

UNIVERSIDAD NACIONAL

PEDRO RUÍZ GALLO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA E

INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA

**“DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE GLUCOSA POR
HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE ALMIDONES DE YUCA
(*Manihot esculenta*), CAMOTE (*Ipomoea batatas*) Y PAPA (*Solanum
tuberosum*)”**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO QUÍMICO

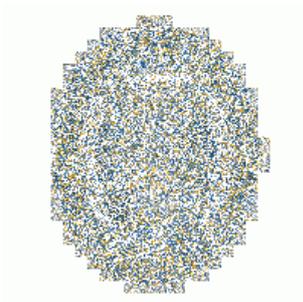
PRESENTADO POR:

Bach. RIOS RAMOS EDUARDA PATRICIA

Bach. ZELADA ROMERO HENRY MICHEL

LAMBAYEQUE – PERÚ

2017



UNIVERSIDAD NACIONAL

PEDRO RUÍZ GALLO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA E

INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA



**“DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE GLUCOSA POR
HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE ALMIDONES DE YUCA (*Manihot esculenta*),
CAMOTE (*Ipomoea batatas*) Y PAPA (*Solanum tuberosum*)”**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO QUÍMICO

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

**M.Sc. Juan Carlos Díaz Visitación
PRESIDENTE**

**M.Sc. Ivan Pedro Coronado Zuloeta
SECRETARIO**

**M.Sc. Sebastián Huangal Scheineder
VOCAL**

**Ing. Gerardo Santamaría Baldera
ASESOR**

**LAMBAYEQUE – PERÚ
2017**

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía en toda mi vida, en todo el desarrollo de mi carrera profesional y, por haberme permitido culminar de la mejor manera con este proyecto de investigación.

A mis padres, Eduardo y Zila, por todo el amor que siempre me brindan, por sus constantes motivaciones, por haber hecho posible llegar a esta instancia de mi vida. **LOS AMO**.

A mis hermanas, Rossy y Zila, a quienes quiero tanto, por escucharme, apoyarme, confiar en mí y compartir todos mis triunfos y fracasos.

A Michel Zelada Romero, por haber sido el mejor compañero de tesis, por todos sus conocimientos y experiencias compartidas, por sus constantes consejos y motivaciones, por haberme ayudado a crecer como persona y como profesional.

EDUARDA R.

DEDICATORIA

A mis padres, Salvador y Lucinda, por el apoyo incondicional durante cada día de mi vida, quienes con su ejemplo, experiencias y consejos, han contribuido en mi formación y han hecho de mi un gran profesional, con valores y respeto hacia los demás. **LOS AMO.**

A mis hermanos, Kemne y Alexei, compañeros inseparables, quienes me llenan de alegría y amor cada día y, que siempre me están dando palabras de aliento y fortaleza para seguir adelante y buscar siempre ser el mejor.

A mi profesor Joel Villa Pérez, quien con sus consejos y palabras constantes, me ayudó a encontrar y a darle un verdadero sentido a lo que es la vida universitaria y, gracias a ello, contribuyó en gran medida a mi desarrollo y formación profesional.

HENRY Z.

AGRADECIMIENTO

A nuestros padres, por su apoyo incondicional, valores inculcados, consejos, enseñanzas, paciencia y, por sus palabras de aliento y fortaleza de cada día; quienes estuvieron con nosotros apoyándonos en cada etapa de nuestra vida.

A nuestro asesor Ing. Gerardo Santamaría Baldera, por el tiempo brindado, consejos y enseñanzas, durante el desarrollo de esta tesis.

De manera especial al Sr. Edilberto Floriano Gómez, técnico de Laboratorio de Físico-química, de la Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias, por su apoyo desinteresado en los análisis respectivos del presente trabajo de investigación.

A los miembros del jurado, por brindar su valioso tiempo y sugerencias en la realización de nuestra tesis.

Al Ing. Rubén Sachún García, por sus aportaciones y sugerencias en la realización de nuestra tesis.

A la Srta. Rosita Cumpa, por su apoyo incondicional en los trámites respectivos durante el desarrollo de esta tesis.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	11
ABSTRACT.....	13
INTRODUCCIÓN.....	15
CAPÍTULO I	
I. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	20
1.1. ANTECEDENTES DE ESTUDIO.....	20
1.2. BASE TEÓRICA CIENTÍFICA.....	26
1.2.1. DESCRIPCIÓN DE LOS TUBÉRCULOS EMPLEADOS.....	26
1.2.2. ALMIDÓN.....	33
1.2.3. DIFERENCIAS DEL ALMIDÓN SEGÚN SU ORIGEN.....	37
1.2.4. ENZIMAS AMILASAS.....	44
1.2.5. HIDRÓLISIS DEL ALMIDÓN.....	47
1.2.6. PROCESO DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL ALMIDÓN.....	51
1.2.7. ANÁLISIS DE AZÚCARES REDUCTORES.....	55
1.2.8. EQUIVALENTE DE DEXTROSA (DE).....	57
1.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.....	59
CAPÍTULO II	
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	65
2.1. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	65
2.2. EQUIPOS Y MATERIALES DE LABORATORIO.....	65
2.3. PROCEDIMIENTO.....	67
2.3.1. EXTRACCIÓN DE ALMIDÓN.....	67

2.3.2. PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN.....	68
2.3.3. HDRÓLISIS DE ALMIDÓN.....	68
CAPÍTULO III	
III. RESULTADOS.....	71
3.1. RENDIMIENTO DE ALMIDÓN A PARTIR DE YUCA, CAMOTE Y PAPA.....	71
3.2. PORCENTAJE DE AZUCARES REDUCTORES Y DE DEL HIDROLIZADO DESPUÉS DE LA LICUEFACCIÓN.....	72
3.3. PORCENTAJE DE AZUCARES REDUCTORES Y DE DEL HIDROLIZADO DESPUÉS DE LA SACARIFICACIÓN.....	73
3.4. RENDIMIENTO DE GLUCOSA POR HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE LOS ALMIDONES.....	74
CAPÍTULO IV	
IV. DISCUSIONES.....	76
CAPÍTULO V	
V. CONCLUSIONES.....	81
CAPÍTULO VI	
VI. RECOMENDACIONES.....	83
CAPÍTULO VII	
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85
CAPÍTULO VIII	
VIII. ANEXOS.....	91

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1.1.....	28
Tabla N° 1.2.....	30
Tabla N° 1.3.....	32
Tabla N° 1.4.....	39
Tabla N° 1.5.....	44
Tabla N° 1.6.....	58
Tabla N° 3.1.....	71
Tabla N° 3.2.....	72
Tabla N° 3.3.....	73
Tabla N° 3.4.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1.1.....	35
Figura N° 1.2.....	37
Figura N° 1.3.....	40
Figura N° 1.4.....	41
Figura N° 1.5.....	41
Figura N° 1.6.....	42
Figura N° 1.7.....	42
Figura N° 1.8.....	43
Figura N° 1.9.....	50
Figura N° 1.10.....	53
Figura N° 1.11.....	55

ÍNDICE DE REACCIONES

Reacción N° 1.1.....	56
Reacción N° 1.2.....	57
Reacción N° 1.3.....	58

ÍNDICE DE LOS ANEXOS

Anexo N° 8.1.....	91
Anexo N° 8.2.....	96
Anexo N° 8.3.....	99

ÍNDICE DE TABLAS DE LOS ANEXOS

Tabla N° 8.1.....	93
Tabla N° 8.2.....	93
Tabla N° 8.3.....	94
Tabla N° 8.4.....	94
Tabla N° 8.5.....	95
Tabla N° 8.6.....	95
Tabla N° 8.7.....	97
Tabla N° 8.8.....	97
Tabla N° 8.9.....	98

RESUMEN

Dada la gran necesidad de glucosa para uso final o como insumo industrial para la obtención de productos de mayor valor comercial, en este trabajo de investigación se planteó el objetivo de determinar el rendimiento de glucosa por hidrólisis enzimática de tres almidones: yuca (*Manihot esculenta*), camote (*Ipomoea batatas*) y papa (*Solanum tuberosum*).

Se han empleado 5 Kg de cada tubérculo, se lavaron y pelaron para proceder a extraer el almidón, reportando el rendimiento de almidón obtenido por Kg de materia prima empleada. Las enzimas empleadas fueron: Amylyve A30, una amilasa de origen bacteriano; y Amylyve AG 400L, una glucoamilasa de origen fúngico. Las dosis recomendadas fueron 3 gramos por Kg de almidón para la alfa amilasa, y 2 gramos por Kg de hidrolizado para la glucoamilasa.

Los ensayos fueron realizados con 150 gramos de muestra contenidos en una suspensión de 20% de almidón en agua. La hidrólisis enzimática se realizó en tres etapas sucesivas, utilizando para ello un agitador orbital, con regulación de temperatura hasta 150°C. La velocidad de agitación fue 300 rpm.

La gelatinización se realizó a 90°C durante 30 minutos. Luego la licuefacción con la enzima alfa amilasa se realizó a 70°C, con ajuste de pH a 6.0 y durante un tiempo de 120 minutos.

La sacarificación se realizó con la adición de la enzima glucoamilasa a 65°C, con ajuste de pH a 4.8 y durante un tiempo de 24 horas.

Después de la licuefacción y sacarificación se filtró el hidrolizado y se procedió a medir el porcentaje de azúcares reductores y °Brix.

Los tres almidones demostraron ser materias primas alternativas para la producción de glucosa, llegando a obtener valores comparables con los obtenidos industrialmente con almidón de maíz, uno de los almidones más empleados. No obstante, el almidón de yuca demostró mayor rendimiento, dando un valor de 91.72% respecto al teórico. Después de la etapa de licuefacción, rindió un Equivalente de Dextrosa promedio de 13.68; y en la etapa de sacarificación el valor de Equivalente de Dextrosa fue de 89.54.

Palabras claves: almidón, hidrólisis enzimática, amilosa, amilopectina, azúcares reductores, glucosa.

ABSTRACT

Given the great need for glucose to end or as an industrial input to obtain products of higher commercial value used in this research in order to determine the yield of glucose by enzymatic hydrolysis three starches raised, Cassava (*Manihot esculenta*), sweet potato (*Ipomoea batatas*) and potato (*Solanum tuberosum*).

They were used 5 Kg of each tuber, washed and stripped to proceed to extract starch, starch reporting performance obtained per Kg of raw material used. Enzymes used were Amylyve A30, an amylase of bacterial origin, Amylyve AG 400L, a glucoamylase of fungal origin. Recommended doses were 3 grams per Kg of starch for alpha amylase, and 2 grams per Kg for glucoamylase hydrolysed.

The tests were conducted with 150 grams of sample contained in a suspension of 20% starch in water. Enzymatic hydrolysis was carried out in three successive stages, using an orbital-reciprocating stirrer, temperature control up to 150°C. The stirring speed was 300 rpm.

Gelatinization was carried out at 90°C for 30 minutes. After liquefaction with alpha amylase enzyme was performed at 70°C, pH adjusted to 6.0 and for a time of 120 minutes.

Saccharification was performed with the addition of the glucoamylase enzyme at 65°C, pH adjustment 4.8 and for a time of 24 hours.

After liquefaction and saccharification the hydrolyzate was filtered and proceeded to measure the percentage of reducing sugars and °Brix.

The three starches proved alternative raw materials for the production of glucose, obtaining values comparable with those obtained industrially with corn starch, one of the starches more employees. However, cassava starch showed higher performance, giving a value of 91.72% of the theoretical. After the liquefaction stage, he yielded an average of 13.68 DE; and saccharification step of the value was 89.54.

Keywords: starch, enzymatic hydrolysis, amylose, amylopectin, reducing sugars, glucose.

INTRODUCCIÓN

Los azúcares, en especial la glucosa se ha convertido por muchos años en un insumo industrial para la obtención de productos de uso masivo como etanol, ácido cítrico, ácido acético y otros; así como productos químicos especiales, tales como aminoácidos, glutamato monosódico, sorbitol, ácido glucónico, ácido láctico, 1,3-propanodiol, antibióticos, enzimas, biofarmacéuticos (anticuerpos, ácidos nucleicos, insulina), plásticos y varios más (Li M. et al., 2010). Los compuestos mencionados son productos de consumo final o insumos fácilmente transformables en otros, ya sea por una ruta química simple o utilizando metabolismos. Respecto a las rutas químicas a partir de glucosa, se pueden obtener: Hidroximetilfurfural (HMF), ácido glucárico, ácido glucónico, sorbitol, glucopiranosas, glucopiranosidos, entre otros (Corma, Iborra & Velty; 2007).

