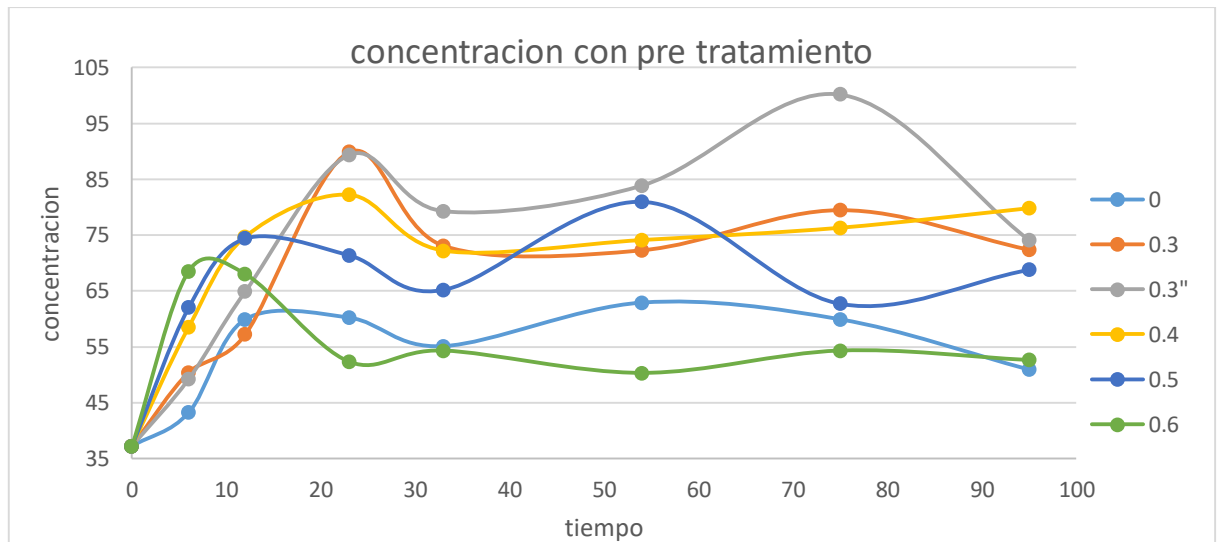


Figura 13. Azúcares reductores en la hidrólisis de la fracción sólida con pretratamiento y a 80°C. Fuente: Elaboración propia

## 5.7 Evaluación del sustrato de la cáscara de yuca

Mediante el crecimiento bacteriano se mide la viabilidad del sustrato hidrolizado de la cáscara de yuca compuesta por fibra, celulosa y hemicelulosa por la concentración de azúcares reductores que son asimilados por los *lactobacillus casei*.

### 5.7.1 Evaluación del sustrato de la fracción líquida mediante

Se inoculó con distintas concentraciones las muestras de la fracción líquida de la cáscara de yuca, del cual se evidencia menor relevancia de la cantidad de inóculo añadido a las muestras hidrolizadas, por lo que se decidió inocular 1 mg/L a las siguientes muestras hidrolizadas.

#### a. Azúcares Reductores (mg/L), Sin Pretratamiento

Se miden los azúcares reductores en muestras líquidas inoculadas con cepas de *Lactobacillus casei* a 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 y 1 mg/L. Ver figura 13.

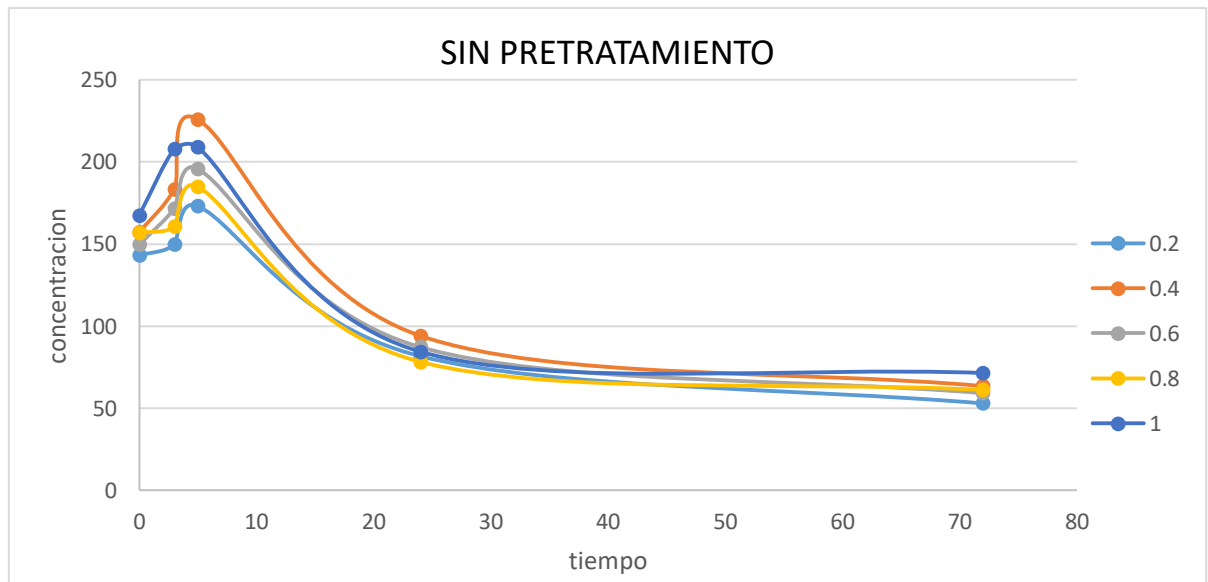


Figura 14. Influencia de la cantidad de inóculo en el crecimiento bacteriano para la producción de azúcares reductores a 0.03N y 40°C. Fuente: Elaboración Propia

### 5.7.2 Evaluación del crecimiento bacteriano

Se evaluó el crecimiento bacteriano en las fracciones líquidas y sólidas provenientes del pretratamiento con 0.03 N de NaOH de la cáscara de yuca; en el caso de la fracción líquida se inoculó sin hidrólisis y distintas cantidades de inóculo y en la fracción sólida se inoculó después de la hidrólisis alcalina a distintas concentraciones de NaOH, (Véase la Figura 14 y Figura 15).

#### a. Crecimiento Bacteriano de la fracción líquida

Se inoculó distintos volúmenes de cepas a  $10^4$  UFC/mL, evidenciando que la cantidad de UFC inoculadas no fue significativo en los resultados y el comportamiento de la bacteria teniendo un mejor comportamiento para el sustrato con

pretratamiento a 0.03N; su velocidad de crecimiento de 1.4655 Log UFC/hora, tiempo de latencia de 19.2004 y  $R^2 = 0.9941977$ .

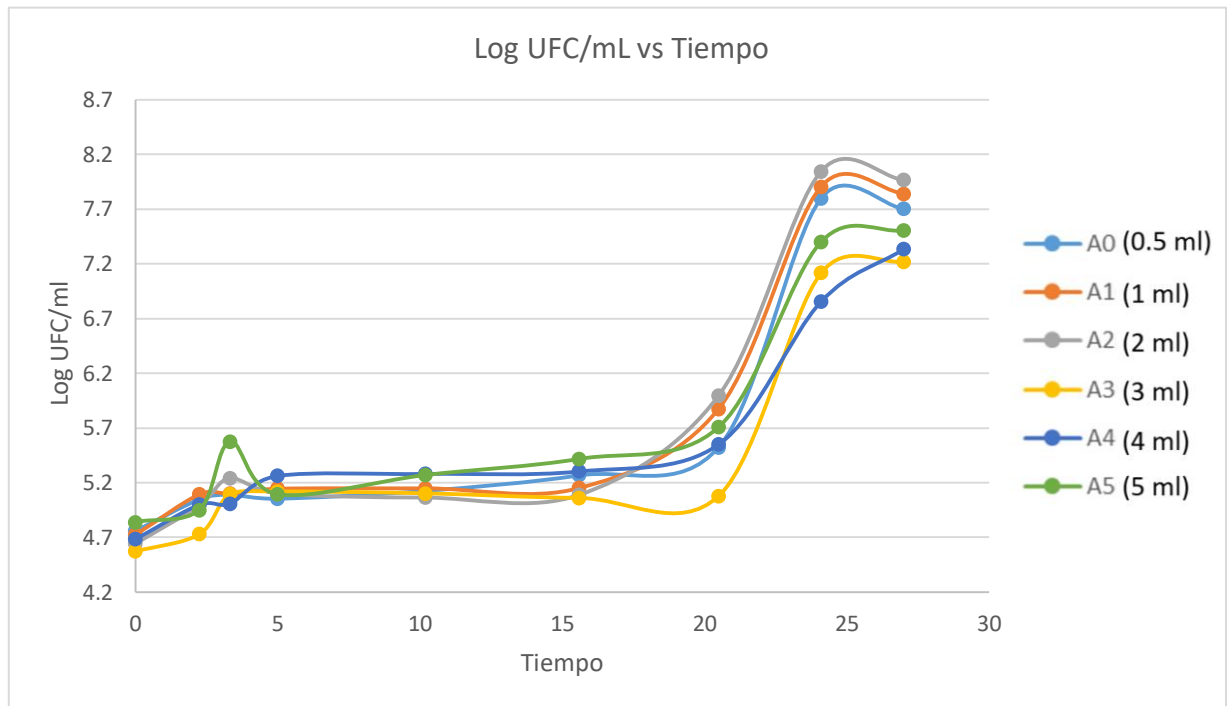


Figura 15. UFC en sustratos hidrolizados de la fracción líquida a 80°C con pretratamiento a 0.03N y 40°C. Fuente: Elaboración propia

#### b. Crecimiento Bacteriano de la fracción sólida

Se inóculo distintos volúmenes de cepas a  $10^4$  UFC/mL, evidenciando que la cantidad de UFC inoculadas no fue significativo en los resultados y el comportamiento de la bacteria teniendo un mejor comportamiento para el sustrato con pretratamiento a 0.03N y 0.3% de hidrólisis; su velocidad de crecimiento de 0.3064 Log UFC/hora, tiempo de latencia de 4.3826 y  $R^2 = 0.9987$ .

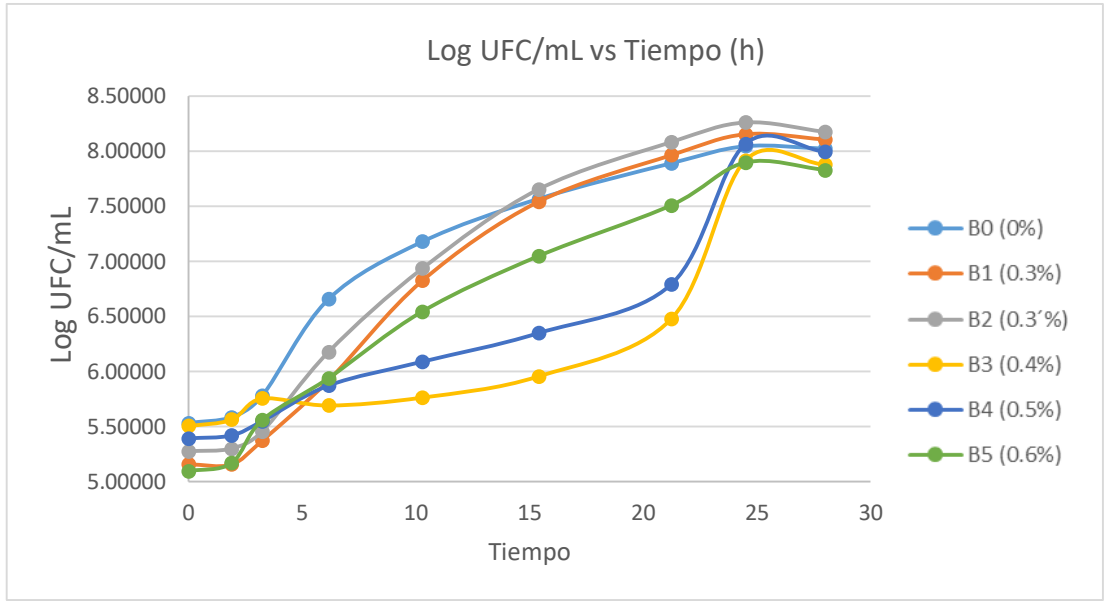


Figura 16. UFC en sustratos hidrolizados de la fracción sólida a 80°C con pretratamiento a 0.03N y 40°C. Fuente: Elaboración propia

## VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

- 1) La raíz de yuca que se comercializa en los mercados del Callao y que se han usado para el presente trabajo de investigación se determinó que el 10,13% del peso corresponde a la cáscara de la yuca con una desviación estándar de  $\pm 0,5864$  respecto al peso de la raíz de yuca, según (Velásquez Serrano & Villanueva Sánchez, 2010) determinó que la cáscara o corteza de yuca representa un 12-20% de la raíz.
- 2) En el presente trabajo se realizaron los siguientes análisis en base seca, determinándose la Humedad en 7,202 %,  $\pm 0,7685$ ; Contenido de cenizas en 9.72 %  $\pm 01.1891$ ; Materia orgánica de 76,43%, +/- 1,1891 y Proteínas de 6.58 %,  $\pm 0.93,75$  (Véase la Tabla 7); en Véase en (Velásquez Serrano & Villanueva Sánchez, 2010) obtiene un porcentaje de humedad de 72 % para la cáscara de yuca en base húmeda, obtiene un porcentaje de cenizas 6.1 % para la cáscara de yuca base seca (Véase la Tabla 4). Se aprecia una similitud entre los datos siendo esa poca diferencia por errores de manipulación en las muestras de las cenizas.
- 3) La determinación de metales en muestras de cáscara de yuca se realizó en muestras de cenizas, encontrando cantidades apreciables los metales de: Calcio, Potasio, Hierro, Aluminio, Sodio, Magnesio, Manganeso. (Véase la Tabla 8 y Tabla 12). En la referencia de Ceballos y Cruz (Véase la Tabla 2) hay mucha similitud en la determinación de los metales presentes como Fe, Mn, B, Cu, Zn, Ca, Mg, K, con los resultados obtenidos en el presente trabajo. (Véase la Tabla 8).
- 4) De la evaluación del pretratamiento con o sin NaOH de la cáscara de yuca que se realizó mediante la cuantificación de azúcares reductores en el proceso de hidrólisis alcalina a diferentes concentraciones, como

se aprecia en la (véase Figura 9) para muestras sin álcali la cantidad de azúcares reductores fue máximo de 243 mg/mL en AR; en muestras pretratadas con NaOH al 0,03 N, se obtuvo una máxima concentración en AR de 343 mg/mL (véase Figura 10) y en ambos casos la concentración *óptima* del NaOH en la hidrólisis fue de 0,3%. Por lo que se concluye que la mejor condición de pretratamiento es con NaOH al 0.03 N. Se aprecia en (Reales et al., 2016) los resultados de la evaluación del pretratamiento en los tallos de yuca para eliminar la lignina, donde se realizaron por 3 métodos, teniendo los mejores resultados el alcalino (NaOH) comparado con el ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y de menor rendimiento el procesos organosolv (Etanol) donde se concluye que el mejor pretratamiento es el alcalino.

- 5) La hidrólisis de la cáscara de yuca tiene un mayor rendimiento en azúcares reductores a 80°C frente al comportamiento de 40°C y 60°C ,(Véase la Figura 11), a mayores temperaturas forma grumos que baja el rendimiento y retarda la hidrólisis, también véase en (Aruwajoye et al., 2017). evaluó el tratamiento térmico asistida para la cáscara de yuca y se encontraron las condiciones óptimas mediante el modelo estadístico de superficie de respuesta obteniéndose para el pretratamiento la temperatura de 69,62 °C por 2,57 horas y la hidrólisis lo efectuaron en autoclave por 5 min a una concentración de ácido clorhídrico 3,68%:
  
- 6) Del Análisis de la Figura 12 se deduce que la concentración óptima de NaOH en la hidrólisis de la fracción sólida fue de 0.3% a 80°C por 75 min dando una concentración en azúcares reductores de 1.002 g/l con y sin pretratamiento; en Véase (Monsalve et al., 2006) se evaluó la hidrólisis ácida en 20% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (40-50mL/500g) en la cáscara de yuca, deduciendo que se puede hacer la hidrólisis tanto con medio acido como medio básico, se determinó que con el medio Alcalino daba

mejores resultados debido a que con el ácido sulfúrico tiene radicales sulfatos en concentraciones apreciables que inhiben el crecimiento bacteriano interfiriendo en la cinética de crecimiento.

- 7) De la Figura 13 se entendió que comparando las partes líquidas, se obtuvo una mayor concentración de azúcares cuando hay un pretratamiento alcalino previo, esto se debe a que se reduce la lignina que interfiere en la cáscara de yuca, hidrolizándose y consumiéndose así los almidones por las bacterias en mayor cantidad, también se obtuvo que en la parte líquida de las muestras de cáscara de yuca cultivadas con *Lactobacillus* a diferentes concentraciones de inóculo se entendió que la variación de estas no afecta a las concentraciones de azúcares formándose curvas superpuestas demostrándonos ello que es una propiedad intensiva, depende más de las características del sustrato. Las concentraciones de azúcares reductores en la cáscara de yuca se calcularon tanto en la parte sólida y líquida dándose una mayor concentración de estos en la parte líquida debido que los azúcares presentes ya en la cáscara de yuca son solubles y esta parte líquida llevaba la mayor cantidad de almidones. (Véase en las Figuras 13 y 14). La concentración de azúcares reductores se obtuvo mejores resultados de concentración a 0,03 N debido a que en blanco (0N) pasado 5 horas comienza decaer abruptamente generando pérdida de azúcares reductores.
  
- 8) En la inoculación en los sustratos de la cáscara de yuca de la fracción líquida se llegó a la conclusión que al variar el inóculo este no afecta a la concentración de azúcares reductores por ende no genera un aumento en el crecimiento bacteriano, usando en los siguientes análisis el inóculo de 1 mL, véase la Figura 13. En la evaluación del crecimiento del sustrato de la cáscara de yuca hidrolizado con NaOH a diferentes



concentraciones tanto de la fase líquida como de la fase sólida se observa que permiten la evaluación del crecimiento bacteriano (Véase la Figura 14 y la Figura 15), obteniéndose ambos un mejor crecimiento bacteriano hidrolizado al 0,3% con pretratamiento al 0,03 N a 80°C inoculado con 1 mL de cepa de *lactobacillus casei* a  $10^4$  UFC.

## VII. CONCLUSIONES

- 1) La cáscara de yuca es un residuo con alta capacidad nutritiva por el contenido de minerales como potasio, calcio y magnesio; proteínas, fibra y carbohidratos para obtener un sustrato viable para las bacterias *Lactobacillus casei* mediante un pretratamiento e hidrólisis alcalino
- 2) El proceso de pretratamiento a 40 °C y a 0,03N de NaOH, en una relación de 50 g de cáscara de yuca/200 mL de solución, por una hora, del tamaño de 4-6 mm, se concluye que estas condiciones influyen en la hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca en la obtención de azúcares reductores.
- 3) Se obtuvieron mejores resultados en la viabilidad de las bacterias lácticas en sustratos provenientes de la fracción líquida y sólida por separados que cuando se utilizó toda la biomasa junta. que se obtiene por la reducción de tamaño, de 50g de cáscara pretratada con 200 mL de agua; la fracción líquida al contener hidratos de carbono solubles, almidones y otros, no requirieron de la hidrólisis alcalina por ser fácilmente hidrolizable por la fermentación láctica y en el caso de la fracción sólida, se obtuvo mayores concentraciones de azúcares reductores fueron a 80°C, 0.3% de NaOH por 75 min; con un tiempo de latencia de 4,3826 horas y velocidad específica de crecimiento 0,3064 log UFC/hora; la reacción de hidrólisis fue de primer orden (0,9253) y su constante de velocidad de 1.21 min<sup>-1</sup>.