La glucosa tiene adicionalmente usos directos, tales como espesante, saborizante de baja intensidad, en confitería, como agente que permite alterar las propiedades térmicas de otros compuestos alimenticios. En Perú, el mercado de la confitería está creciendo y sus costos están fuertemente ligados al cacao, al azúcar, a la glucosa; de tal manera que las empresas están invirtiendo en investigación y desarrollo, con la finalidad de aumentar la competitividad (Mixan, 2014).

La fuente de glucosa más utilizada a nivel mundial son las melazas, residuos de la industria azucarera, tanto de la caña de azúcar como de la remolacha. Sin embargo, en el mercado internacional, las melazas tienen cuatro usos básicos: producción de etanol, alimento animal, reprocesamiento industrial para extraer el azúcar contenido en ella, y en producciones industriales tales como: levadura, ácido cítrico, lisina, entre otros. Los ingenios azucareros en su mayor parte tienen una destilería anexa, donde consumen su melaza producida (Novoa Gonzáles A., 2010).

Una fuente alternativa para la producción de glucosa a nivel industrial es la hidrólisis del almidón contenido de diversos cereales (maíz, arroz, trigo), así como también de raíces y tubérculos (yuca, camote, papa, olluco, makal, malanga, jícama, entre otros). La hidrólisis del almidón se puede realizar mediante dos vías: ácida o enzimática. La hidrólisis ácida del almidón para obtener glucosa, es una técnica que tiene muchas desventajas, tales como: formación de productos no deseables y flexibilidad muy pobre (el producto final sólo se puede modificar cambiando el grado de hidrólisis); por último es necesaria que el equipo resista al ácido y a las temperaturas requeridas durante este proceso. La hidrólisis enzimática en los últimos 30 años ha desplazado a la hidrólisis ácida, debido a que se dispone de nuevas enzimas. Hoy en día la mayor parte de hidrólisis de almidón se realiza utilizando enzimas, ya que esta técnica presenta ventajas, tales como: control de la formación de productos no deseables y mayor flexibilidad del producto (Mera & Carrera, 2005).

En la hidrólisis enzimática, el almidón es previamente separado y purificado de las fuentes ya mencionadas. Luego se somete a una serie de procesos cuya tecnología es bien conocida y utilizada; y que comprende en resumen tres etapas: gelatinización, licuefacción y sacarificación. En la etapa de licuefacción, se emplea la enzima alfa amilasa; y en la etapa de sacarificación se emplea la enzima glucoamilasa. De esta manera se obtiene, por ejemplo: jarabe de maíz rico en fructosa (Mera I. et al., 2003). La cantidad de enzimas amilasas (alfa amilasa y glucoamilasa) para obtener glucosa de almidones purificados, es especificada por los fabricantes de estas enzimas.

Los gránulos de almidón de distintas materias primas definitivamente tienen diferentes propiedades fisicoquímicas y funcionales. Los almidones nativos de las diferentes especies de vegetales, tienen como característica fundamental que tanto sus propiedades fisicoquímicas como funcionales están influenciadas por sus estructuras tanto granular como molecular (Hernández Medina M. et al., 2008).

Este trabajo de investigación se justifica porque tiende a buscar fuentes alternativas de producción de glucosa, un azúcar que sirve como insumo para diferentes industrias tanto fermentativas como químicas. Las materias primas empleadas en nuestro estudio como yuca, camote, papa, son ampliamente producidas en nuestro país y, que al procesarlas se les da un mayor valor agregado, primero se obtiene almidón, luego se hidroliza y finalmente se obtiene glucosa. De esta manera se incentiva la obtención de glucosa de otras fuentes que no sean tradicionales y escasas como la melaza de la caña de azúcar. Es importante porque además de presentar fuentes alternativas de

obtención de glucosa por hidrólisis enzimática del almidón, se les da un gran valor agregado a estos cultivos, y por ende se mejora la economía de los agricultores dedicados a la siembra de estos tubérculos.

El objetivo principal es determinar el rendimiento de glucosa por hidrólisis enzimática de almidones de yuca (*Manihot esculenta*), camote (*Ipomoea batatas*) y papa (*Solanum tuberosum*). Para lograr este objetivo en el presente trabajo nos planteamos dos objetivos específicos: determinar el porcentaje de almidón que contiene la yuca, camote y papa; y finalmente determinar las condiciones de operación de la hidrólisis enzimática de los almidones de dichos tubérculos.

Teniendo en cuenta la disponibilidad de materias primas y la necesidad de azúcares, como la glucosa para desarrollar otros procesos industriales; y además considerando que los almidones de diferentes fuentes, tienen distintos comportamientos fisicoquímicos y funcionales, nos proyectamos al desarrollo de este trabajo de investigación con la finalidad de encontrar el rendimiento diferenciado en la producción de glucosa a partir de almidones de yuca, camote y papa.

CAPÍTULO I

I. FUNDAMENTO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES DE ESTUDIO

La escasez de fuentes renovables de glucosa, insumo básico de la industria biotecnológica; ha obligado a realizar investigaciones de obtención de ésta, a partir de diferentes fuentes de almidón. Entre estas investigaciones realizadas en distintos años tenemos:

- ❖ Chávez Paz D., en el año 2002 sustentó su tesis denominada: “Elaboración de jarabe de glucosa partiendo del almidón de camote (*Ipomoea batatas*)”. El autor considera que el camote es un cultivo nativo de América. Con sus bajos requerimientos, adaptación a climas y topografías americanas, puede ser una opción para el agricultor latinoamericano. En la Planta de Procesamiento de Frutas y Hortalizas de Zamorano, se realizó la extracción del almidón por el método Carver Modificado, y en el Centro de Evaluación de Alimentos se convirtió a jarabe de glucosa por hidrólisis y sacarificación enzimática. Se evaluó con el viscosímetro, colorímetro y una prueba de Lane-Eynon para determinar su viscosidad, color y contenido de glucosa. El jarabe producido con almidón de camote rinde 15 % sobre el peso de la pasta, tiene menor viscosidad, menor contenido de glucosa y un color más opaco y amarillo que el jarabe de almidón de maíz.

- ❖ Mera I. et al., de la Universidad del Cauca en el año 2003; realizaron su trabajo de investigación: “Producción de glucosa farmacéutica a partir de almidón de yuca”. El trabajo se realizó para desarrollar la hidrólisis enzimática de almidón de yuca usando enzimas comerciales (alfa amilasa y glucoamilasa). Inicialmente se caracterizó el almidón de yuca producido en la región, se realizó el análisis bromatológico. Luego se determinó la relación amilosa/amilopectina y se encontraron las condiciones óptimas de operación en el proceso de hidrólisis con las enzimas comerciales de Novo Nordisk.

También se caracterizaron las enzimas comerciales para observar su comportamiento en temperatura como en acidez. Con alfa amilasa emplearon temperaturas de 55, 60, 65 70 y 75°C con pH de 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 y 7.0. La etapa de sacarificación de glucoamilasa fue ensayada con temperaturas de 55, 60, 65, 70 y 75°C; mientras que los pH ensayados fueron 4.0, 4.3, 4.5, 4.8 y 5.0. En los resultados reportan que la alfa amilasa funcionó mejor a pH 6.0 y temperatura de 70°C. Con la glucoamilasa la mejor actividad se obtuvo a pH 4.8 y temperatura 65°C.

- ❖ Hernández Uribe J. et al., en el año 2008 presentaron su trabajo de investigación en la revista Interciencia: “Obtención de jarabe fructosado a partir del almidón de plátano (*Musa Paradisiaca*). Caracterización parcial”.

En este trabajo se reportan algunas propiedades fisicoquímicas del jarabe de fructosa obtenido a partir del almidón de plátano (JFP). El JFP se

obtuvo mediante dos reacciones secuenciales, catalizadas por enzimas que transformaron el almidón a glucosa y, finalmente la glucosa a jarabe de fructosa mediante isomerización. En la isomerización se logró una conversión media de 41.3 %, obteniéndose un promedio de 63.3 mg.ml⁻¹ de fructosa a las 80 hr de proceso. El color del JFP, medido en unidades de densidad óptica (UDO), fue alto (1.78) en comparación con la escala recomendada para jarabe de fructosa (0.025-0.200), lo que probablemente se debió a que el JFP tiene mayor contenido de cenizas (2.07 %) que los jarabes comerciales. La viscosidad del producto fue baja en comparación con los jarabes comerciales. Los resultados demuestran que es posible obtener jarabe fructosado a partir del almidón de plátano, con características comparables a los jarabes comerciales.

- ❖ Ruíz Camacho M., en el año 2009 presentó su trabajo de tesis: “Obtención de jarabes de glucosa a partir de almidón de yuca por medio de hidrólisis enzimática, para ser usados como sustrato en la producción de bioetanol”. En este trabajo se evaluaron a nivel de laboratorio los parámetros de la hidrólisis enzimática del almidón, para la producción de jarabes de glucosa. Se compararon las enzimas de Novozymes y Genecor International. Se evaluaron la α -amilasa del *Bacillus licheniformis* (Liquozyme® SC DS, de Novozymes), en un rango de pH 5.7-6.0 de temperatura 82-86°C, dosificación de la enzima en porcentaje (p/p) 0.013-0.025; igualmente la glucoamilasa del *Aspergillus niger* (Spirizyme® Fuel, de Novozymes, en un rango de pH 3.5-5.5, de

temperatura 32-70°C, dosificación de enzima en porcentaje (p/p) 0.04-0.06; y finalmente la mezcla enzimática fúngica α -amilasa del *Aspergillus kawachi* y glucoamilasa del *Aspergillus niger* (STARGENTM 001), de Genecor International), en un rango de pH 3.0-4.5, temperatura de fermentación de 20-40°C, dosificación de enzima 1.0-2.5 Kg/TM de grano seco. Se utilizaron los métodos analíticos del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), glucosa oxidasa y Bradford, para medir y determinar los valores equivalentes de dextrosa (ED) y actividad enzimática, concentración de glucosa y concentración de proteína, respectivamente. Se encontró que las mejores condiciones de hidrólisis enzimática de almidón de yuca fueron: α -amilasa (Liquozyme® SC DS) a pH 5.0, temperatura de 80°C, dosificación de enzima en porcentaje (p/p) 0.0280; con glucoamilasa (Spirizyme® Fuel) pH 4.5, temperatura 70°C, dosificación de enzima en porcentaje (p/p) 0.0631; y finalmente la mezcla enzimática α -amilasa y glucoamilasa (STARGENTM 001) pH 4.5, temperatura de 46°C, dosificación de enzima 0.023 en porcentaje (p/p).

- ❖ Beltran M. & Herreño T., en el 2010 presentaron su trabajo de tesis: “Aplicación de la enzima α -amilasa comercial BAN® 480L a la harina de arroz para la elaboración de una bebida vegetal”. Ellos evaluaron la capacidad de hidrólisis de la alfa amilasa aplicándola a una mezcla harina de arroz-agua, se realizó una comparación de la acción de la enzima durante diferentes tiempos distantes uno del otro para verificar las

diferencias (30, 60 y 75 minutos), y además como concentraciones se estableció la sugerida por la ficha técnica de la enzima, por cada gramo de almidón presente en la muestra, la mitad y el doble de esta (3.9, 7.8 y 16.6 μ l). El mejor resultado se consiguió con una concentración de 15.6 μ l/g de almidón y un tiempo de 30 minutos, lográndose una mezcla con una viscosidad de 54.43 cP y un porcentaje equivalente de dextrosa 55.21 %.