## VIII. RECOMENDACIONES

- 1) La segregación de la cáscara de yuca debe efectuarse en el punto de acopio, el lavado y reducción de tamaño (2 – 4) mm debe ser lo mas antes posible para evitar el ennegrecimiento, continuar con el proceso o colocar en bolsas y conservado en frío.
- 2) Despues del pretratamiento de la biomasa es conveniente el control del pH y tambien despues de la hidrólisis alcalina para neutralizar con ácido orto fosfórico. El pH del sustrato hidrolizado debe oscilar entre 6 a 6,5 para que tenga la capacidad para la formación del ácido lactico.
- 3) La fermentación debe realizarse en forma independiente, la fracción líquida de la fracción sólida de la cáscara de yuca para obtener mejores resultados y no correr el riesgo de la oxidación de los azúcares solubles.
- 4) La fermentación lactica en los sustratos hidrolizados de la cáscara de yuca son una excelente fuente para la obtención de ácido lactico, así como para obtener alcoholes.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al Arni, S., Zilli, M., & Converti, A. (2007). Solubilization of lignin components of food concern from sugarcane bagasse by alkaline hydrolysis. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5(4), 271–277. <https://doi.org/10.1080/11358120709487701>
- Álvarez, A., Salgado, R., García, E., Domínguez, M., Granandos, J., Aguirre, A., ... Mendoza, A. (2012). Aprovechamiento Integral De Los Materiales Lignocelulósicos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 13(4), 140–150. Recuperado de <http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/SEPT12/alvarez.pdf>
- AOAC INTERNATIONAL. (2016). *Official Methods of Analysis* (20th ed.; J. George W. Latimer, Ed.). Maryland.
- Arellano Perales, C., Houbron, E., & Elena Rustrían Portilla ORIZABA, D. (2015). *T E S I S Obtención de bioetanol a partir de materiales lignocelulósicos sometidos a hidrólisis enzimática* &quot; PRESENTA: CO-DIRECTOR.
- Aruwajoye, G. S., Faloye, F. D., & Kana, E. G. (2017). Soaking assisted thermal pretreatment of cassava peels wastes for fermentable sugar production : Process modelling and optimization. *Energy Conversion and Management*, 150(July), 558–566. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.08.046>
- Barroso Casillas, M. (2010). *Pretratamiento De Biomasa Celulosica Para La Obtención De Etanol En El Marco De Una Biorrefinería*. 117. Recuperado de [http://oa.upm.es/10559/1/MIGUEL\\_BARROSO\\_CASILLAS.pdf](http://oa.upm.es/10559/1/MIGUEL_BARROSO_CASILLAS.pdf)
- Ben-Belhassen, B., & Abbassian, A. (2017). *Perspectivas alimentarias: Resúmenes de mercado*. 19. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i5003s.pdf>
- Boyd, M. a., Antonio, M. a D., Hillier, S. L., Hernández, A., Martín, A., Aranda, E., ... Chirinos, M. (2012). Contenido de azúcares totales , reductores y no reductores en Agave cocui Trelease. *Multiciencias*, 11(15), 346–351. <https://doi.org/10.5897/AJB11.3143>
- Buitrago, J. (1990). *La Yuca en la Alimentación Animal* (1ra Edició; J. Montilla, R. R. Peixoto, A. Méndez, & F. Consuegra, Eds.). Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Carvalho, F., Duarte, L. C., & Gírio, F. M. (2008). Hemicellulose biorefineries: A review on biomass pretreatments. *Journal of Scientific and*

*Industrial Research*, 67(11), 849–864.  
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.06.045>

Ceballos, H., & de la Cruz, G. A. (1990). Taxonomía y Morfología de la Yuca. En *La Planta de Yuca* (pp. 15–32). Cali, Colombia.

Ceballos, & Ospina, B. (2003). La yuca en el Tercer Milenio. *CIAT: CLAYUCA: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, FENAVI*, p. 586.

Cerron Barrera, M. A. (2016). *Inclusión de diferentes niveles de harina de cáscara de yuca (Manihot esculenta crantz) en la alimentación de cuyes en fases de crecimiento y acabado*". Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Chamorro Rivadeneira, D. M. (2016). *Desarrollo de un Método de conservación de la jícama (Smallanthus sonchifolius) como producto mínimamente procesado*. Universidad Técnica del Norte.

Correa-Guimaraes, A. (2015). *Aprovechamiento de residuos lignocelulosicos para produccion de biocombustibles y bioproductos TESIS DOCTORAL : Presentada por Viviane da Silva Lacerda para Jesús Martín-Gil*. (September), 242. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4262.7042>

Cortes, W. (2013). Tratamientos Aplicables a Materiales Lignocelulósicos para la Obtención de Etanol y Productos Químicos. *Revista de Tecnología*, 13(1), 39–44. Recuperado de [http://www.uelbosque.edu.co/sites/default/files/publicaciones/revistas/revista\\_tecnologia/volumen13\\_numero1/05\\_articulo3\\_rev-tec-vol13-num1.pdf](http://www.uelbosque.edu.co/sites/default/files/publicaciones/revistas/revista_tecnologia/volumen13_numero1/05_articulo3_rev-tec-vol13-num1.pdf)

Cuervo, L., Folch, J. L., & Quiroz, R. E. (2001). *Lignocelulosa Como Fuente de Azúcares Para la Producción de Etanol*. 13(3), 11–25.

Diaz Gutierrez, A. (2016). *Evaluación de los hidrolizados de tallos de brocoli por medio ácido y enzimático como sustrato Prebiótico para los lactobacillus acidophilus*. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO.

Domínguez, C. (1983). Producción y Producción y Utilización Programa de Yuca. *Centro Interacional de Agricultura Tropical (CIAT)*, 1–667. Recuperado de [http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos\\_Ciat/Digital/SB211.C4\\_Y85\\_Yuca\\_Investigación,\\_producción\\_y\\_utilización.pdf](http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/Digital/SB211.C4_Y85_Yuca_Investigación,_producción_y_utilización.pdf)

Encyclopedia Britannica. (2016, Noviembre 16). *Hydrolysis*. Tomado de britannica: britannica.com.

Espinosa, F. J. (2013). Obtención de etanol mediante hidrólisis alcalina, enzimática y fermentación a partir del excedente orgánico del plátano

- variedad Musa paradisiaca. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53, 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Fan, L. T., Gharpuray, M. M., & Lee, Y. H. (1988). Biotechnology Monographs - Cellulose hydrolysis. En *Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo* (Vol. 3). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-72575-3>
- Fond, G., Boukouaci, W., Chevalier, G., Regnault, A., Eberl, G., Hamdani, N., ... Leboyer, M. (2015). The “psychomicrobiotic”: Targeting microbiota in major psychiatric disorders: A systematic review. *Pathologie Biologie*, 63(1), 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2014.10.003>
- Fontecha, L. M. (2011). *Evaluación de los pretratamientos con ácido sulfúrico diluido y AFEX en la biomasa lignocelulósica del tipo pasto gigante “ Pennisetum Sp ”*. 83.
- Fretes Francisco, M. C. (2010). Mandioca, una opción industrial. En *USAID Paraguay*. Paraguay: USAID.
- Gil-Llanos, J. (2015). Uso de la yuca en la alimentación animal. *Alimentación animal CLAYUCA*, 21. Recuperado de [http://www.clayuca.org/sitio/images/publicaciones/cartilla\\_modulo\\_3\\_yuca\\_alimentacion\\_animal.pdf](http://www.clayuca.org/sitio/images/publicaciones/cartilla_modulo_3_yuca_alimentacion_animal.pdf)
- Gil, Á. (2017). Composición y Calidad Nutricional de los Alimentos. En Á. Gil Hernández & M. D. Ruiz López (Eds.), *Tratado de Nutrición* (p. 820). Recuperado de <https://www.medicapanamericana.com/Libros/Libro/6016/Tratado-de-Nutricion.html>
- Gómez López, A. (2017). *Nanomedicina y su impacto en la práctica médica*. <https://doi.org/10.1016/j.reper.2017.06.003>
- González, A. P. (2018). *Desarrollo de pretratamientos enzimáticos de materiales lignocelulosicos para la obtención de bioetanol de segunda generación*. Universidad de Sevilla.
- González Flecha, L., Castello, P., Gagliardino, J., & Rossi, J. P. (2000). La glucosilación no enzimática de proteínas. Mecanismo y papel de la reacción en la diabetes y el envejecimiento. *Medicina Clinica*, 82(5), 232.
- Guia Mundial de la Organización Mundial de Gastroenterología. (2017). Probióticos y prebióticos. En *Probióticos y prebióticos*.
- Jayaraman, K. (2003). Manufacturing sisal-polypropylene composites with minimum fibre degradation. *Composites Science and Technology*, 63(3–4), 367–374. [https://doi.org/10.1016/S0266-3538\(02\)00217-8](https://doi.org/10.1016/S0266-3538(02)00217-8)

- Johnny, O., & Pineda, J. (2013). *Hidrólisis ácida de materiales lignocelulósicos y detoxificación por pervaporación*.
- Kosugi, A., Kondo, A., Ueda, M., Murata, Y., Vaithanomsat, P., Thanapase, W., ... Mori, Y. (2009). Production of ethanol from cassava pulp via fermentation with a surface-engineered yeast strain displaying glucoamylase. *Renewable Energy*, 34(5), 1354–1358. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2008.09.002>
- Kumakura, M., & Kaetsu, I. (1983). Effect of radiation pretreatment of bagasse on enzymatic and acid hydrolysis. *Biomass*, 3(3), 199–208. [https://doi.org/10.1016/0144-4565\(83\)90012-4](https://doi.org/10.1016/0144-4565(83)90012-4)
- Lázaro, L., & Arauzo, J. (1994). Aprovechamiento de residuos de la industria de conservas vegetales. Hidrólisis enzimática. *Zubía*, Vol. 12, pp. 227–240.
- Marmolejo, L. F., & Torres, P. (2016). *Aprovechamiento de los residuos sólidos generados en pequeñas industrias de almidón agrario de yuca*. 20(7), 1–13.
- Martín, J., & López Elizabeth. (2009). *Orgánica y Bioquímica. MODIFICACIÓN FÍSICA DEL ALMIDÓN DE YUCA Y EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD A LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA POR UNA ALFA AMILASA*, 38, 395–408.
- Martinez Galisteo, E., Padilla Peña, C. A., Garcia Alfonso, C., Barcena Ruiz, J. A., & Diez Dapena, J. (2011). Hidrólisis ácida y enzimática del glucógeno. *Bioquímica y Biología Molecular*, 2(1), 7. <https://doi.org/10.1111/j.1540-6520.2008.00249.x>
- Menon, V., & Rao, M. (2012). Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. *Progress in Energy and Combustion Science*, 38(4), 522–550. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2012.02.002>
- Monsalve, J. F., Isabel, G. V., Pérez, M. De, Adriana, A., & G, J. F. M. (2006). *ETHANOL PRODUCTION OF BANANA SHELL AND CASSAVA STARCH*. 73, 21–27.
- Olveira Fuster, G., & González-Molero, I. (2007). Probióticos y prebióticos en la práctica clínica. *Nutricion Hospitalaria*, 22(SUPPL. 2), 26–34. <https://doi.org/10.1157/13108812>
- Pérez, J., Muñoz-Dorado, J., De La Rubia, T., & Martínez, J. (2002). Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: An overview. *International Microbiology*, 5(2), 53–63. <https://doi.org/10.1007/s10123-002-0062-3>

- Pintau Loeza, M. G. (2006). *Caracterización e hidrólisis de residuos agrícolas como sustrato para la producción de etanol*. 1–69.
- Reales, J. G., Castaño, H. I., & Zapata, J. E. (2016). Evaluación de Tres Métodos de Pretratamiento Químico sobre la Deslignificación de Tallos de Yuca. *Informacion Tecnologica*, 27(3), 11–22. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000300003>
- Reyna, L. M., Robles, R., Reyes, M. P., Mendoza, Y. R., & Romero, J. D. (2004). *Hidrólisis enzimática del almidón*. 7, 40–44.
- Roberfroid, M. (2007). Prebiotics : The Concept Revisited 1 , 2. *The Journal of Nutrition*, (1), 830–837.
- Rodriguez, M. L. (1994). *Bacterias Productoras de Acido Lactico: Efectos sobre el crecimiento y la flora intestinal de pollos, gazapos y lechones*. Universidad Complutense de Madrid.
- Ronald, E. (1991). Contaminant hazard to fish, wildlife, and invertebrates : a synoptic review. *U.S. Fish and Wildlife Service\Biol. Rep*, 85(December), 1–58.
- Rosales, J. M., & Páucar, R. (1996). Uso de la cáscara de yuca en raciones para cerdos en crecimiento. En *Folia Amazonica* (Vol. 8, pp. 105–118). Ucayali.
- Rubin, E. M. (2008). Genomics of cellulosic biofuels. *Nature*, 454(7206), 841–845. <https://doi.org/10.1038/nature07190>
- Taherzadeh, M. J., & Karimi, K. (2008). Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. En *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 9). <https://doi.org/10.3390/ijms9091621>
- Tamagnini, L. M., & Paraje, M. G. (2015). ¿ Qué son las bacterias viables no cultivables ? ( revisión bibliográfica ). 2(2), 2013–2016.
- Tejada Benítez, L. P., Tejada Tovar, C., Villabona Ortiz, Á., Tarón Dunoyer, A., Alvear, M., Castillo, C., ... Madariaga, N. (2010). Producción de bioetanol a partir de la fermentación alcohólica de jarabes glucosados derivados de cáscaras de naranja y piña. *Revista Educación en Ingeniería*, 5(10), 120–125. <https://doi.org/10.26507/REI.V5N10.104>
- Ttito Clavo, A. D. C. T. (2007). *Aptitud de la yuca (Manihot esculenta Granz) de la región San Martín como extendedor en la formulación para tableros contrachapados*. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Vásquez M. Sandra, Suárez M. Héctor, Z. B. S. (2009). *UTILIZACIÓN DE*



*SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS PRODUCIDAS POR BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE.* 36(3), 64–71.

Velásquez Serrano, P. O., & Villanueva Sánchez, J. C. (2010). *Determinación de los parámetros experimentales en la obtención de glucosa, a partir de la yuca del valle de virú.* Universidad Nacional de Trujillo.

Wahyono, L., Pudjono, & Widyati, P. (2010). Uji aktivitas senyawa antiplasmodium dari fungi endofit tanaman *Artemisia annua* L. *Majalah Farmasi Indonesia*, 21(214), 230–235.

## **X. ANEXOS**

### **10.1 Matriz de Consistencia**

### **10.2 Glosario**

### **10.3 Porcentaje de cáscara respecto a la raíz de yuca**

pg 79.

Tabla 9: Peso promedio de la cascara de yuca

### **10.4 Caracterización bromatológica de la cáscara de yuca**

pg 79,80.

Tabla 10: Porcentaje de humedad de la cascara de yuca

Tabla 11: Porcentaje de cenizas de la cascara de yuca

### **10.5 Contenido de metales (ppm) en la cáscara de yuca**

pg 81.

Tabla 12: Análisis de metales presentes en muestras de cascara de yuca

### **10.6 Resultados de la Evaluación del Pretratamiento**

pg 82,83 y 84.

Tabla 13: Azúcares reductores a 0% y 40 °C.

Tabla 14: Azúcares reductores a 0.1% y 40 °C.

Tabla 15: Azúcares reductores a 0.2% y 40 °C.

Tabla 16: Azúcares reductores a 0.3% y 40 °C.

Tabla 17: Azúcares reductores a 0.4% y 40 °C.

### **10.7 Selección de temperatura de hidrólisis**

pg 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92 y 93

Tabla 18: Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cascara de yuca 0%.

Tabla 19: Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cascara de yuca 0.1 %.

Tabla 20: Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cascara de yuca 0.1 %.

Tabla 21: Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cascara de yuca 0.1 %.

Tabla 22: Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cascara de yuca 0.1 %.

Figura 16: Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cascara de yuca 0%.

Figura 17: Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cascara de yuca 0.1 %.

Figura 18: Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cascara de yuca 0.1 %.

Figura 19: Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cascara de yuca 0.1 %.

Figura 20: Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cascara de yuca 0.1 %.

### **10.8 Evaluación de la hidrólisis alcalina de la cascara de yuca**

pg 94, 95, 96, 97 y 98.

Tabla 23: Azúcares reductores en la hidrólisis alcalina a 80 °C, pretratadas sin alcalí.

Tabla 24: Azúcares reductores en los hidrolizados de la cascara de yuca con NaOH, con pretratamiento a 0.03 N y a 80 °C.

Tabla 25: Cinética de hidrolisis alcalina al 0.3% con pretratamiento a 0.03 N y a 80°C de la cascara de yuca, mediante azúcares reductores.

Tabla 26: Azúcares reductores en la parte líquida luego de sembrar las muestras de cáscara de yuca con pretratamiento a 0N y 80 °C.

Tabla 27: Azúcares reductores en la parte sólida luego de sembrar con 1 mL a las muestras de cáscara de yuca con pretratamiento sin álcali y a las temperaturas de 80 y 120 °C.

Tabla 28: Azúcares reductores en la parte líquida luego de sembrar las muestras de cáscara de yuca con pretratamiento a 0.03 N y 80 °C.

Tabla 29: Azúcares reductores en la parte líquida luego de sembrar con 1 mL a las muestras hidrolizadas de cáscara de yuca con pretratamiento a 0.03 N y 80 °C.

Figura 21: Cinética de hidrólisis de la concentración de azúcares de la cáscara de yuca hidrolizada.

### **10.9 Evaluación de crecimiento bacteriano por conteo de placas**

pg 98, 99 y 100.

Tabla 30: Cantidad de inóculo agregado a las muestras hidrolizadas de la cascara de yuca.

Tabla 31: Conteo de placas de muestras sin pretratamiento a 80°C inoculada a diferentes ml a la parte líquida.

Tabla 32: Conteo de placas de muestras sin pretratamiento a diferentes concentraciones de hidrólisis a la parte sólida.

Tabla 33: Recuento de *lactobacillus casei* con pretratamiento en la parte líquida.

Tabla 34: Recuento de *lactobacillus casei* con pretratamiento en la parte sólida.

## **10.1 Matriz de consistencia:**

MATRIZ DE CONSISTENCIA: "VIABILIDAD DEL SUSTRATO DE LA HIDRÓLISIS ALCALINA DE LA CÁSCARA DE YUCA PARA LA BACTERIA *LACTOBACILLUS CASEI*"

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES
<p><b>GENERAL:</b> ¿Cómo obtener un sustrato viable para las bacterias <i>lactobacillus casei</i> de la cáscara de yuca?</p> <p><b>ESPECÍFICOS:</b> ¿Cuáles son las condiciones óptimas para la hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca? ¿Cómo evaluar la viabilidad del sustrato y la cinética de crecimiento que se obtiene por la hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca para las bacterias <i>lactobacillus casei</i>?</p>	<p><b>GENERAL:</b> Determinar el proceso de pretratamiento e hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca para obtener un sustrato viable para las bacterias <i>lactobacillus casei</i>.</p> <p><b>ESPECÍFICOS:</b> Determinar las condiciones óptimas del pretratamiento y de hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca para obtener un sustrato <i>Prebiótico</i>. Evaluar la viabilidad del sustrato y la cinética de crecimiento microbiano en los hidrolizados alcalinos de la cáscara de yuca a la temperatura óptima.</p>	<p><b>GENERAL:</b> El tratamiento y la hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca permiten obtener un sustrato viable a las bacterias probióticos <i>lactobacillus casei</i>.</p> <p><b>HIPÓTESIS ESPECÍFICA INDEPENDIENTE:</b> La condición óptima para elaborar el sustrato es 50 g/200 mL de cáscara de yuca con agua.</p> <p><b>HIPÓTESIS ESPECÍFICA DEPENDIENTE:</b> El grado de hidrólisis alcalina de la cáscara de yuca garantiza el crecimiento bacteriano.</p>	<p><b>I. INDEPENDIENTES:</b> F(x) = Hidrólisis de la cáscara de yuca</p> <p><b>II. DEPENDIENTES</b> G (y)= Viabilidad del sustrato de la cáscara de yuca para bacterias <i>lactobacillus casei</i>.</p>	<p><b>I. INDEPENDIENTES:</b> x<sub>1</sub>= Cáscara de yuca x<sub>2</sub>=Pretratamiento Térmico x<sub>3</sub>=Hidrólisis Alcalina.</p> <p><b>II. DEPENDIENTES:</b> y<sub>1</sub>=Microorganismos y<sub>2</sub>=Sustrato y<sub>3</sub>= Viabilidad</p>	<p>x<sub>1.1</sub>: Variedad de yuca x<sub>2.1</sub>: g,c yuca /mL agua x<sub>3.1</sub>:% solidos x<sub>3.2</sub>:Tamaño de corte x<sub>3.3</sub>:Tiempo x<sub>3.4</sub>:Temperatura x<sub>2.4</sub>.Azúcares reductores x<sub>2.5</sub>. pH. x<sub>3.1</sub>. Tiempo x<sub>3.2</sub>. Temperatura x<sub>3.4</sub>. Concentración de hidróxido x<sub>3.5</sub>. pH</p> <p>y<sub>1.1</sub>. Lactobacilius casei y<sub>1.2</sub>. UFC/horas y<sub>2.1</sub>. Concentración y<sub>2.2</sub>. Azúcares reductores y<sub>2.3</sub>. pH y<sub>3.1</sub>. Temperatura °C y<sub>3.2</sub>. Tiempo de latencia y<sub>3.3</sub> Cinética de crecimiento y<sub>3.4</sub>. Biomasa</p>

Fuente: Elaboración propia<sup>4</sup>

## 10.2 Glosario

**AZÚCARES REDUCTORES:** Son aquellos azúcares que poseen su grupo carbonilo intacto, y que a través del mismo pueden reaccionar como reductores con otras moléculas como con el 3, 5, Dinitro Salicílico. También provocan alteración de las proteínas mediante la reacción de glucosilación no enzimática también denominada reacción de Maillard o glicación. (González Flecha, Castello, Gagliardino, & Rossi, 2000)

**ESCOBAJO:** Es el racimo de fruta vacío, generalmente es de naturaleza lignocelulósico, para el caso de los racimos de uva y para los racimos de fruta fresca de la palma aceitera.

**FERMENTACIÓN:** (Guía Mundial de la Organización Mundial de Gastroenterología, 2017) define la fermentación como un proceso en el cual un microorganismo transforma alimentos en otros productos, habitualmente a través de la producción de ácido láctico, etanol, y otros productos finales metabólicos.

**FIBRA DIETÉTICA:** es un grupo de diferentes sustancias de origen vegetal, que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, pero que sufren una digestión parcial o total en el colon. Comprende a la fibra soluble, fibra cruda.