- ❖ Zainab A. et al., pertenecientes al Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Maiduguri Nigeria, en el año 2011 llevaron a cabo la investigación: “Producción a escala de laboratorio de jarabe de glucosa por hidrólisis enzimática del almidón obtenido del maíz, mijo y sorgo” (Laboratory scale production of glucose syrup by the enzymatic hydrolysis of starch made from maize, millet and sorghum). El almidón extraído de maíz amarillo después de remojar durante 72 horas y previamente purificado por el método de sedimentación tuvo el mayor rendimiento de 86.71 % (4.34 ± 0.37 g) seguido por el almidón obtenido a partir de mijo y sorgo con un rendimiento de 65.94 % (3.30 ± 0.25 g) y 64.71 % (3.23 ± 0.09 g), respectivamente. La temperatura más baja de inicio de la gelatinización fue de $59.25 \pm 0.90^{\circ}\text{C}$ y se observó con el almidón de sorgo. La glucosa recuperada con amiloglicosidasa pura obtenida del hongo *Rhizopus* produjo 17.15 ± 0.10 mg/ml de azúcar reductor del almidón de maíz amarillo después de 10 minutos. El almidón de mijo y sorgo siguieron con un rendimiento de 15.79 ± 0.20 mg/ml y

11.32 ± 0.26 mg/ml en 10 minutos, respectivamente. Glucosa líquida producida con la amiloglucosidasa pura reveló un equivalente de dextrosa de 78.28 ± 0.57 %, 73.50 ± 0.66 % y 65.66 ± 0.61 % para el sorgo, el maíz amarillo y el mijo, respectivamente. El sorgo y el almidón de maíz amarillo exhibieron un buen potencial como sustratos para la producción de jarabe de glucosa.

- ❖ Eshra D.H. et al., en el 2014 publicaron los resultados de un trabajo de investigación en la que demuestran la performance de la hidrólisis de almidón y producción de jarabe de maíz usando algunas enzimas comerciales. Cinco preparaciones enzimáticas amilolíticas comerciales, dos de licuefacción (Termamyl Supra y Clarase L40.000) y tres de sacarificación (AMG E, Dextrozyme DX y Optimax 4060 VHP) fueron utilizadas para la performance de hidrólisis de almidón para producir un jarabe de maíz. Las condiciones de operación de estas preparaciones demostraron que la AMG E fue la enzima menos efectiva dentro de las enzimas de sacarificación probadas. Cuatro combinaciones de enzimas de las otras cuatro enzimas de licuefacción y sacarificación fueron ensayadas para la hidrólisis del almidón de maíz. Los resultados indican que el período de licuefacción con Termamyl Supra y Clarase no debe exceder más de 90 minutos, mientras que las concentraciones de almidón fueron 300 g/L para Termamyl Supra y 40 g/L para Clarase. Se determinó que la combinación de Clarase seguido de Optimax o Dextrozyme fueron más efectivas que las combinaciones de Termamyl

Supra, seguida por las mismas enzimas de sacarificación. El perfil de carbohidratos del jarabe de maíz producido demostró que la glucosa es el principal componente (86.92 %). Los valores de dextrosa equivalente (DE) y la dextrosa equivalente verdadera (DX) del jarabe de maíz fueron 79.587 y 85.334 respectivamente.

No se ha encontrado un estudio comparativo de la determinación del rendimiento de glucosa por hidrólisis enzimática de los almidones de yuca, camote y papa; por lo tanto constituye una novedad como trabajo de investigación.

1.2. BASE TEÓRICA

1.2.1. DESCRIPCIÓN DE LOS TUBÉRCULOS EMPLEADOS

A) YUCA

La yuca (*Manihot esculenta*), es un cultivo perenne con alta producción de raíces reservantes, como fuente de carbohidratos y follajes para la elaboración de harinas con alto porcentaje de proteínas. Las características de este cultivo permiten su total utilización, el tallo (estacón) para su propagación vegetativa, sus hojas para producir harinas y las raíces reservantes para el consumo en fresco, en la agroindustria o en la exportación.

Su carácter de planta rústica, bajísimo costo de producción, condiciones favorables en nuestro país para su producción en

todo el año y cultivares de buena calidad son algunas bondades que deben tomarse en cuenta como alimento barato para el siglo. Además es un cultivo con altísima tolerancia al estrés biótico (plagas, enfermedades), por ello más del 80 % del hectareaje sembrado no requiere de agroquímicos para su control; la fertilización química en la costa, es de niveles bajos (20-40-60%), y en la Selva, generalmente se fertiliza, haciendo uso de las épocas adecuadas de siembra y mediante la realización de las labores culturales oportunas, son la mejor manera de manejarlas y producirlas (UNALM, 2015).

Las raíces, motivo del presente estudio, comprenden la corteza externa, la corteza media, la corteza interna, el cilindro central, y la estela, pulpa o región vascular. La corteza externa llamada también súber o corcho, corresponde a un 0.5-2.0 % del total de la raíz. La industria del almidón prefiere aquellas variedades de adherencia débil. La corteza media está formada por felodermis, sin esclerénquima, posee un contenido en almidón bajo y en principios cianogénicos alto, constituye un 9-15 % del total de la raíz. La corteza interna está constituida por parte del parénquima de la corteza primaria, floema primario y secundario. Por último, el cilindro central está formado básicamente por el xilema secundario. La raíz reservante no tiene médula y pueden ser raíces de pulpa amarilla, crema y

blanca. El rendimiento de raíces por planta suele ser de 1-3 Kg, pudiendo llegar en óptimas condiciones hasta 5-10 Kg/planta. Se muestra el valor nutricional de las raíces de yuca en la siguiente tabla.

Tabla N° 1.1: Composición nutritiva de las raíces de la yuca (por 100 g de base seca)

Valor energético (Kcal)	132.00
Agua (%)	65.20
Proteína (%)	1.00
Grasa (%)	0.40
Carbohidratos totales (%)	32.80
Fibra (%)	1.00
Cenizas (%)	0.60
Calcio (mg)	40.00
Fósforo (mg)	34.00
Hierro (mg)	1.40
Tiamina (mg)	0.05
Riboflavina (mg)	0.04
Niacina (mg)	0.60
Ácido ascórbico (mg)	19.00
Porción no comestible (%)	32.00

Fuente: InfoAgro.com

B) CAMOTE

El camote (*Ipomoea batatas*), es una especie vegetal de la cual se aprovecha todas sus partes. Es un alimento importante para los pobladores de la costa; si bien los primeros cultivos fueron en la costa, posteriormente se extendieron a los valles interandinos cálidos en la selva amazónica. Es una raíz reservante, con alta concentración de azúcares, caroteno y provitamina A.

A pesar de su alta productividad y bajos costos de producción, su siembra es bastante rústica, pues generalmente se le maneja en el campo de forma natural. Tiene múltiples aplicaciones, en la cosecha se utiliza toda la planta ya sea como alimento, forraje, medio de propagación o como materia prima súper barata para la industria. Es otro cultivo importante con alta tolerancia a estreses bióticos y abióticos, por esta cualidad, la producción general en las tres regiones del país es en forma natural y su costo de producción es bajo. En algunas zonas de la costa, el nivel de fertilización es bajo en nitrógeno y fósforo, pero alto en potasio (UNALM, 2015).

La raíz es la parte más importante de la planta, ya que constituye el objeto principal del cultivo. Las raíces son abundantes y ramificadas, produciendo tubérculos de formas y colores variados (según variedad), de carne excelente, azucarada,

perfumada y rica en almidón, con un elevado contenido de caroteno y vitamina C, y una proporción apreciable de proteínas. El peso de los tubérculos puede variar desde los 200-300 gramos hasta los 6 Kg (InfoAgro.com).

Tabla N° 1.2: Composición química del camote, por cada 100 g de raíces

ENERGÉTICOS	
Valor energético (Kcal)	91.00
Proteínas (g)	1.80
Grasa (g)	0.60
Carbohidratos (g)	21.50
Almidones y dextrinas (g)	11.80
Azúcar (g)	9.70
Fibra (g)	2.50
Agua (g)	70.00
VITAMINAS	
Caroteno, Provitamina (mg)	4.00
Triptófano (mg)	0.40
Niacina (mg)	0.80
Tiamina (mg)	0.10
Riboflavina B ₂ (mg)	0.06
Vitamina B ₅ (Ác. Pantoténico) (mg)	0.94
Vitamina B ₆ (Ác. Piridoxina) (mg)	0.22
Vitamina C	2.50

Fuente: lamolina.edu.pe

Además de los energéticos y vitaminas mostradas en la Tabla N° 1.2, el camote contiene minerales como Na (19 mg), K (320 mg), Ca (28 mg), Mg (13 mg), P (47 mg), Fe (0.7 mg), Cu (0.10 mg) y Zn (0.2 mg) (nutritiondata.com).

C) PAPA

La papa (*Solanum tuberosum*), es una planta alimenticia que procede de las culturas Pre-Incas e Incas. Actualmente en el Perú es el principal cultivo en superficie sembrada y, representa el 25% del PBI agropecuario. Se siembra principalmente en la Sierra, pero también existe producción en la Costa. La papa Chanchan INIA, es una de las papas que se adapta a la Costa y Sierra.

Existen cientos de variedades naturales o cuasi naturales (las cuasi naturales son las derivadas de la selección realizada por el humano, aunque sin ninguna modificación genética, ni ninguna hibridación transgénica artificialmente inducida).

Las distintas variedades se pueden diferenciar por el color de la epidermis y de la pulpa, la resistencia a enfermedades, el largo del ciclo de cultivo y los requerimientos nutritivos, entre otras características de relevancia productiva. Rasgos irrelevantes para la producción pero que sirven para identificar cultivares,

son el color de las flores, la rugosidad de la epidermis y la profundidad de los ojos (agroancash.gob.pe).

Tabla N° 1.3: Composición química promedio de una porción de 100 g de papa fresca

MINERALES	
Potasio (mg)	560.00
Fósforo (mg)	50.00
Calcio (mg)	9.00
Sodio (mg)	7.00
Fierro (mg)	0.80
VITAMINAS	
B ₁ (Tiamina) (mg)	0.10
B ₂ (Riboflavina) (mg)	0.04
B ₆ (Piridoxina) (mg)	0.25
Vitamina C (mg)	20.00
Niacina (mg)	1.50

Fuente: Usucachi, 2011.

1.2.2. ALMIDÓN

El almidón es una materia prima con un amplio campo de aplicaciones, que van desde la impartición de textura y consistencia en alimentos, hasta la manufactura del papel, adhesivos y empaques biodegradables.

El almidón es la principal fuente de almacenamiento de energía en los vegetales, ya que provee del 70 al 80 % de las calorías consumidas por los humanos, se encuentra en grandes cantidades en las diversas variedades de plantas, como por ejemplo en los granos de los cereales, los cuales contienen entre 60 y 75 % de su peso seco, así como también puede encontrarse en tubérculos, semillas de leguminosas y en frutas como polisacáridos de reserva energética y, su concentración varía con el estado de madurez de los mismos (Thomas y Atwell, 1999).

Las propiedades más importantes a considerar para determinar la utilización del almidón en la elaboración de alimentos y otras aplicaciones industriales incluyen las fisicoquímicas: gelatinización y retrogradación, y las funcionales: solubilidad, hinchamiento, absorción de agua, sinéresis y comportamiento reológico de sus pastas y geles (Wang y White, 2004).

Químicamente el almidón o fécula es un polisacárido homogéneo formado por la mezcla de dos polisacáridos diferentes: amilosa y amilopectina, que constituye

aproximadamente el 25 % en peso de polímeros de glucosa lineal (amilosa) y el 75 % de polímeros de glucosa ramificada (amilopectina). La amilosa tiene un peso molecular promedio de 10^5 - 10^6 g/mol, construido de unidades de glucosa con enlace α -1,4. La amilopectina es mucho más grande, tiene un peso molecular de 10^7 - 10^9 g/mol; esta molécula de amilopectina tiene una estructura altamente ramificada, debido a que aproximadamente el 5 % de las unidades de glucosa son enlaces α -1,6 (Ellis et al., 1998).

A) AMILOSAS

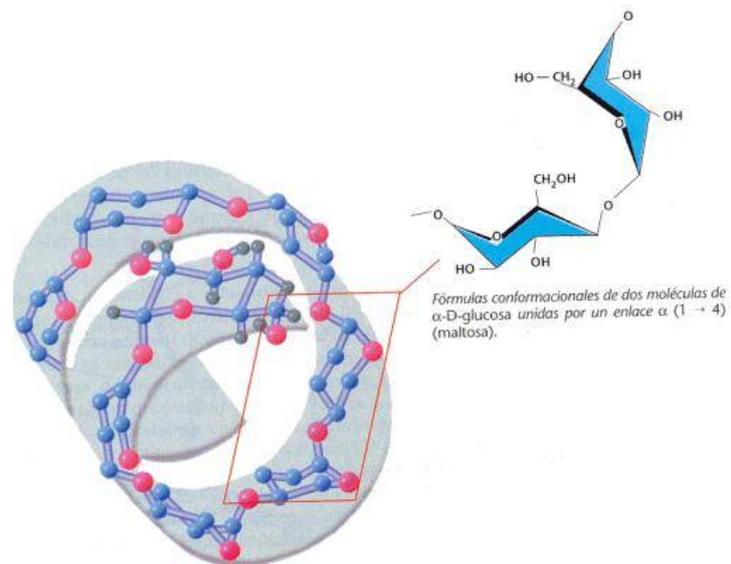
Es un polímero lineal formado por cadenas de glucosas unidas por enlaces α -1,4 que constituyen entre el 20-30 % del gránulo de almidón en los órganos de almacenamiento. Pueden estar presentes algunos enlaces α -1,6. Forman cadenas largas con 200-2500 unidades y con peso molecular en el orden de 10^5 - 10^6 . Esta molécula no es soluble en agua, pero puede formar micelas hidratadas por su capacidad para enlazar moléculas vecinas por enlaces puentes de hidrógeno y generar una estructura helicoidal, que es capaz de desarrollar un color azul por la formación de un complejo con el yodo (Knutzon & Grove, 1994).

Cada vuelta de hélice consta de seis moléculas de glucosa, y el interior de la hélice contiene solo átomos de hidrógeno y, por lo

tanto es lipofílico, mientras que los grupos hidroxilo están situados en el exterior de la hélice.

Los almidones con menos contenido de amilosa son más susceptibles a la degradación, mientras que los almidones de camote y papa con alto contenido de amilosa son más resistentes (Gallant, Bouchet & Baldwin, 2007).

Figura N° 1.1: Molécula de amilosa mostrando su linealidad y configuración helicoidal



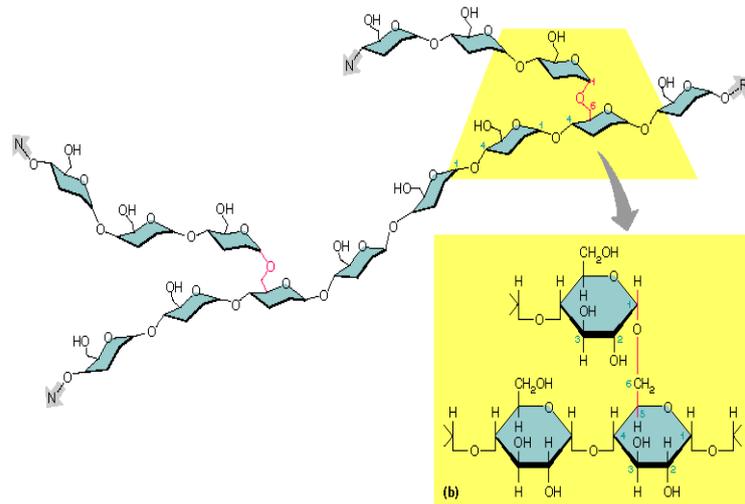
Fuente: León J., Leszek M., 2006.

B) AMILOPECTINA

La amilopectina es un polisacárido semicristalino, altamente ramificado, con un esqueleto de enlaces α -1,4 y de 4-5 % de puntos de ramificación α -1,6, localizados cada 15-25 unidades lineales de glucosa.

La amilopectina es una molécula de mayor tamaño que la amilosa, su peso molecular se encuentra entre 10^7 - 10^9 . El peso molecular y el grado de ramificación de la amilopectina varía ampliamente; esta variedad estructural contribuye a las diferencias en las propiedades químicas y físicas del almidón proveniente de diferentes fuentes. El análisis estructural de los gránulos muestra que las cadenas laterales de la amilopectina forman dobles hélices y están arregladas de tal manera que se forman paquetes que contienen entre 9 y 17 cadenas laterales en intervalos regulares de aproximadamente 9-10 nm de largo sobre el eje de la molécula y, dan lugar a las lamelas cristalinas, que se encuentran alternadas con lamelas amorfas formadas por las regiones donde se localizan puntos de ramificación y por los espacios entre los agregados de dobles hélices. El modelo de “empaquetamiento” considera que la amilopectina se constituye de diferentes tipos de cadenas y esto se apoya por las observaciones de tres diferentes clases de cadenas A, B y C, que varían en longitud y que se asocian para formar paquetes (Guan H. & Keeling P., 2008).

Figura N° 1.2: Molécula de amilopectina mostrando sus enlaces α -1,6



Fuente: León J., Leszek M., 2006.

1.2.3. DIFERENCIAS DEL ALMIDÓN SEGÚN SU ORIGEN

Las fuentes convencionales más importantes para la extracción de almidón son los granos de cereales como maíz, trigo, arroz y sorgo. La tendencia actual es buscar fuentes no convencionales como alternativas para obtener almidones que amplíen la gama de usos en la industria. Entre las materias primas que pueden ser utilizadas como nuevas fuentes de extracción de este polímero se encuentran los tubérculos. Los cultivos más importantes de raíces y tubérculo a nivel mundial son yuca (*Manihot esculenta*), camote (*Ipomoea batatas*), papa (*Solanum tuberosum*), sachapapa (*Dioscorea spp.*), bituca (*Colocasia esculenta*) y uncucha (*Xanthosoma spp.*). En conjunto estos cultivos ocupan cerca de 50 millones de hectáreas en el mundo (Ciat, 1997).

Además según estudios realizados, el proceso industrial de obtención de almidón a partir de tubérculos resulta más económico que aquel obtenido a partir de fuentes convencionales como el maíz o trigo, debido a las menores fuerzas mecánicas que se aplican durante el proceso de extracción y procesamiento de almidón.

Los almidones nativos de las diferentes especies vegetales tienen como característica fundamental que sus propiedades fisicoquímicas y funcionales están influenciadas por sus estructuras granular y molecular. Las propiedades más importantes a considerar para determinar la utilización del almidón en la elaboración de alimentos y otras aplicaciones industriales incluyen las fisicoquímicas: gelatinización y retrogradación; y las funcionales: solubilidad, hinchamiento, absorción de agua, sinéresis y comportamiento reológico de sus pastas y geles (Wang y White; 1994).

Respecto a los almidones de yuca, camote y papa, las propiedades de los almidones de estas especies difieren considerablemente, no solo en las proporciones relativas de amilosa y amilopectina, sino también en las características de estas moléculas, en las cantidades de componentes no amiláceas de los gránulos de almidón, tales como lípidos, proteínas y grupos fosfato.

La amilopectina en la papa es la única que posee en su molécula grupos éster fosfato, unidos más frecuentemente en una posición O-6, mientras que el tercio restante lo hace en la posición O-3.

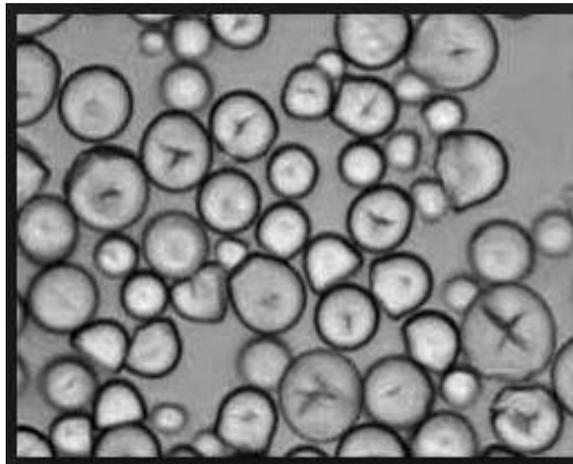
Tabla N° 1.4: Composición química de los almidones de yuca, camote y papa

ALMIDONES COMPONENTES	YUCA (%)	CAMOTE (%)	PAPA (%)
Humedad	9.48	9.83	19.00
Proteína cruda	0.06	0.22	0.06
Grasa cruda	0.20	0.31	0.05
Fibra cruda	1.01	0.28	NR
Cenizas	0.29	0.26	0.40
ELN (extracto libre nitrógeno)	98.44	98.93	99.49
Amilosa	17.00	19.6	21.00
Amilopectina	83.00	80.4	79.00

Fuente: Betancur, 2001.

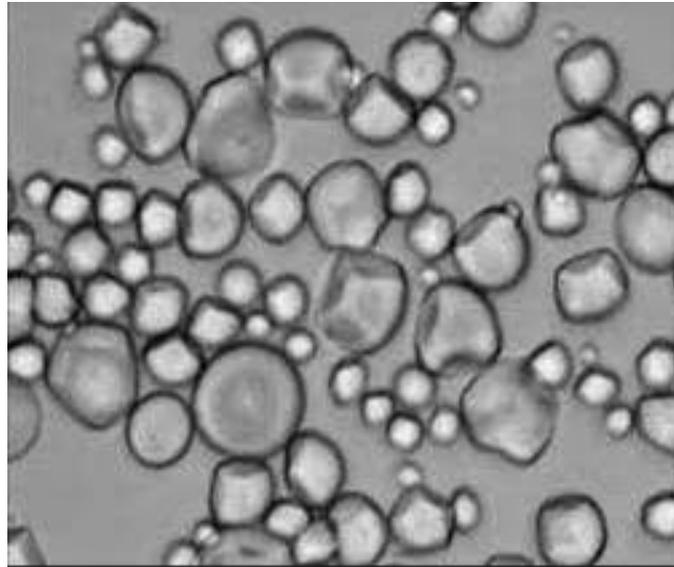
En cuanto a la apariencia microscópica de los gránulos de almidón de yuca, camote y papa, se ha estudiado que los almidones de camote y papa tienen forma oval a esférica, mientras que los almidones de yuca tienen forma esférica truncada. En el tamaño de los almidones de yuca, camote y papa, presentan un tamaño promedio de 16.50 μm , 12.41 μm , 33 μm , respectivamente (Moorthy, 2002).

Figura N° 1.3: Microfotografías de los gránulos de almidón de yuca



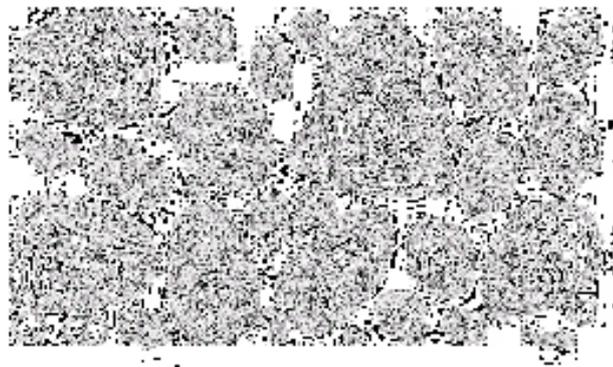
Fuente: Hernández Medina et al., 2008.

Figura N° 1.4: Microfotografías de los gránulos de almidón de camote



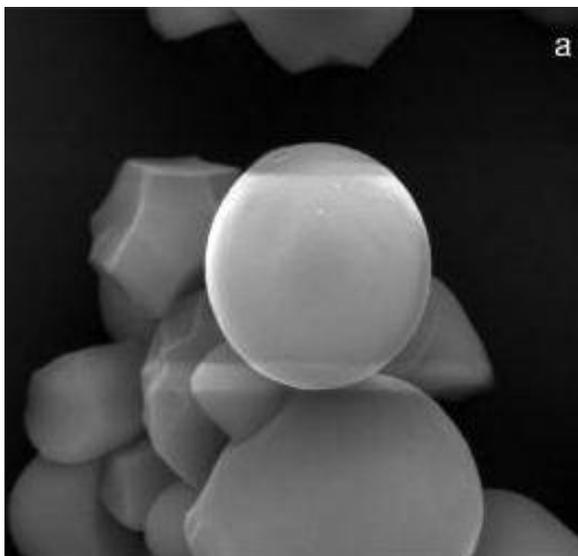
Fuente: Hernández Medina et al., 2008.

Figura N° 1.5: Microfotografías de los gránulos de almidón de papa



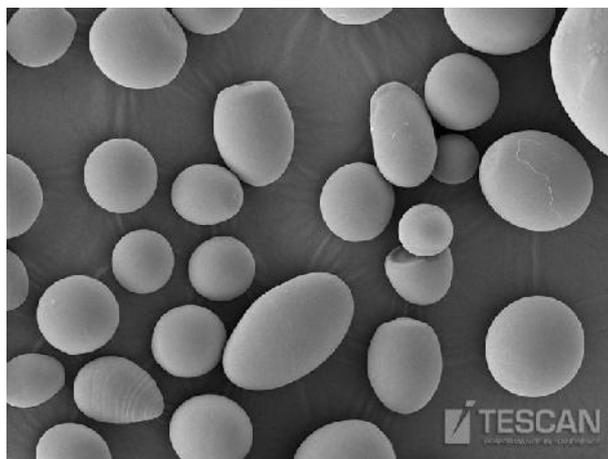
Fuente: Biblioteca digital de la Universidad de Chile.