**HIDRÓLISIS:** Es un tipo de reacción química. Donde el agua participa en el fraccionamiento de una sustancia tal como AB que representan átomos o iones formando la molécula, la molécula de agua se descompone en ion hidronio ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) y el hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ) correspondiente; y la molécula AB se descompone en  $\text{A}^+$  y  $\text{B}^-$ , reagrupándose posteriormente en AOH y HB obteniéndose nuevas especies químicas. (Espinosa, 2013)

**HIDRÓLISIS ALCALINA:** Se denomina hidrólisis alcalina, a determinados tipos de reacciones de sustitución nucleófila en las que el nucleófilo reactivo, es un ion hidróxido

**MICROORGANISMO VIABLE:** Es un microorganismo que está vivo y tiene la capacidad de reproducirse, desarrollan su actividad en condiciones favorables como: nutrientes, temperatura, humedad relativa, actividad acuosa, pH, características de membrana, etc. para microorganismo sea tanto bacterias, levaduras, hongos y virus.

**PREBIÓTICOS:** (Guía Mundial de la Organización Mundial de Gastroenterología, 2017), Sustancias no digeribles que brindan un efecto fisiológico. Son compuestos que el organismo no puede digerir, pero que tienen un efecto fisiológico en el intestino al estimular, de manera selectiva, el crecimiento y la actividad de las bacterias beneficiosas (bifidobacterias y lactobacilos). Los prebióticos tienen esencialmente la misma finalidad que los probióticos; son bacterias autóctonas.

**SUSTRATO PARA LA FERMENTACIÓN:** El sustrato es el alimento que van a usar las levaduras para crecer, multiplicarse y producir alcohol y CO<sub>2</sub>; y para las bacterias lácticas, para alimentarse y producir ácido láctico.



### 10.3 Porcentaje de cáscara respecto a la raíz de yuca

Tabla 9  
Peso promedio de la cáscara de yuca

N° de muestra	Tipo de yuca	Peso de muestra (Kg)	g. de cáscara	% porcentaje de cáscara
1	Blanca	1,528	0,150411	9,84365183
2	Blanca	1,602	0,174807	10,9117978
3	Amarilla	1,32	0,134561	10,1940152
4	Amarilla	4	0,382067	9,551675
	Promedio			10,13%
	Desviación Estándar Base húmeda			0,58642189

Fuente: Elaboración propia

### 10.4 Características Bromatológicas de la cáscara de yuca

Tabla 10  
Porcentaje de humedad de la cáscara de yuca

TIEMPO (min)	ANÁLISIS DE HUMEDAD DE CÁSCARA DE YUCA							
	C1		C2		C3		C4	
	MUES TRA	%HUM EDAD	MUES TRA	%HUM EDAD	MUES TRA	%HUM EDAD	MUES TRA	%HUM EDAD
0,0	1,0360		1,0200		1,0440		1,0300	
1,0	0,9940		0,9850		1,0130		0,9990	
2,0	0,9690		0,9670		0-998		0,9830	

3,0	0,9550	0,9560	0,9870	0,9720
4,0	0,9460	0,9490	0,9800	0,9630
5,0	0,9410	0,9430	0,9740	0,9570
6,0	0,9370	0,9380	0,9690	0,9520
7,0	0,9340	0,9350	0,9650	0,9480
8,0	0,9320	0,9320	0,9620	0,9450
9,0	0,9310	0,9290	0,9590	0,9420
10,0	t=8.7min	0,9270	0,9570	0,9400
11,0		0,9250	0,9550	0,9380
12,0		0,9240	0,9530	0,9360
13,0		0,9230	t=11.8min	0,943
14,0		t=12.8min		t=13.4min

Fuente: Elaboración propia

*Tabla 11*  
*Porcentaje de cenizas de la cáscara de yuca*

Peso de crisol $W_0$	cáscara de yuca (g)	$W_0 + W_{ce}$	peso de ceniza $W_{ce}$	% ceniza
37,4534	2,0206	37,7651	0,3117	15,42611106
35,1421	2,0646	35,4099	0,2678	12,97103555
18,1221	2,0197	18,3974	0,2753	13,63073724
17,907	2,097	18,1764	0,2694	12,84692418

Fuente: Elaboración propia

## 10.5 Contenido de metales (ppm) en la cáscara de yuca

*Tabla 12*  
*Análisis de metales presentes en muestras de cáscara de yuca*

Metales	Y1	Y2	Y3	Promedio (ppm)	Desviación Estandar
Ag	0,01	0,01	0,10	0,040	0,0546
Al	0,52	0,62	0,37	0,505	0,1258
As	0,04	0,03	0,00	0,024	0,0215
Ba	0,03	0,02	0,06	0,034	0,0192
Be	0,00	0,00	0,00	0,000	0,0000
Bi	0,00	0,00	0,01	0,002	0,0035
Ca	26,60	25,95	31,79	28,113	3,2016
Cd	0,00	0,00	0,00	0,000	0,0000
Co	0,00	0,00	0,00	0,000	0,0000
Cr	0,00	0,01	0,01	0,005	0,0015
Cu	0,02	0,02	0,02	0,019	0,0021
Fe	0,80	0,18	0,42	0,468	0,3103
Ga	0,00	0,00	0,00	0,000	0,0000
Hg	0,00	0,00	0,00	0,001	0,0023
K	74,86	74,12	58,78	69,252	9,0790
Mg	7,56	7,63	7,38	7,523	0,1294
Mn	0,02	0,02	0,12	0,053	0,0601
Mo	0,01	0,01	0,02	0,011	0,0045
Na	3,68	4,02	3,66	3,788	0,2006
Ni	0,04	0,01	0,00	0,014	0,0182
Pb	0,00	0,00	0,00	0,000	0,0000
Sb	0,00	0,00	0,03	0,012	0,0171
Sc	0,00	0,00	0,00	0,000	0,0000
Se	0,17	0,11	0,13	0,137	0,0324
Sn	0,02	0,00	0,00	0,005	0,0087
Sr	0,16	0,15	0,16	0,156	0,0078
Ti	0,01	0,01	0,01	0,008	0,0010
Tl	0,17	0,02	0,11	0,101	0,0740
V	0,00	0,00	0,00	0,003	0,0006
Zn	0,17	0,16	0,18	0,169	0,0103

*Fuente: Elaborado por MINLAB N°CQ17086 ICP*

## 10.6 Resultados de la Evaluación del Pretratamiento

Tabla 13  
Azúcares reductores a 0% y 40°C

Hidrólisis al 0% y 40 °C						
TIEMPO	PRETRATAMIENTO					
	0.0 N		0.03N		0.05N	
	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia
0	14,7	0,0422	9,4	0,0083	19,8	0,0851
0,5	16,1	0,0502	17,6	0,0523	20,5	0,089
1	14,5	0,0412	8,9	0,0057	15,5	0,0604
1,5	15,7	0,0478	22,4	0,0778	14,5	0,055
2	15,7	0,0479	21,3	0,0722	18	0,0746
2,5	18,4	0,0628	25	0,0918	23,4	0,1051

Fuente: Elaboración propia

Tabla 14  
Azúcares reductores a 0.1% y 40°C

HIDRÓLISIS 0.1% 40 °C						
TIEMPO	PRETRATAMIENTO					
	0.0 N		0.03N		0.05N	
	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia
0	18,3	0,062	24,1	0,0869	18,4	0,0771
0,5	17,6	0,0586	27,1	0,1032	18,3	0,0762
1	15,8	0,0486	19,7	0,0633	17,9	0,0739
1,5	15,4	0,0461	22,6	0,0789	14,6	0,0551
2	16,5	0,052	20,5	0,0678	16,3	0,0652
2,5	18,7	0,0642	22,6	0,0791	12,7	0,0443

Fuente: Elaboración propia

*Tabla 15*  
*Azúcares Reductores a 0.2% y 40°C*

HIDRÓLISIS 0.2%		40 °C				
TIEMPO	PRETRATAMIENTO					
	0.0 N		0.03N		0.05N	
	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia
0	14	0,0384	22,6	0,0789	15,3	0,0594
0,5	18,3	0,0624	26,1	0,0976	20,5	0,0891
1	18,5	0,0632	28,3	0,1096	21,6	0,0952
1,5	16,8	0,054	23,9	0,086	13,7	0,0504
2	22,3	0,0842	24,9	0,0915	15	0,0579
2,5	20,1	0,072	25,9	0,0967	14,7	0,056

*Fuente: Elaboración propia*

*Tabla 16*  
*Azúcares Reductores a 0.3% y 40°C*

HIDRÓLISIS 0.3%		40 °C				
TIEMPO	PRETRATAMIENTO					
	0.0 N		0.03N		0.05N	
	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia
0	13,7	0,0367	28,6	0,1113	15,3	0,0592
0,5	24,3	0,0954	28,1	0,1083	16,6	0,0665
1	20,2	0,0726	34,3	0,1416	16	0,0634
1,5	15,5	0,0469	28,9	0,113	18,4	0,077
2	13,7	0,0371	23,8	0,0852	14,7	0,0557
2,5	15,5	0,047	27,5	0,1054	15,5	0,0604

*Fuente: Elaboración propia*

Tabla 17  
Azúcares Reductores a 0.4% y 40°C

HIDRÓLISIS 0.4%		40 °C				
TIEMPO	PRETRATAMIENTO					
	0.0 N		0.03N		0.05N	
	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia
0	16,8	0,0537	26,3	0,099	16,7	0,067
0,5	18,7	0,0646	26,8	0,1013	13	0,0462
1	20	0,0717	28,3	0,1098	14,6	0,0551
1,5	11,7	0,0261	28,1	0,1083	20,7	0,09
2	14,2	0,0395	26	0,0971	32,5	0,157
2,5	17,3	0,0567	25,1	0,0921	23,8	0,1078

Fuente: Elaboración propia

## 10.7 Selección de temperatura de hidrólisis

### 10.7.1 Hidrólisis al 0%, blanco

Tabla 18  
Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0%

HIDRÓLISIS 0%		40 °C				
TIEMPO	PRETRATAMIENTO					
	0.0 N, blanco		0.03N		0.05N	
	Concentrac ión mg/L	Absorban cia	Concentrac ión mg/L	Absorban cia	Concentrac ión mg/L	Absorban cia
0	14,7	0,0422	9,4	0,0083	19,8	0,0851
0,5	16,1	0,0502	17,6	0,0523	20,5	0,089
1	14,5	0,0412	8,9	0,0057	15,5	0,0604
1,5	15,7	0,0478	22,4	0,0778	14,5	0,055
2	15,7	0,0479	21,3	0,0722	18	0,0746
2,5	18,4	0,0628	25	0,0918	23,4	0,1051