Figura N° 1.6: Microfotografías con microscopio electrónico de barrido de gránulos de almidón de yuca



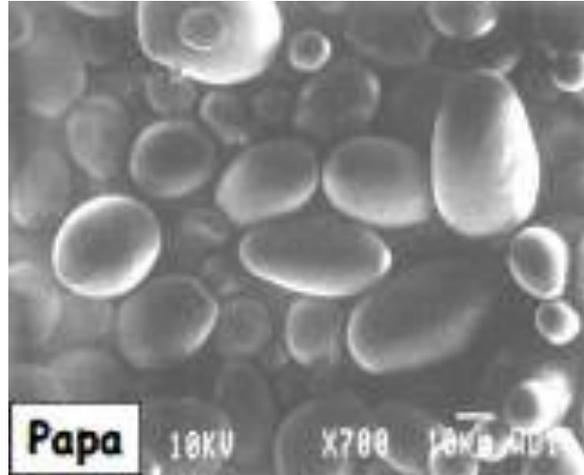
Fuente: Sívoli, Pérez & Rodríguez, 2012.

Figura N° 1.7: Microfotografías con microscopio electrónico de barrido de gránulos de almidón de camote



Fuente: tescan.com

Figura N° 1.8: Microfotografías con microscopio electrónico de barrido de gránulos de almidón de papa



Fuente: Luis A. Brumovsky, 2014.

La presencia de lípidos afecta las propiedades funcionales del almidón (capacidad de humectación, solubilidad y claridad), al evitar su unión con las moléculas de agua y causar rancidez durante el almacenamiento. Los almidones provenientes de cereales presentan un mayor contenido de estos compuestos lipídicos, los cuales confieren ciertas propiedades.

A continuación se muestra un resumen de algunas características fisicoquímicas de los almidones de yuca, camote y papa, en las cuales se demuestran los diferentes comportamientos de los gránulos de almidón en los diferentes procesamientos industriales.

Tabla N° 1.5: Características fisicoquímicas de los almidones de yuca, camote y papa

TIPO DE ALMIDON	PODER DE HUMECTACIÓN (%)	SOLUBILIDAD A 95°C (%)	GELATINIZACIÓN (°C)	ENTALPÍA DE GELATINIZACIÓN (J/g)
YUCA	48	48	52-64	10.00
CAMOTE	100	82	56-69	4.60
PAPA	85	85	58-70	10-18

Fuente: Tester et al., 2004 & Hernández Medina et al., 2008.

1.2.4. ENZIMAS AMILASAS

A) ALFA AMILASA

La alfa amilasa (Alfa 1,4-D-glucano glucanohidrolasa), hidroliza los enlaces glucosídicos α -1,4 de los polisacáridos que poseen 3 o más unidades D-glucosa en unión α -1,4. El ataque se hace en forma no selectiva (tipo endoenzima) sobre varios puntos de la cadena simultáneamente, aunque los primeros productos de las hidrólisis son siempre oligosacáridos de 5-7 unidades de glucosa, o un número múltiplo. La alfa amilasa no actúa como catalizador en la hidrólisis de los enlaces α -1,6 glucosídicos, tampoco en los segmentos del polímero que forman dobles hélices. Las condiciones de pH y temperatura que esta enzima tiene su mayor actividad, así como la composición

específica y el peso molecular, tienen ciertas variaciones que dependen de la fuente de donde se haya extraído dicha enzima. La estabilidad y la actividad que los iones de calcio le generan a la alfa amilasa, es un fenómeno estudiado ampliamente. Estos iones pueden provenir de sales como acetato de calcio, sulfato de calcio y cloruro de calcio, siendo esta última sal, la más comúnmente usada. La estabilidad como la actividad de la enzima, se afecta rápidamente cuando el pH es igual o menor a 3.0 y, sufre una desactivación irreversible por tratamientos a pH menor o igual a 2.5.

Los máximos niveles de actividad de esta enzima se realizan a un pH entre 4.5 a 6.9 (Sánchez, 2002).

B) AMILOGLUCOSIDASA

La amiloglucosidasa (Alfa 1,4-D-glucano glucohidrolasa) es una exo hidrolasa también conocida como glucoamilasa, que hidroliza los enlaces glucosídicos α -1,4 y α -1,6 de la amilosa y la amilopectina, separando unidades de glucosa a partir del extremo no reductor de la cadena. Debido al bajo grado de especificidad de esta enzima, puede ser usada para catalizar la hidrólisis de los enlaces α -1,4 y α -1,6 glucosídicos. La velocidad de hidrólisis del almidón catalizado por esta enzima, se incrementa en proporción directa con el peso molecular del sustrato. Las fuentes más comunes para extraer esta enzima son

de órganos de animales, bacterias y de origen fúngico. La enzima presenta rangos de trabajo de pH que pueden variar entre 2.94 y 6.98, y a temperaturas que varían entre 15 y 70 °C. Esta enzima requiere de la acción anticipada de la alfa amilasa, para poder catalizar con mayor eficiencia la hidrólisis de los enlaces α -1,4 y α -1,6 glucosídicos y así producir jarabes de D-glucosa a gran escala. La actividad de esta enzima se ve inhibida por la presencia de eritritol, turanosa y tris hidroximetil metilamina, en la mezcla.

Cuando se hidroliza el almidón con glucoamilasa como catalizador, los polímeros que contienen enlaces α -1,4 glucosídicos, se hidrolizan más rápidamente que los polímeros que contienen enlaces α -1,6 glucosídicos (Sánchez, 2002).

C) CÓCTEL DE ALFA AMILASA Y GLUCOAMILASA

Es una mezcla de alfa amilasas de *Aspergillus kawachi* expresadas en *Trichoderma reesei*, y glucoamilasas de *Aspergillus niger*. Un ejemplo de este cóctel es la enzima comercial STARGENTM 001 que permite hidrolizar el almidón sin la necesidad de gelatinizado ya que las actividades máximas de estas dos enzimas se encuentran por debajo de las temperaturas de gelatinización del almidón, lo que reduce una etapa en el proceso productivo; además la enzima mantiene una actividad alta a las condiciones de pH y temperatura requeridas

para favorecer a la levadura en el proceso fermentativo, produciendo glucosa continuamente durante todo el proceso de hidrólisis y no requiere activadores como sales de calcio o sodio para mantener su carga, su estructura y aumentar su actividad. Con este método se puede lograr una alta conversión a glucosa en el rango de 90 a 95 % (Uthomporn et al., 2010).

1.2.5. HIDRÓLISIS DEL ALMIDÓN

Se conoce como hidrólisis del almidón a la transformación del mismo en compuestos más livianos como los azúcares.

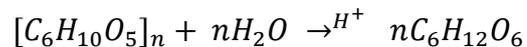
Industrialmente la hidrólisis se realiza por métodos enzimáticos o con soluciones de ácidos, tales como ácido clorhídrico o sulfúrico; y se aplica calor para facilitar el rompimiento de los enlaces glucosídicos.

Un factor que afecta el grado de hidrólisis de los diferentes tipos de almidones es el tamaño promedio de los gránulos de almidón. Se ha comprobado que los gránulos de menor tamaño se hidratan con mayor rapidez que los gránulos de mayor tamaño, ya que estos presentan una mayor superficie de contacto relativa. Otros factores que influyen en el grado de hidrólisis son la cantidad de lípidos y su interacción con las moléculas de amilosa, extensión e interacción de las cadenas de almidón, así como el contenido de fósforo. Se ha observado también una

fuerte resistencia a la hidrólisis por parte del complejo amilosa-lípidos.

A) **HIDRÓLISIS ÁCIDA DEL ALMIDÓN**

En 1811 Kirchoff fue el primero en obtener un subtitulo del azúcar a través de la hidrólisis ácida del almidón. Desde entonces este proceso ha sido modificado y mejorado para producir jarabes, glucosa cristalizada y otros productos de gran valor comercial. La química de este proceso se representa por la siguiente reacción:



Almidón

Glucosa

El almidón sometido a hidrólisis ácida, ya sea con ácido clorhídrico (comúnmente utilizado) o ácido sulfúrico, sufre una serie de modificaciones, en donde las regiones amorfas asociadas con moléculas de amilopectina, son más susceptibles a la degradación que las regiones cristalinas.

Los enlaces α -D-1,4, tanto de la amilosa como de la amilopectina, son menos estables al ataque del ácido que los enlaces α -D-1,6. El rompimiento de los enlaces no ocurre al azar, ya que al realizar la hidrólisis ácida, el primer producto en aparecer es la D-glucosa, seguida de disacáridos y trisacáridos. Esto se debe a que los enlaces terminales de las moléculas son

rápidamente hidrolizados, y por tanto aparece inicialmente la glucosa. El porcentaje de degradación depende de la concentración del ácido, de la temperatura y del tiempo de hidrólisis. Los ácidos más utilizados para la producción de dextrinas son el ácido clorhídrico, el ácido nítrico y el ácido sulfúrico.

La hidrólisis ácida del almidón a glucosa, es una técnica que tiene muchas desventajas, tales como: formación de productos no deseables, flexibilidad muy pobre (el producto final sólo se puede modificar cambiando el grado de hidrólisis), por último es necesario que el equipo resista al ácido, y a las temperaturas requeridas durante este proceso.

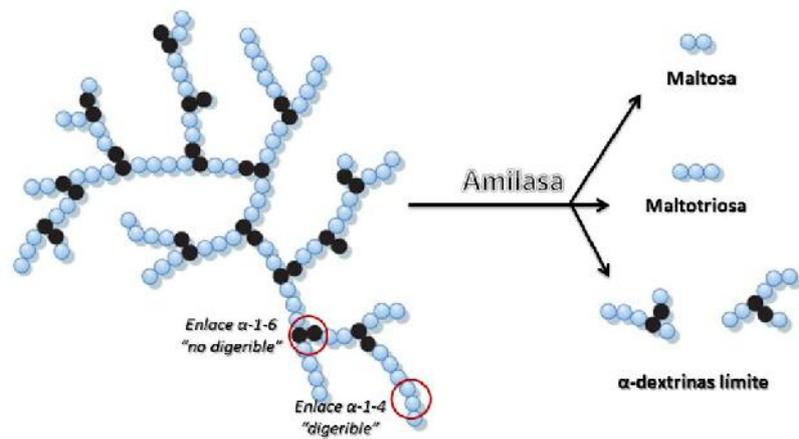
Dentro de los productos de degradación, además de la glucosa; se tiene hidroximetilfurfural, ácido levulónico y ácido fórmico, que le da al jarabe un sabor amargo.

B) HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL ALMIDÓN

Los productos obtenidos de cultivos de hongos o bacterias, bajo un ambiente de almidón denominados enzimas amilasas, catalizan la ruptura de enlaces α -1,4 y α -1,6. Los pasos o etapas para la hidrólisis del almidón son: gelatinización, licuefacción y sacarificación. Para las dos últimas etapas es necesario usar una enzima específica que se encarga de las rupturas parciales y totales de los enlaces involucrados en la cadena de almidón.

La hidrólisis enzimática en los últimos 30 años ha desplazado a la hidrólisis ácida, debido a que se dispone de nuevas enzimas. Hoy en día la mayor parte de la hidrólisis del almidón se realiza utilizando enzimas.

Figura N° 1.9: Representación esquemática de la hidrólisis enzimática del almidón



Fuente: Badui, 2001.

Las enzimas difieren de los catalizadores químicos habituales en varios aspectos importantes (Voet D. & Voet J., 2006):

- ❖ **Mayores velocidades de reacción:** en general la velocidad aumenta 10^6 - 10^{12} veces con respecto a las mismas reacciones no catalizadas por ellas y, al menos varios órdenes de magnitud superiores a las de las reacciones correspondientes catalizadas por medios químicos.

- ❖ **Condiciones moderadas de reacción:** temperaturas inferiores a 100°C, presión atmosférica y pH casi neutro.
- ❖ **Mayor especificidad de reacción:** las enzimas tienen un grado de especificidad mucho más vasto, respecto a las identidades tanto de sus sustratos como de sus productos, en comparación con los catalizadores químicos, o sea las reacciones enzimáticas rara vez tienen productos secundarios.

1.2.6. PROCESO DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL ALMIDÓN

A) GELATINIZACIÓN

Para una eficiente hidrólisis enzimática del almidón por amilasas, conviene que el almidón esté gelatinizado; por esta razón se realiza un cocimiento del almidón antes de la adición de dichas enzimas.

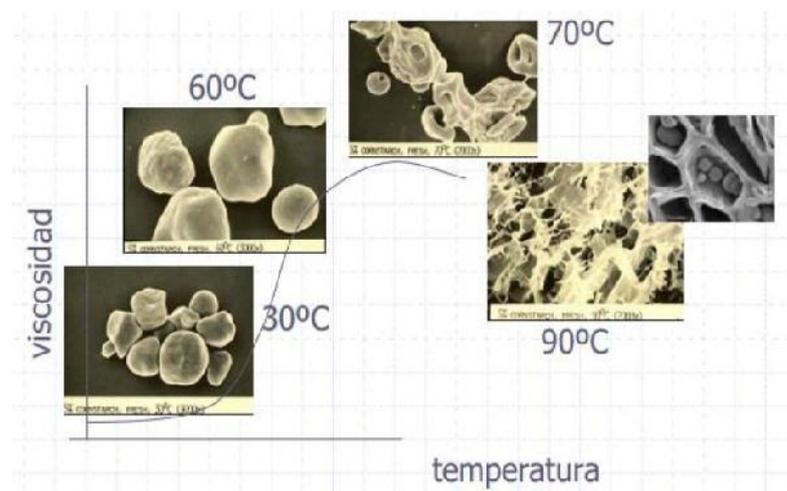
La gelatinización del almidón es el colapso (ruptura) del orden molecular, manifestado por cambios irreversibles del gránulo de almidón en las propiedades tales como la fusión de las zonas cristalinas del gránulo, pérdida de birrefringencia (se pierde el alto grado de orden molecular dentro del gránulo) y solubilización de las moléculas que conforman el almidón.

Estos cambios se observan luego de que el gránulo de almidón, al entrar en contacto con el agua fría, se hidrata; y al aplicarle calor, el gránulo empieza a hincharse, hasta que en cierta temperatura la estructura del gránulo se altera, perdiendo birrefringencia. La amilosa difunde hacia el agua y la amilopectina queda dentro del gránulo, hasta que se pierde su estructura. Las moléculas de amilosa en el almidón contribuyen a la viscosidad.

De acuerdo a Biliaderis (1991), son tres procesos que constituyen el fenómeno de la gelatinización; estos son eventos fuera del equilibrio que a su vez resultan en el fenómeno metaestable de gelatinización y son: difusión del agua dentro de los gránulos de almidón, fusión de la estructura del gránulo de almidón, caracterizado por una transición hélice-enrollamiento al azar que es facilitada por la hidratación, y por último el hinchamiento del gránulo como resultado de la desintegración de las zonas cristalinas. Si se observa a partir de la temperatura, tenemos las tres siguientes etapas: la temperatura de iniciación (primera observación de la pérdida de birrefringencia), la temperatura media, la temperatura final de la pérdida de birrefringencia, lo cual está directamente relacionado con el intervalo de temperatura y se lleva a cabo el fenómeno de gelatinización.

El grado de gelatinización es un parámetro importante que se ve afectado por la temperatura, la presión, la concentración de almidón y el tiempo de tratamiento. La viscosidad suele ser menor después del tratamiento con calor, debido a que los gránulos de almidón se mantienen intactos en su mayoría, y la amilosa solubiliza pobremente.

Figura N° 1.10: Cinética de la verificación de la gelatinización del almidón



Fuente: Jiamping, Jiugao, Wei, 1997.

B) LICUEFACCIÓN

El almidón previamente gelatinizado se somete al proceso de licuefacción con la enzima alfa amilasa.

Para obtener un hidrolizado con DE entre 20 y 30, es necesario determinar tanto las condiciones de trabajo de la enzima alfa amilasa, así como los valores de las variables independientes

(temperatura, pH, concentración de enzima y tiempo de reacción entre enzima y sustrato).

La alfa amilasa se desactiva bajando el pH hasta 2.5 con HCl (5N), durante 1 minuto; y luego se sube hasta pH 4.5 con NaOH (5N).

Cuando se hace el ensayo de tinción con solución de yodo metálico y yoduro de potasio (reactivo lugol), la aparición de un color azul intenso demuestra la presencia de cadenas de amilosa con una longitud superior a 40 unidades de glucosa, y si se desarrolla una coloración rojiza se debe a que la cadena tiene menos de 40 residuos (Tester y Karkalas, 2001).

C) SACARIFICACIÓN

El hidrolizado de almidón es sacarificado con la enzima glucoamilasa. En esta etapa la enzima glucoamilasa hidroliza las dextrinas formadas en la etapa de licuefacción. Para tal fin, a la mezcla obtenida de la etapa de licuefacción, se le adiciona la enzima glucoamilasa en una proporción de 0.22 % (v/m), en función del contenido de almidón en base seca. La mezcla se mantiene en el proceso de sacarificación durante un período de 24 a 36 horas, hasta alcanzar un nivel de azúcares reductores de 95 DE o mayor a este. Los materiales insolubles tales como proteína, fibra o grasa pueden ser removidos en esta etapa por centrifugación o filtración.

Figura N° 1.11: Esquema de las etapas de la hidrólisis enzimática del almidón para la obtención de un licor glucosado



Fuente: Mairan Guigou, 2011.

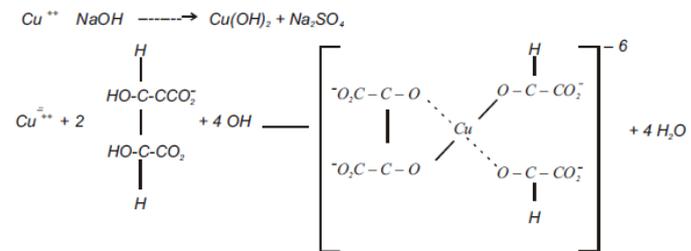
1.2.7. ANÁLISIS DE AZÚCARES REDUCTORES

Para el análisis de azúcares reductores, existen varios métodos, de los cuales los más empleados son:

A) DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES POR EL REACTIVO FEHLING

El licor Fehling es un complejo tartárico cúprico formado por una solución A de sulfato de cobre y una solución B de hidróxido sódico-potásico. El tartrato en solución alcalina reacciona con el hidróxido cúprico, formando un ión complejo y, da un óxido cuproso de color rojo que indica la presencia de un azúcar reductor. Los azúcares reductores reducen el ión cúprico a cuproso formando precipitado de óxido cuproso rojo. Se emplean para reconocer monosacáridos y disacáridos. Si hay hidratos de carbono en exceso el óxido cuproso puede ser reducido a cobre metálico.

Reacción N° 1.1: Determinación de azúcares reductores por reactivo de Fehling



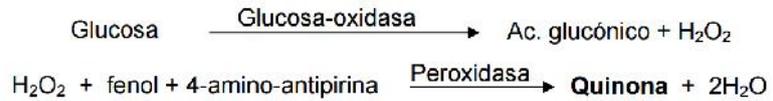
Fuente: Reyna M. et al, 2004.

Este método utiliza azul de metileno como indicador, el cual es decolorado una vez que todo el cobre ha sido reducido, lo que indica el fin de la titulación.

B) DETERMINACIÓN DE GLUCOSA POR MÉTODO DE GLUCOSA-OXIDASA

Es el método colorimétrico, en donde la glucosa oxidasa oxida a la glucosa originando ácido glucónico y H_2O_2 . El peróxido de hidrógeno liberado reacciona con un cromógeno (fenol + 4-aminoantipirina) por la reacción de Trinder, para dar una quinona que absorbe entre 492 y 550 nm. La intensidad de color rojo producida es directamente proporcional a la concentración de glucosa.

Reacción N° 1.2: Determinación de glucosa por Glucosa-Oxidasa



Fuente: Ruíz C. Mónica, 2009.

Para el procedimiento se prepara una solución estándar. La solución estándar y la muestra se incuban por 10 minutos, a 37 °C, y se mide la absorbancia a 500 nm.

1.2.8. EQUIVALENTE DE DEXTROSA (DE)

La cuantificación de los productos de la hidrólisis del almidón se lleva a cabo midiendo el poder reductor de los hidrolizados utilizando el parámetro denominado Equivalente de Dextrosa (DE). Este parámetro representa el contenido de azúcares reductores existentes en el hidrolizado, calculados como D-Glucosa y expresados en base al porcentaje de la sustancia seca o grados Brix.

El término DE indica el grado de conversión del almidón a glucosa y se refiere al porcentaje de azúcares reductores con respecto a los sólidos totales presentes en el hidrolizado.

Reacción N° 1.3: Ecuación del Equivalente de Dextrosa

$$DE = \frac{\% \text{Azúcar reductor}}{\% \text{Sólidos}} \times 100$$

Fuente: Ruíz C. Mónica, 2009.

Comercialmente los productos de la hidrólisis del almidón son clasificados de acuerdo al equivalente de dextrosa (DE). Las hidrólisis con DE inferior a 20 son clasificados como dextrinas. Aquellos hidrolizados con un contenido de DE igual o superior a 20 son designados como jarabes de glucosa y están agrupados como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla N° 1.6: Clasificación de los jarabes de glucosa según su Equivalente de Dextrosa

TIPO DE JARABE	DE
I	20-38
II	38-58
III	58-73
IV	>73

Fuente: Whistler et al., 1984.

Los jarabes del tipo I, consisten principalmente de segmentos de peso molecular alto y dextrinas lineales.

Los jarabes del tipo II, contienen 50-75% de sacáridos de bajo peso molecular, incluyendo D-Glucosa, maltosa y maltotriosa.

Los jarabes del tipo III son denominados algunas veces como jarabes de glucosas altamente fermentables o de alta conversión, contienen entre 75-85% de D-Glucosa, maltosa y maltotriosa.

Los jarabes del tipo IV consisten principalmente de D-Glucosa.

1.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

- ❖ **Almidón nativo:** Es el almidón propiamente dicho, extraído de la fuente sin modificarlo. Los almidones nativos se utilizan porque regulan y estabilizan la textura de los alimentos por sus propiedades espesantes y gelificantes.
- ❖ **Almidón modificado:** Los almidones naturales pueden modificarse químicamente para producir cambios físicos que contribuyen a la estabilidad, apariencia, comodidad y funcionamiento en la preparación de los alimentos.
- ❖ **Azúcares Reductores:** Son aquellos azúcares que poseen su grupo carbonilo (grupo funcional) intacto y, que a través del mismo pueden reaccionar como reductores con otras moléculas.

Todos los monosacáridos son azúcares reductores, ya que al menos tienen un –OH hemiacetálico libre, por lo que dan positivo a la reacción con reactivo de Fehling, con reactivo de Tollens, a la reacción de Maillard y reacción de Benedict.

- ❖ **Birrefringencia:** Indica la capacidad que tienen los gránulos de almidón para refractar la luz en dos direcciones, es decir, tienen dos índices de refracción, por lo que cuando se irradian con luz polarizada desarrollan la típica “cruz de malta” presentando en su centro un hilo, el cual indica un alto grado de orden molecular dentro del gránulo, sin hacer referencia a ninguna forma cristalina.
- ❖ **Equivalente de dextrosa (DE):** Es una medida de la cantidad de azúcares reductores presentes en un producto de azúcar, con respecto a la dextrosa (también conocido como glucosa), expresado como porcentaje en una base seca.
- ❖ **Dextrinas:** Son un grupo de oligosacáridos de poco peso molecular producidas por la hidrólisis del almidón. Tienen la misma fórmula general que los polisacáridos, pero son de una longitud de cadena más corta. Son solubles en agua, son sólidos que van desde un color blanco hasta levemente amarillo, ópticamente activos. Analíticamente, las dextrinas se pueden detectar con la solución de yodo, dando una coloración roja.
- ❖ **Dextrosa:** Es simplemente una forma de glucosa.
- ❖ **Endoenzima:** Enzima que destruye los enlaces de las sustancias poliméricas en el interior de las moléculas, tales como las α -amilasas y las nucleasas de restricción.
- ❖ **Enzima:** Es una proteína que cataliza las reacciones bioquímicas del metabolismo. Las enzimas actúan sobre las moléculas conocidas como sustratos y permiten el desarrollo de los diversos procesos celulares.