HIDRÓLISIS 0%		60 °C				
0	24,7	0,0978	10,6	0,022	17,6	0,0594
0,167	25,1	0,1	10,9	0,0235	18,5	0,0645
0,667	29	0,1212	12,8	0,0336	19,9	0,0722
1,167	28,9	0,1205	13,5	0,0378	20,2	0,0735
1,667	28,3	0,1173	13,7	0,0385	14,1	0,0407
2,167	28,6	0,1192	13,4	0,037	17,5	0,0593
2,667			13,9	0,0396	23,4	0,091
HIDRÓLISIS 0%		80 °C				
0	26,1	0,1256	26	0,1248	26,2	0,1330
0,167	33,3	0,1665	15,2	0,063	17,5	0,079
0,667	35,1	0,1767	21	0,0964	17	0,0759
1,167	32,7	0,1634	28,5	0,1395	11,3	0,0405
1,667	31,7	0,1576	19,1	0,0858	15,1	0,0638
2,167	34,6	0,1741	21,1	0,0972	11,9	0,044
2,667	23,1	0,1082	19,5	0,0881	11,9	0,0441
3,167	34	0,1704	21,4	0,0989	14,1	0,0577

Fuente: Elaboración propia

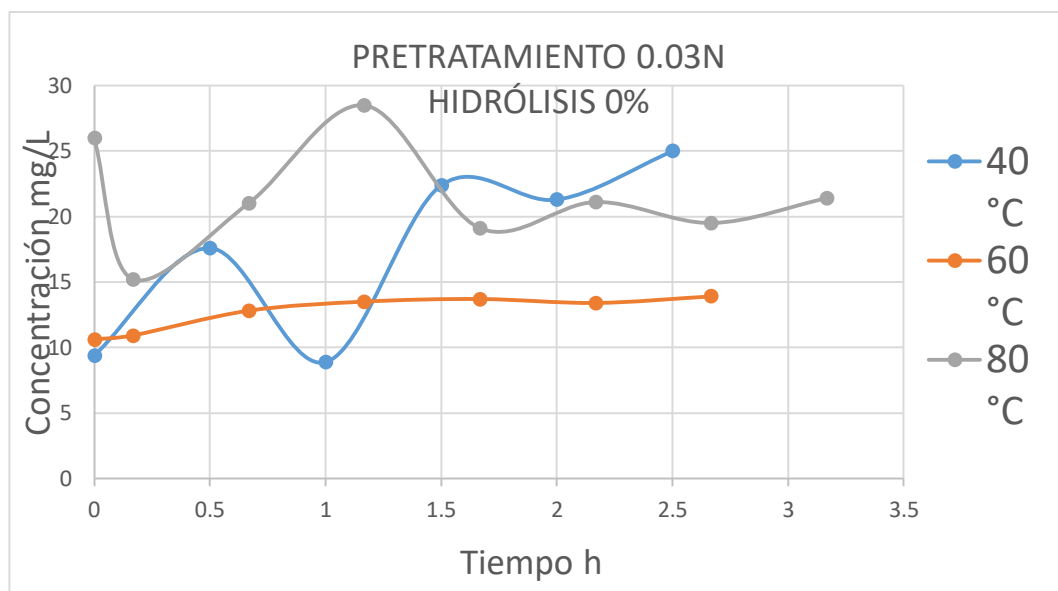


Figura 17. Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0%. Fuente: Elaboración propia

## 10.7.2 Hidrólisis al 0.1 %

*Tabla 19*  
*Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0.1%*

HIDRÓLISIS 0,1%      40 °C						
TIEMPO	0.0 N		PRETRATAMIENTO 0.03N		0.05N	
	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia
0	14,7	0,0422	9,4	0,0083	19,8	0,0851
0,5	17,6	0,0586	27,1	0,1032	18,4	0,0762
1	15,8	0,0486	19,7	0,0633	18,4	0,0739
1,5	15,4	0,0461	22,6	0,0789	18,4	0,0551
2	16,5	0,052	20,5	0,0678	18,4	0,0652
2,5	18,7	0,0642	22,6	0,0791	18,4	0,0443
HIDRÓLISIS 0%      60 °C						
0	24,7	0,0978	10,6	0,022	17,6	0,0594
0,167	12,9	0,0342	14,2	0,0415	18,7	0,0656
0,667	22,6	0,0868	12,2	0,0307	17	0,0566
1,167	19,4	0,0693	13	0,0346	13,6	0,038
1,667	24,2	0,0955	10,9	0,0234	17	0,0561
2,167	19,3	0,0688	12,3	0,0312	16,6	0,054
2,667			11,2	0,0253	17,4	0,0584
HIDRÓLISIS 0,1%      80 °C						
0	26,1	0,1256	26	0,1248	26,2	0,1330
0,167	26,5	0,1277	25	0,0606	11,3	0,0404
0,667	29,5	0,1448	27	0,0751	16,2	0,0709
1,167	27,8	0,135	27,8	0,1353	17,2	0,0768
1,667	28,9	0,1418	25,4	0,0672	16,6	0,073
2,167	27,5	0,1334	14,9	0,0618	18	0,0817
2,667	26,3	0,1266	14,7	0,0605	15,5	0,0667
3,167	28,5	0,1393	13,1	0,0511	16,7	0,0741

*Fuente: Elaboración propia*



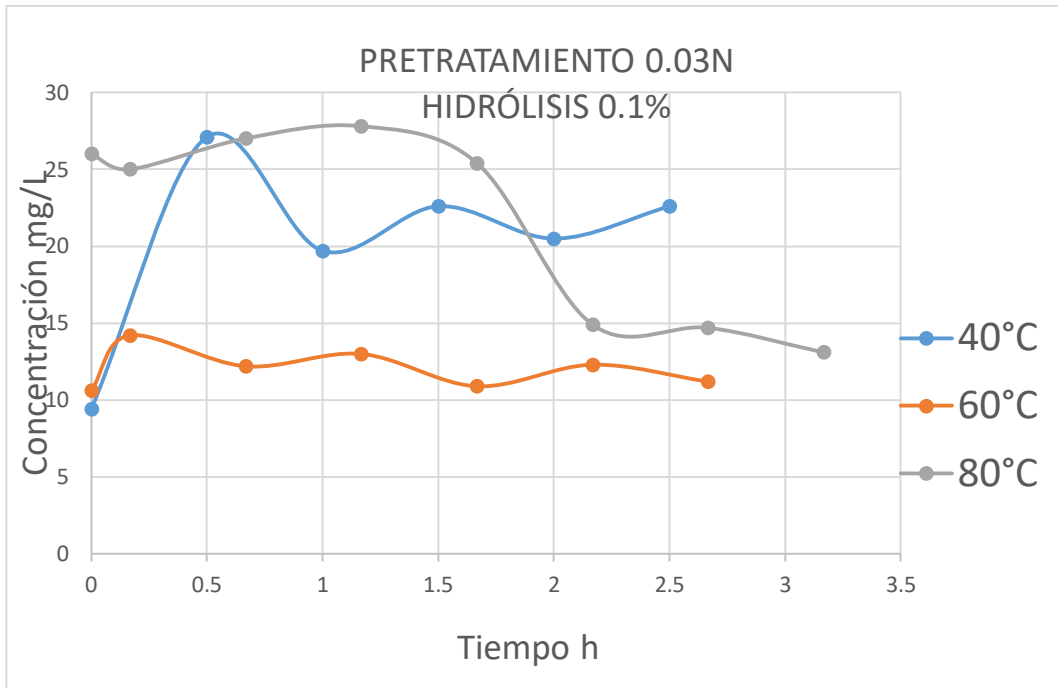


Figura 18. Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0.1% Fuente: Elaboración propia

### 10.7.3 Hidrólisis al 0.2 %

Tabla 20  
Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0.2%

HIDRÓLISIS 0,2% 40 °C						
TIEMP O	0.0 N		PRETRATAMIENTO 0.03N		0.05N	
	Concentrac ión mg/L	Absorban cia	Concentrac ión mg/L	Absorban cia	Concentrac ión mg/L	Absorban cia
0	14,7	0,0422	9,4	0,0083	19,8	0,0851
0,5	18,3	0,0624	26,1	0,0976	20,5	0,0891
1	18,5	0,0632	28,3	0,1096	21,6	0,0952
1,5	16,8	0,054	23,9	0,086	13,7	0,0504
2	22,3	0,0842	24,9	0,0915	15	0,0579
2,5	20,1	0,072	25,9	0,0967	14,7	0,056
HIDRÓLISIS 0,2% 60 °C						
0	24,7	0,0978	10,6	0,022	17,6	0,0594
0,167	26	0,1051	11	0,0238	19,2	0,0683
0,667	16,7	0,05409	10,7	0,0224	17,4	0,0587
1,167	24,2	0,0952	13,8	0,0389	18,6	0,0652
1,667	23,4	0,0908	12,9	0,0344	15,2	0,0469
2,167	23,7	0,0926	12,4	0,0313	15,4	0,0475
2,667			9,7	0,0171	14,1	0,0406
HIDRÓLISIS 0,2% 80 °C						
0	26,1	0,1256	26	0,1248	26,2	0,1330
0,167	30,3	0,1495	16,8	0,0723	15	0,0631
0,667	28,4	0,1386	20,4	0,0931	16,3	0,0716
1,167	25	0,1194	22,9	0,1075	10,5	0,0353
1,667	18,9	0,0842	30,4	0,0489	12,3	0,0465
2,167	19,5	0,0876	28,1	0,078	14,2	0,0581
2,667	14,6	0,0598	14,7	0,0604	14,1	0,0574
3,167	23,8	0,1124	11,9	0,0442	11,9	0,044

Fuente: Elaboración propia

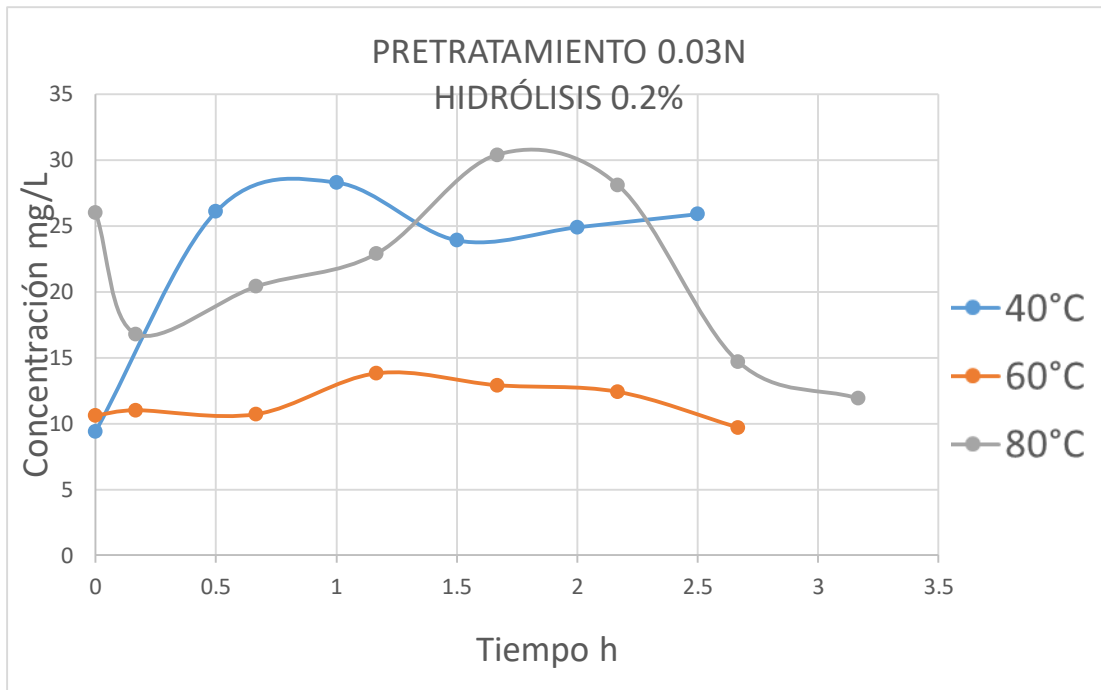


Figura 19. Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0.2% Fuente: Elaboración propia