Suelen ser utilizadas a nivel comercial e industrial para la producción de alimentos, el desarrollo de biocombustibles y la elaboración de productos de limpieza (detergentes).

- ❖ **Fructosa:** Es un monosacárido con la misma fórmula empírica que la glucosa pero con diferente estructura, es decir, es un isómero de esta. Todas las frutas naturales tienen cierta cantidad de fructosa (a menudo con glucosa), que puede ser extraída y concentrada para hacer un azúcar alternativo. Junto con la glucosa forman un disacárido llamado sacarosa o azúcar común.
- ❖ **Grados Brix:** Se utiliza en el sector de alimentos para medir la cantidad aproximada de azúcares en zumos de fruta, vino o bebidas suaves y, en la industria azucarera.
- ❖ **Hidrólisis:** Reacción química lenta cuyo resultado es la descomposición de una molécula por acción del agua.
- ❖ **Hidrólisis enzimática:** Es un proceso que es llevado a cabo por enzimas, tiene por objeto la transformación de las materias primas en azúcares. Ellas pueden encontrarse en la saliva, los jugos pancreáticos, las células de la sangre, las semillas, los granos de muchas plantas, en hongos y bacterias.
- ❖ **HMF:** Hidroximetilfurfural o 5-(hidroximetil)furfural, es un aldehído y un furano formado durante la descomposición térmica de los glúcidos. Se ha identificado en una variedad de alimentos procesados incluyendo leche, jugos de frutas, bebidas alcohólicas, miel, etc.

- ❖ **Lipofílico:** Es el comportamiento de toda molécula que tiene afinidad por los lípidos. En una disolución o coloide, las partículas lipofílicas tienden a acercarse y mantener contacto con los lípidos.
- ❖ **Lugol:** Es una disolución de yodo molecular (I_2) y yoduro potásico (KI), en agua destilada. Se emplea frecuentemente como desinfectante y antiséptico para la desinfección de agua en emergencias y como un reactivo para la prueba del yodo en análisis médicos y de laboratorio.
- ❖ **Maltosa:** Disacárido que contiene un enlace glucosídicos 1,4' entre dos unidades de glucosa.
- ❖ **Monosacáridos:** Son hidratos de carbono, vulgarmente denominados azúcares. Representan con precisión las unidades más simples, a partir de la concatenación de los hidratos de carbono que se forman gradualmente en moléculas más complejas, como por ejemplo los más característicos son la glucosa, fructosa y galactosa.
- ❖ **Polisacáridos:** Son biomoléculas formadas por la unión de una gran cantidad de monosacáridos. Se encuentran entre los glúcidos y, cumplen funciones diversas, sobre todo de reservas energéticas y estructurales. Estos compuestos llegan a tener un peso molecular muy elevado, que depende del número de residuos o unidades de monosacáridos que participen en su estructura.
- ❖ **Retrogradación:** El enfriamiento del almidón posterior a la gelatinización ha sido denominado retrogradación. Es un proceso que implica insolubilización y precipitación espontánea de las moléculas de amilosa principalmente, ello debido a que sus cadenas lineales se

orientan paralelamente e interaccionan entre sí a través de sus múltiples grupos hidroxilos, por medio de enlaces puente de hidrógeno. La retrogradación se manifiesta por medio de la formación de precipitados o geles que afectan la textura, aceptabilidad y digestibilidad de los alimentos que contienen almidón.

- ❖ **Reactivo de Fehling:** El licor de Fehling se fundamenta en el poder reductor del grupo carbonilo de un aldehído, este se oxida a un ácido carboxílico y reduce la sal de cobre (II) en medio alcalino a óxido de cobre (I), que forma un precipitado de color rojo. Si un azúcar reduce el licor de Fehling a óxido de cobre (I) rojo, se dice que es un azúcar reductor.
- ❖ **Sinéresis:** Separación de las fases que componen una suspensión o mezcla.
- ❖ **Solubilidad:** Es una medida de la capacidad de disolverse de una determinada sustancia (solute) en un determinado medio (disolvente). Implícitamente se corresponde con la máxima cantidad de soluto que se puede disolver en una cantidad determinada de disolvente, a determinadas condiciones de temperatura, e incluso presión (en caso de un soluto gaseoso).
- ❖ **Tubérculo:** Es un tallo subterráneo modificado y engrosado donde se acumulan los nutrientes de reserva para la planta. Posee una yema central de forma plana y circular. No posee escamas ni cualquier otra capa de protección, tampoco emite hijuelos.

CAPÍTULO II

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. POBLACIÓN Y MUESTRA

La población estuvo constituida por los siguientes tubérculos: yuca, camote y papa, que se expenden en el mercado mayorista de la ciudad Chiclayo, los que provienen de distintos lugares del Departamento de Lambayeque.

Como muestras se han utilizado 5 Kg de cada uno de los tubérculos. Las especies que se han empleado son: para la yuca se ha empleado la variedad de “Nueva Arica” (queda ubicado a 77 Km aproximadamente desde el distrito de Chiclayo, un promedio de 1 hora con 18 minutos), para el camote se ha empleado la variedad morada y, para la papa se ha empleado la variedad Canchan. Se seleccionaron las materias primas, de tal manera que se procesaron solo aquellas muestras libres de daño microbiológico y físico.

2.2. EQUIPOS Y MATERIALES DE LABORATORIO

- ❖ Balanza: Con capacidad de 0 a 5 Kg. Precisión 0.1 g.
- ❖ Balanza: Con capacidad de 0 a 250 g. Precisión 0.001 g.
- ❖ Agitador orbital: Con agitación de trabajo desde 10 hasta 500 rpm.
Con control digital de temperatura hasta 150 °C. Con inicio y paro de agitación lenta. Para matraces con capacidad de 50 a 250ml.
- ❖ Cocina eléctrica: Material de acero inoxidable.
- ❖ Matraces: Capacidad de 250 y 500 ml.

- ❖ Vaso de precipitado: Capacidad de 500 ml.
- ❖ Termómetro: Capacidad de 1 a 150 °C.
- ❖ Varilla de agitación: Longitud 25 cm.
- ❖ Equipo medidor de pH: pH-metro.
- ❖ Equipo de filtración al vacío: Bomba de vacío, matraz Kitasato, papel filtro, manguera.
- ❖ Equipo para titulación de azúcares reductores: Buretas de 50 ml con soporte universal, Erlenmeyer de 250 ml, cocina eléctrica.
- ❖ Reactivos: Solución A y B de Fehling, ácido cítrico, cloruro de calcio, solución de yodo y azul de metileno.
- ❖ Alfa amilasa: Se empleó Amylyve A30, una alfa amilasa de origen bacteriano (*Bacillus subtilis*) del fabricante francés Iyven®. Funciona a menos de 75°C y se recomienda 1-2 Kg por tonelada de cebada.

Considerando un porcentaje de 65% de almidón en cebada, la dosis que se utilizó fue 3 gramos por kilogramo de almidón.
- ❖ Glucoamilasa: Se empleó Amylyve AG400L, una glucoamilasa de origen fúngico (*Aspergillus niger*) del fabricante Iyven®, con la capacidad de hidrolizar dextrinas en glucosa.

Según fabricante se recomienda 0.5 a 2 Kg por tonelada de hidrolizado con alfa amilasa, es decir 2 gramos por kilogramo de hidrolizado (Iyven.com/PDF/Lyven_Brewing.pdf).
- ❖ Tela filtrante: tela cedazo.

2.3. PROCEDIMIENTO

2.3.1. EXTRACCIÓN DE ALMIDÓN

La extracción del almidón se realizó de la siguiente manera:

- ❖ 5 Kg de cada tubérculo (yuca, camote y papa), se lavaron y pelaron.
- ❖ Los tubérculos fueron troceados con un cuchillo, en cubos de máximo 2 cm, y se dejaron remojar durante 30 minutos en una solución de bisulfito de sodio, con una concentración de 1500 ppm, en una relación 1:3 (p/v).
- ❖ La mezcla de los cubos con agua fue sometida a un licuado durante 5 minutos a máxima velocidad.
- ❖ Al licuado obtenido se le adicionó agua sulfitada (1500 ppm de bisulfito de sodio) en la proporción 1:1 (v/v).
- ❖ La lechada obtenida se filtró con una tela cedazo para eliminar la fibra.
- ❖ El filtrado se dejó sedimentar bajo refrigeración (4 a 5 °C) por 4 horas, y se realizó un sifonado del sobrenadante, quedando la mancha sobre la superficie.
- ❖ Se realizó un lavado del almidón por tres veces con agua potable de bidón. La proporción de agua fue de 2:1. Se controló que el decantado sea translúcido.
- ❖ El almidón obtenido se sometió a secado.

Posteriormente la fracción que contiene el almidón fue secada a 40 °C por 24 hr en una estufa hasta lograr una humedad de aproximadamente 10 % en peso.

Finalmente se guardó en frascos de vidrio color ámbar y tapa hermética, y almacenados a temperatura ambiente para su posterior uso.

La determinación de humedad del almidón se realizó con una muestra de 10 g, la cual se sometió a un secado a 110 °C por 24 horas.

2.3.2. PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN

Se preparó una mezcla de almidón en proporción 4:1, es decir 80 % de agua y 20 % de almidón. La cantidad que se preparó fue de 150 g de mezcla para cada tipo de almidón, lo que significa que se ha utilizado 30 g de almidón para cada ensayo.

2.3.3. HIDRÓLISIS DEL ALMIDÓN

- ❖ Gelatinización: Se calentó la mezcla de agua-almidón a 90 °C durante 30 minutos. La agitación se reguló a 300 rpm.
- ❖ Licuefacción: Se dejó enfriar hasta 70 °C, se ajustó el pH a 6.0 utilizando una solución de ácido cítrico al 10 %, luego se adicionó la enzima alfa amilasa para obtener una relación enzima/sustrato de 0.3 % en peso, es decir 0.09 g para cada ensayo. Se adicionó 0.002 g de cloruro de calcio.

Se ajustó la temperatura a 70 °C y se dejó reaccionar durante 120 minutos en el agitador orbital, después del cual se calentó a 85 °C por 5 minutos para inactivar la enzima. La velocidad de agitación empleada fue de 300 rpm. Esta etapa fue controlada con solución de yodo diluida (1:5).

El hidrolizado se filtró al vacío con ayuda de subacetato de sodio, y al filtrado obtenido se le hizo el análisis de azúcares reductores y grados °Brix para el cálculo del DE.

❖ **Sacarificación:** La solución obtenida en la etapa de licuefacción se enfrió a 65 °C y se ajustó el pH a 4.8. Se adicionó la enzima glucoamilasa en una proporción de enzima/sustrato de 0.2 %, es decir 0.06 gramos para cada ensayo.

Luego se dejó en el agitador a 300 rpm con temperatura estable de 65 °C durante 24 horas. La enzima se inactivó calentando la solución a 80 °C por 5 minutos. El hidrolizado obtenido se filtró al vacío con ayuda de subacetato de sodio, para luego realizar análisis de azúcares reductores y lectura de °Brix para el cálculo de DE.

CAPÍTULO III

III. RESULTADOS

3.1. RENDIMIENTO DE ALMIDÓN A PARTIR DE YUCA, CAMOTE Y PAPA

En la tabla N° 3.1, se resume los pesos y los rendimientos de los almidones obtenidos a partir de 5 Kg de cada uno de los tubérculos ensayados.

Tabla N° 3.1: Pesos y rendimientos de almidones ensayados

VARIABLES	YUCA	CAMOTE	PAPA
Peso bruto (Kg)	5.000	5.000	5.000
Peso sin cáscara (Kg)	4.700	4.750	4.750
Peso del almidón obtenido (Kg)	0.670	0.540	0.630
Rendimiento, base peso sin cáscara (%)	14.255	11.368	13.263
Humedad almidón, b.h. (%)	10.300	10.400	10.200

Fuente: Autores del proyecto.

3.2. PORCENTAJE DE AZUCARES REDUCTORES Y DE DEL HIDROLIZADO DESPUÉS DE LA LICUEFACCIÓN

En la tabla N° 3.2, se resume los porcentajes de azucares reductores y DE de los hidrolizados después de la licuefacción de los tres almidones ensayados.

Tabla N° 3.2: Porcentaje de Azucares Reductores y DE del hidrolizado obtenido después de la licuefacción de los almidones ensayados

TIPO DE ALMIDON UTILIZADO	% DE AZUCARES REDUCTORES	DE (%)
YUCA	2.968	13.677
CAMOTE	2.192	11.019
PAPA	2.478	11.896

Fuente: Autores del proyecto.