#### 10.7.4 Hidrólisis al 0.3%

Tabla 21  
Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0.3%

HIDRÓLISIS 0,3%		40 °C				
TIEMPO	0.0 N		PRETRATAMIENTO		0.05N	
	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia
0	14,7	0,0422	9,4	0,0083	19,8	0,0851
0,5	24,3	0,0954	28,1	0,1083	16,6	0,0665
1	20,2	0,0726	34,3	0,1416	16	0,0634
1,5	15,5	0,0469	28,9	0,113	18,4	0,077
2	13,7	0,0371	23,8	0,0852	14,7	0,0557
2,5	15,5	0,047	27,5	0,1054	15,5	0,0604
HIDRÓLISIS 0,3%		60 °C				
0	24,7	0,0978	10,6	0,022	17,6	0,0594
0,167	28,1	0,1163	11,5	0,0266	18,4	0,064
0,667	21,2	0,0791	12,9	0,0343	16,8	0,0556
1,167	20,7	0,0761	15,6	0,0488	16,5	0,0535
1,667	23,1	0,0895	16,2	0,0519	13,8	0,0394
2,167	22,4	0,0855	11,7	0,0276	15,1	0,0459
2,667			11,5	0,0265	15	0,0454
HIDRÓLISIS 0,3%		80 °C				
0	26,1	0,1256	18	0,1248	26,2	0,1330
0,167	29,4	0,1445	19	0,0715	15,4	0,0656
0,667	26,3	0,1269	22,3	0,0617	16,6	0,0731
1,167	21,7	0,1006	30,2	0,1489	13,3	0,0527
1,667	21,3	0,098	35,4	0,068	14,2	0,0585
2,167	19,3	0,087	32,5	0,0691	13	0,0507
2,667	20,1	0,0913	13,7	0,0546	11,8	0,0436
3,167	23,4	0,1104	14,1	0,0572	12,5	0,0477

Fuente: Elaboración propia

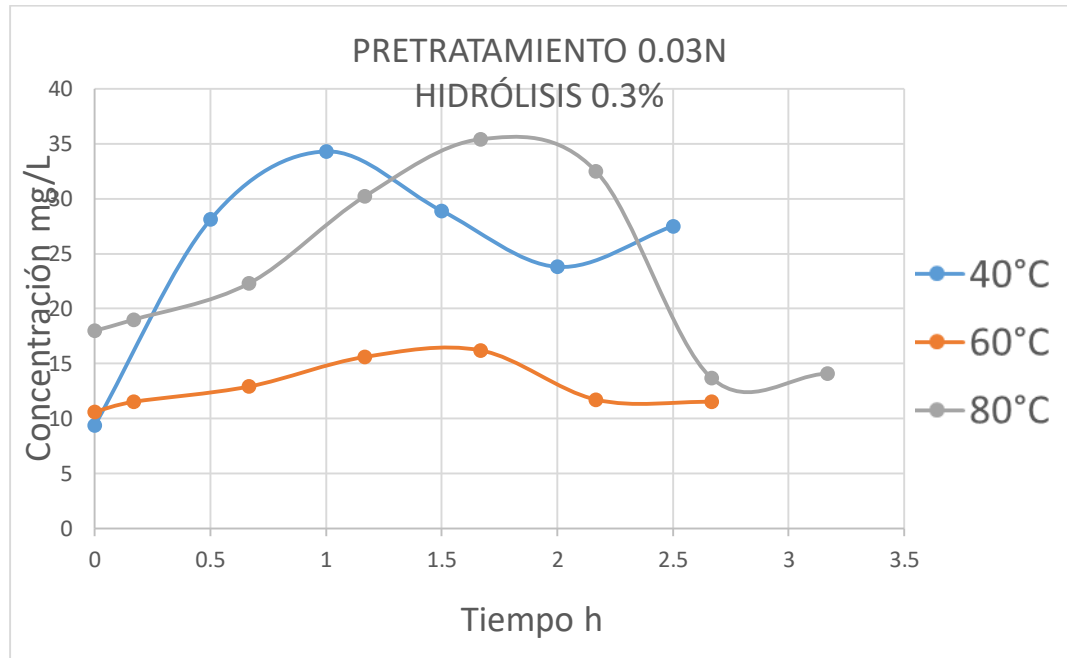


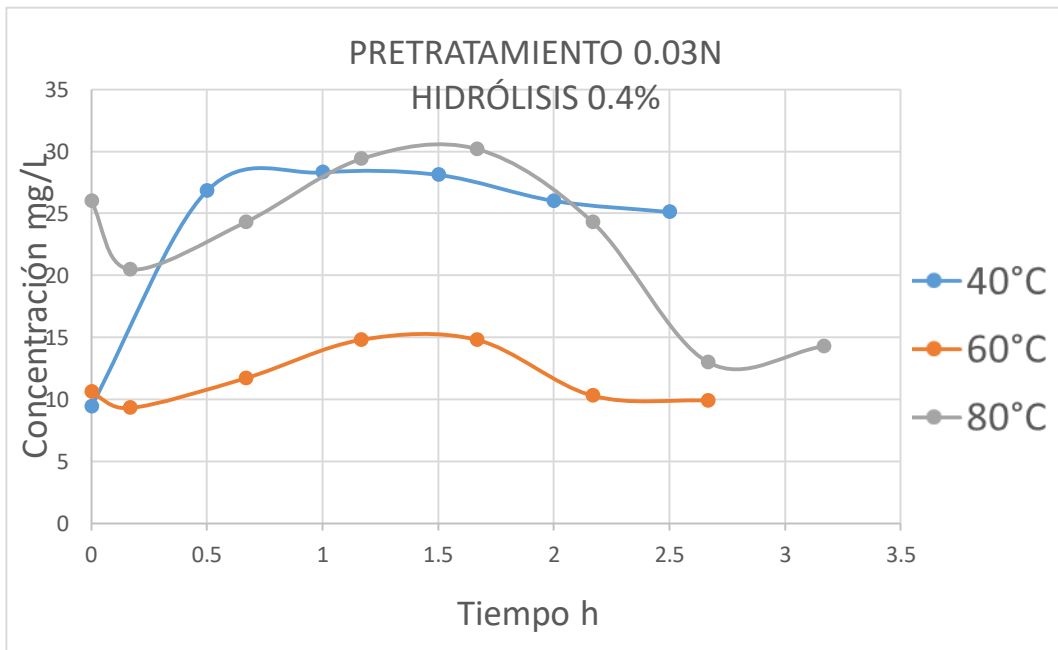
Figura 20. Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0.3% Fuente: Elaboración propia

### 10.7.5 Hidrólisis al 0.4%

Tabla 22  
Evaluación de la temperatura en la hidrólisis de la cáscara de yuca 0.4%

HIDRÓLISIS al 0,4% y 40 °C						
TIEMPO	0.0 N		PRETRATAMIENTO 0.03N		0.05N	
	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia	Concentración mg/L	Absorbancia
0	14,7	0,0422	9,4	0,0083	19,8	0,0851
0,5	18,7	0,0646	26,8	0,1013	13	0,0462
1	20	0,0717	28,3	0,1098	14,6	0,0551
1,5	11,7	0,0261	28,1	0,1083	20,7	0,09
2	14,2	0,0395	26	0,0971	32,5	0,157
2,5	17,3	0,0567	25,1	0,0921	23,8	0,1078
HIDRÓLISIS 0%		60 °C				
0	24,7	0,0978	10,6	0,022	17,6	0,0594
0,167	26,5	0,1075	9,3	0,0149	17,6	0,0594
0,667	23,2	0,09	11,7	0,0276	17,9	0,061
1,167	25,2	0,1006	14,8	0,0433	17,7	0,0604
1,667	23,9	0,0935	14,8	0,0444	16,9	0,0556
2,167	23,5	0,0913	10,3	0,0202	14,2	0,0411
2,667			9,9	0,018	12,3	0,031
HIDRÓLISIS 0,4%		80 °C				
0	26,1	0,1256	26	0,1248	26,2	0,1330
0,167	40,6	0,2085	20,5	0,0621	15,4	0,0657
0,667	21,8	0,1008	24,3	0,0577	12,5	0,048
1,167	22,7	0,1063	29,4	0,1262	14,5	0,0603
1,667	15,9	0,0674	30,2	0,0902	12,5	0,0477
2,167	20,4	0,0932	24,3	0,081	12,9	0,0505
2,667	21	0,0967	13	0,051	12,1	0,0455
3,167	22,1	0,1026	14,3	0,058	12,3	0,0464

Fuente: Elaboración propia



*Figura 21. Evaluación de la temperatura en el hidrólisis de la cáscara de yuca 0.4% Fuente: Elaboración propia*

## 10.8 Evaluación de la hidrólisis alcalina en cáscara de yuca

### 10.8.1 Hidrólisis alcalina a 80°C, sin pretratamiento alcalino

Tabla 23

*Azúcares reductores en la hidrólisis alcalina a 80°C, sin pretratamiento alcalino*

Tiempo min	Concentraciones de azúcares reductores				
	Hidrólisis alcalina				
	0%	0,30%	0,40%	0,50%	0,60%
0	50,6	50,6	50,6	50,6	50,6
10	175,2	228,9	233,8	227,5	251,3
20	184,9	260,8	204,7	236,2	212,8
30	199,4	225,9	229,3	175	182,8
60	200,6	195,2	160,1	150,8	165,7
90	182,2	154,8	133	131	169,4
120	163,8	125,5	135,6	115,6	132,1
150	177,9	128,1	134,8	126,3	160,5

*Fuente: Elaboración propia*



### 10.8.2 Hidrólisis con NaOH a 80°C, con pretratamiento alcalino

Tabla 24

Azúcares reductores en los hidrolizados de la cáscara de yuca con NaOH, con pretratamiento a 0.03N y a 80°C

Tiempo(min)	concentraciones de azúcares reductores					
	Hidrólisis					
	0%	0,30%	0,3 %	0,40%	0,50%	0,60%
0	37,2	37,2	37,2	37,2	37,2	
6	43,2	50,4	49,2	58,5	62	68,5
12	59,9	57,2	64,9	74,7	74,4	68
23	60,2	89,9	89,4	82,2	71,4	52,3
33	55,1	73,1	79,3	72,2	65,2	54,3
54	62,9	72,3	83,9	74,1	81	50,3
75	59,9	79,5	100,2	76,3	62,7	54,3
95	50,9	72,4	74,1	79,8	68,8	52,6

Fuente: Elaboración propia

### 10.8.3 Cinética de hidrólisis de la cáscara de yuca

Tabla 25

Cinética de la Hidrólisis alcalina al 0.3% con pretratamiento a 0.03N y a 80°C de la cáscara de yuca, mediante Azúcares Reductores,

Cazucar (mg/L)	t (min)	dC	dt	dC/dt	log dC/dt	log C
37.2	0					
49.2	6	12	6	2	0.30103	1.63548375
64.9	12	15.7	6	2.616666667	0.4177484	1.75625565
106.4	23	41.5	11	3.772727273	0.57665541	1.93272737
79.3	33	-27.1	10	-2.71		
83.9	54	4.6	21	0.219047619		
100.2	75	16.3	21	0.776190476		

Fuente: Elaboración propia

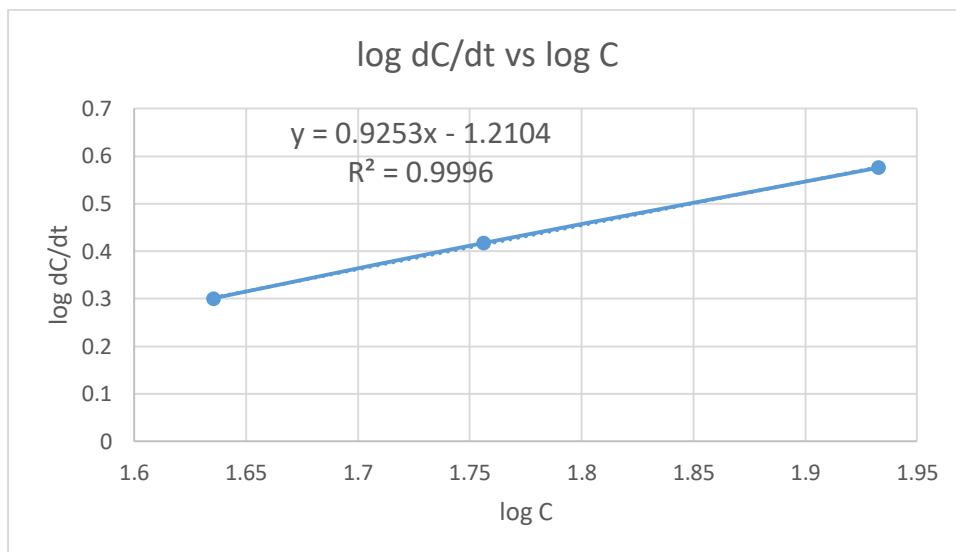


Figura 22. Cinética de Hidrólisis de la concentración de Azúcares de la cáscara de yuca hidrolizada.. Fuente: Elaboración Propia

#### 10.8.4 Concentración de azúcares reductores en el crecimiento bacteriano, para muestras pretratadas sin Alcalí

Tabla 26

Azúcares reductores en la parte líquida luego de sembrar las muestras de cáscara de yuca con pretratamiento a 0N y 80°C

Tiempo	Concentración de Azúcares reductores				
	Volumen de inóculo en muestras				
	0,2 mL	0,4 mL	0,6 mL	0,8 mL	1 mL
0	143,1	157,1	149,7	157	167,5
3	149,7	183,6	171,6	160,8	207,8
5	173,2	225,9	195,8	185,1	209,1
24	81,8	94,1	87,3	78,3	84,4
72	53,1	63,5	59,3	61,2	71,4

Fuente: Elaboración propia

*Tabla 27*

*Azúcares reductores en la parte sólida luego de sembrar con 1 mL a las muestras hidrolizadas de cáscara de yuca con pretratamiento sin álcali y a las temperaturas de 80 y 120 °C.*

Concentración de azúcares reductores					
Muestras hidrolizadas					
Tiempo	0% -(80)	(0.3%) (80)	0% (120)	0.3 % (120)	0.3% (120)
0	109,5	119,1	123,2	113	113,5
3	110,3	106,3	95,2	93,5	83,2
5	99,6	146,1	123,9	109,1	115,7
24	102,6	130,2	83,8	71,6	72,8
72	81,4	64,6	53,9	69,7	60,2

*Fuente: Elaboración propia*

### **10.8.5 Concentración de azúcares reductores en el crecimiento bacteriano, para muestras pretratadas con Alcalí y a 80 °C**

*Tabla 28*

*Azúcares reductores en la parte líquida luego de sembrar las muestras de cáscara de yuca con pretratamiento a 0.03N y 80°C*

Azúcares reductores						
Volumen de inóculo en muestras						
Tiempo	0.5 mL	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL	5 mL
0	378,7	454,6	380,8	359,2	366,6	369,2
119	430	413,9	443,8	395,4	439,5	392,9
202	385	417,4	405,4	377,3	402,8	385
313	396	416,7	387,2	390,9	369,8	383,7
557	409,1	415,2	424,8	426,6	398,1	400,3
1672	301,8	310,4	311,6	299,6	302,3	274,7

*Fuente: Elaboración propia*

*Tabla 29*

*Azúcares reductores en la parte sólida luego de sembrar con 1mL a las muestras hidrolizadas de cáscara de yuca con pretratamiento a 0.03N y 80°C*

Tiempo	Muestras					
	Muestras hidrolizadas					
	0%	0.3%	0.3%	0.4%	0.5%	0.6%
0	90,1	90,4	85,9	98,7	141,1	133
125	79,7	94,5	77,6	95,3	100,5	119,4
199	75	114	73	115,2	119,9	92,9
305	108,6	93,7	80,4	149,6	110,5	119,2
497	84,8	93,8	75,3	101	128,9	103,1
1607	112,3	75	95	115,3	154,6	160,1

*Fuente: Elaboración propia*

## **10.9 Evaluación de crecimiento bacteriano por conteo de placas**

Cantidad de UFC formados a distintos volúmenes de UFC inoculados.

*Tabla 30*

*Cantidad de Inóculo agregado a las muestras hidrolizadas de la cáscara de yuca*

	Parte líquida	Parte líquida	Parte líquida	Parte líquida	Parte líquida	Parte líquida	Parte sólida
v(mL)	0,5	1	2	3	4	5	1

*Fuente: Elaboración Propia*

### 10.9.1 Conteo de placas sin pretratamiento

*Tabla 31*

*Conteo de placas de muestras sin pretratamiento a 80°C inoculada a diferentes mL a la parte líquida*

Tiempo(h)	A1	A2	A3	A4	A5
	Log UFC/mL	Log UFC/mL	Log UFC/mL	Log UFC/mL	Log UFC/mL
0	5.274	5.255	5.084	5.273	5.532
2	5.456	5.438	5.242	5.463	5.657
3	5.666	6.069	5.849	6.009	6.239
5	6.383	6.477	6.730	6.487	7.186
7	6.885	6.757	7.368	6.854	7.615
13	7.815	7.256	8.754	7.812	8.105
18	8.123	7.426	9.126	8.486	8.318
24	8.066	7.301	8.972	8.413	8.238

*Fuente: Elaboración propia*

*Tabla 32*

*Conteo de placas de muestras sin pretratamiento a diferentes concentraciones de hidrólisis a la parte sólida*

Tiempo(h)	0%	0.3%	0.4%	0.5%	0.6%
	Log UFC/mL	Log UFC/mL	Log UFC/mL	Log UFC/mL	Log UFC/mL
0	4.627	4.883	5.400	5.495	5.615
2	4.855	5.125	5.456	5.595	5.756
3	5.597	5.741	5.585	5.912	6.114
5	6.679	6.422	6.262	6.885	7.104
7	7.140	6.856	6.965	7.256	7.556
13	7.400	7.485	8.125	7.756	8.058
18	7.460	7.663	8.446	7.998	8.215
24	7.420	7.550	8.336	7.944	8.102

*Fuente: Elaboración propia*

## 10.9.2 Conteo de placas con pretratamiento

Tabla 33

Recuento de *Lactobacillus casei* con pretratamiento en la parte líquida

Tiempo(h)	0.5 mL	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL	5 mL
	Log UFC/mL	Log UFC/mL	Log UFC/mL	Log UFC/mL	Log UFC/mL	Log UFC/mL
0.00	5.5295	5.1553	5.2719	5.5033	5.3900	5.0934
1.90	5.5823	5.1533	5.2965	5.6299	5.4159	5.3610
3.25	5.7753	5.3692	5.4508	5.7534	5.5451	5.5560
6.17	6.6544	5.9156	6.1746	5.6906	5.8695	5.9368
10.30	7.1769	6.8227	6.9337	5.7658	6.0865	6.4663
15.40	7.5655	7.5389	7.6526	5.9739	6.3456	7.0309
21.25	7.8893	7.9629	8.0834	6.4764	6.7892	7.5065
24.50	8.0437	8.1525	8.2615	6.956	7.8900	7.6902
28.00	8.0222	8.1052	8.1764	7.0099	7.9950	7.8279

Fuente: Elaboración propia

Tabla 34

Recuento de *Lactobacillus casei* con pretratamiento en la parte sólida

Tiempo(h)	0%	0.3%	0.3%	0.4%	0.5%	0.6%
	Log UFC/mL	Log UFC/mL	Log UFC/mL	Log UFC/mL	Log UFC/mL	Log UFC/mL
0.00	4.75966784	4.72513541	4.64226662	4.57165061	4.68313713	4.84026296
2.25	5.04766419	5.09394672	4.99277436	4.72956973	4.99869516	4.94987770
3.33	5.09043442	5.10209053	5.24303805	5.09342169	5.00860017	5.57403127
5.00	5.05499586	5.14612804	5.10209053	5.12057393	5.26245109	5.09342169
10.20	4.98819000	5.14984696	5.06487458	5.10369589	5.28126364	5.26985473
15.60	4.98826000	5.15265214	5.08954763	5.06126974	5.30369485	5.41697423
20,5	5.52504481	5.87609126	5.99691001	5.07918125	5.55022835	5.70757018
24.10	5.93463000	7.90513560	8.04554660	7.11698460	6.85694213	7.40246950
27.00	7.70342036	7.84173121	7.96629379	7.22160272	7.33598611	7.50832767

Fuente: Elaboración propia