3.3. PORCENTAJE DE AZUCARES REDUCTORES Y DE DEL HIDROLIZADO DESPUÉS DE LA SACARIFICACIÓN

En la tabla N° 3.3, se resume los porcentajes de azucares reductores y DE de los hidrolizados después de la sacarificación de los tres almidones ensayados.

Tabla N° 3.3: Porcentaje de Azucares Reductores y DE del hidrolizado obtenido después de la sacarificación de los almidones ensayados

TIPO DE ALMIDON UTILIZADO	% DE AZUCARES REDUCTORES	DE (%)
YUCA	20.382	89.535
CAMOTE	17.111	78.278
PAPA	18.829	83.572

Fuente: Autores del proyecto.

3.4. RENDIMIENTO DE GLUCOSA POR HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE LOS ALMIDONES

El rendimiento de glucosa obtenida por hidrólisis enzimática de los almidones de yuca, camote y papa se expresaron de dos formas:

- ❖ Kg de glucosa/Kg de almidón
- ❖ Glucosa real obtenida entre glucosa teórica, expresado en porcentaje (%).

En la tabla N° 3.4, se resume los rendimientos de glucosa por hidrólisis enzimática de los tres almidones ensayados.

Tabla N° 3.4: Rendimientos de glucosa por hidrólisis enzimática de los almidones ensayados

TIPO DE ALMIDON UTILIZADO	Kg DE GLUCOSA/Kg DE ALMIDÓN	(Kg GLUCOSA REAL/Kg DE GLUCOSA TEÓRICA) X 100
YUCA	1.019	91.719%
CAMOTE	0.856	76.999%
PAPA	0.941	84.733%

Fuente: Autores del proyecto.

CAPÍTULO IV

IV. DISCUSIONES

- ❖ De la Tabla N° 3.1, se deduce que la yuca tuvo un mayor rendimiento de almidón obtenido por peso de materia prima sin cáscara, lográndose 14.26%. Respecto al camote y papa se obtuvo 11.37% y 13.26% respectivamente.

Estos valores obtenidos en base al peso de las materias primas utilizadas respecto a los obtenidos por otros autores. Por ejemplo Gutiérrez y Schulz (1992), encontraron en la yuca un rendimiento cerca de 16% de almidón, mientras que Aristizabal y colaboradores (2007) en su trabajo Guía Técnica para la producción y análisis de almidón de yuca reportaron rendimientos de 17% y 20%.

El valor más alejado respecto a otras investigaciones es el rendimiento del almidón de camote variedad morada. Por ejemplo Guízar (2009) en su trabajo de tesis reporta un rendimiento de almidón de 29.105% y 33.89% para dos variedades de camote mexicano. Respecto a la papa, existen reportes de Liu y colaboradores (2003) que en su investigación con almidón de papa, hallaron un rendimiento de 18.85%.

Una razón del bajo rendimiento en la cantidad de almidón obtenido de los tubérculos, fue debido a que en el licuado se produjo granos muy finos de almidón, lo cual dificultó la sedimentación e hizo que se forme mayor cantidad de mancha; debido a que en la mancha se pierde moléculas de almidón (Montoya, 2007).

❖ Los resultados de la etapa de licuefacción, resumido en la Tabla N° 3.2, nos muestra que el porcentaje de azúcares reductores varió entre 2.97 % para la yuca y 2.48 % para la papa; y los valores de Equivalente de Dextrosa (DE) obtenidos fueron 13.68 para la yuca y 11.90 para la papa. El valor DE más bajo fue para el camote. En este estudio, el almidón de yuca demostró ser más susceptible al ataque con alfa amilasa ensayada, y tuvo un DE ligeramente menor que el obtenido por otros autores. Por ejemplo Hobbs (2009) en su texto reporta un valor DE igual a 15 para la licuefacción de almidón de maíz. Se considera que estos rendimientos ligeramente menores de DE, podrían deberse debido a la baja efectividad de la alfa amilasa; otra razón puede ser debido a que las condiciones de operación no fueron las más óptimas.

❖ Los resultados de la etapa de sacarificación, resumido en la Tabla N° 3.3, nos muestra que el comportamiento del almidón de yuca también fue mejor que los otros almidones, lográndose un valor de Equivalente de Dextrosa (DE) cercano a 90 %. En cambio para el camote fue muy bajo (DE= 78.28), y para la papa fue un valor aceptable de 83.57.

Para el almidón de yuca en el presente trabajo de investigación el valor de DE encontrado en promedio es aún bajo respecto a los valores publicados por Pardo y colaboradores (2004), quienes obtuvieron DE de 96 utilizando almidón de papa, y a los de Novo Nordisk quienes con almidón de yuca, reportaron un DE entre 95 y 98. Se considera que

estos bajos rendimientos podrían deberse a la baja efectividad de las enzimas de cada fabricante (tanto de la alfa amilasa como de la glucoamilasa), y también debido a que las condiciones de operación no fueron las más óptimas.

- ❖ Los rendimientos de glucosa respecto al valor teórico obtenido, expresados en la tabla N° 3.4., fueron de 91.72 % para el almidón de yuca, 77.00 % para el almidón de camote y 84.73 % para el almidón de papa. Reyna y colaboradores (2004), obtuvieron valores cercanos a 97 % en su trabajo de investigación respecto a la obtención de glucosa a partir de almidón de yuca. Se podría considerar que estos bajos rendimientos, se debieron a la baja efectividad de las enzimas de cada fabricante, de la alfa amilasa para la etapa de licuefacción, y de la glucoamilasa, para la etapa de sacarificación. Otra probable razón del bajo rendimiento, puede ser que las condiciones de operación con las que trabajamos no fueron las más óptimas.

- ❖ La principal razón por la que se obtuvo los mejores resultados del almidón de yuca, es debido a su menor contenido de amilosa respecto a los almidones de camote y papa, pues debido a su forma lineal espiralada hace más difícil la hidrólisis (Gallant, Bouchet & Baldwin, 2007). El resultado obtenido en el presente trabajo de investigación concuerda con lo observado por otros investigadores, quienes demostraron que el almidón de yuca, tiene susceptibilidad hacia las

enzimas relativamente más altas, que la de otros almidones como el camote y papa.

- ❖ Respecto al almidón de camote su menor rendimiento en la hidrólisis enzimática para la obtención de glucosa coincide con los resultados obtenidos por: López y colaboradores (2005); Noda y colaboradores (2008), Shariffa y colaboradores (2009), quienes demostraron que el almidón de camote muestra una mayor resistencia a la alfa amilasa y al ataque de la glucoamilasa.

CAPÍTULO V

V. CONCLUSIONES

- ❖ Se concluyó que el rendimiento de glucosa por hidrólisis enzimática de almidones de yuca, camote y papa fue de 91.72 %, 77 % y 84.73 %, respectivamente; los cuales son porcentajes aceptables comparados con los obtenidos por otros autores. Lo que me determina que los tres almidones ensayados, probaron ser una buena alternativa de obtención de mostos con alto contenido de glucosa, destacando así el almidón de yuca, debido a que presentó el mejor porcentaje de obtención de glucosa, logrando un rendimiento cercano al teórico.

- ❖ Se determinó que los pesos de los almidones de los tubérculos de yuca, camote y papa utilizados en nuestro estudio, fueron de 0.670 Kg, 0.540 Kg y 0.630 Kg, respectivamente, respecto a los 5 Kg de cada tubérculo empleado.

- ❖ Se determinó que las mejores condiciones de operación para nuestro trabajo de investigación fueron: para la etapa de gelatinización, la temperatura empleada fue de 90 °C durante 30 minutos y la agitación regulada fue de 300 rpm; para la etapa de licuefacción, la temperatura empleada fue de 70 °C durante 120 minutos, se ajustó el pH a 6, y la agitación regulada fue de 300 rpm; para la etapa de sacarificación la temperatura empleada fue de 65 °C durante 24 horas, se ajustó el pH a 4.8, y la agitación regulada fue de 300 rpm.

CAPÍTULO VI

VI. RECOMENDACIONES

- ❖ Realizar un nuevo estudio para la determinación del rendimiento de glucosa por hidrólisis enzimática de almidones de yuca, camote y papa utilizando en este caso el cóctel de alfa amilasa y glucoamilasa para determinar si es o no más eficiente que el proceso que hemos utilizado en nuestro trabajo de investigación.

- ❖ Realizar nuevos estudios con las diferentes variedades de yuca, camote y papa de las distintas regiones de nuestro país, para determinar con qué variedad se obtiene mejor rendimiento de almidón y de glucosa. Así como también estudiar el comportamiento de yucas amargas en lugar de yucas dulces, para no poner en riesgo la seguridad alimentaria de poblaciones que dependan energéticamente de la yuca como alimento.

- ❖ Realizar un estudio experimental para encontrar las condiciones de operación más óptimas (temperatura, pH, tiempos empleados en cada proceso, revoluciones por minuto), lo que nos permitirá obtener un mejor rendimiento tanto en la obtención de almidón como en la obtención de glucosa.

CAPÍTULO VII

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ❖ Aristizabal J., Sánchez T., Mejía D. (2007). Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca. Roma: Boletín de servicios agrícolas de la FAO.
- ❖ Braverman J. (1980). Bioquímica de los alimentos. México: Editorial Manual Moderno, S.A. de C.V.
- ❖ Chávez D. (2002). Elaboración de jarabe de glucosa partiendo del almidón de camote (*Ipomoea batatas*). Tesis, Escuela de Agroindustria, Universidad de Zamorano, Honduras.
- ❖ Ciat-Centro Internacional de Agricultura Tropical (1997). Métodos para Agregar Valor a Raíces y Tubérculos Alimenticios. Manual para el Desarrollo de Productos. Vol. (3), pp. 7-14. Colombia.
- ❖ Corma A., Iborra S. & Velty A. (2007). Chemical Routes for the Transformation of Biomass into Chemicals. Chem. Rev. (107), pp. 2411-2502.
- ❖ Ellis R., Cochrame M., Dale M., Duffus C., Lynn A., Morrison I., Prentice R., Swanston J., Tiller S. (1998). Starch production and industrial use. Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol. (77), pp. 289-311.
- ❖ Eshra D., El-Akari S., Abo T. (2014). Performance of starch hydrolysis and production of corn syrup using some commercial enzymes. International Food Research Journal 21(2), 815-821.

- ❖ Fajardo C. & Sarmiento F. (2007). Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*. (Tesis de pregrado). Universidad Pontificia Javeriana, Bogotá, Colombia.
 - ❖ Gallant D., Bouchet B., Baldwin P. (2007). Microscopy of Starch: Evidence of a New Level of Granule Organization. *Carbohydrate Polymers*. Vol. (32), pp. 177-191.
 - ❖ Guan H., Keeling P. (2008). Starch Biosynthesis: Understanding the Functions and Interactions of Multiple Isozymes of Starch Synthase and Branching Enzyme. *Trends in Glycosci and Glycotechnol*. Vol. (10), pp. 307-319.
 - ❖ Guzman H., Paredes O. (1995). Amylolytic enzymes and products derived from starch: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 35: 373-403.
 - ❖ Hernández M., Torruco J., Chel L., Betancur D. (2008). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Cienc. Tecnol. Aliment.*; Campinas, 28(3), 718-726.
 - ❖ Hernández J., Rodríguez S., Bello L. (2008). Obtención de jarabe fructosado a partir de almidón de plátano (*Musa paradisiaca*). Caracterización parcial. *INCI*. 33(5), 372-376.
 - ❖ Kennedy F., Cabalda M., White A. (2008). Enzymic starch utilization and genetic engineering. *Trends Biotechnol* 6:184-189.
 - ❖ Knorr D., Heinz V. & Buckow R. (2006). High-pressure application for food biopolymers. *Biochimica et Biophysica Acta* 1764, 619-631.
- Recuperado de la base de datos de [SciencieDirect.com](http://www.Sciencedirect.com)

- ❖ Knutzon A., Grove J. (1994). Rapid method for estimation of amylose in maize starches. *Cereal Chemistry*. 75(5), 469.
- ❖ Mera I., Hoyos J., Carrera J., Forero C., Velasco R. (2003). Caracterización enzimática de alfa amilasa y glucoamilasa en la hidrólisis de almidón de yuca (*Manihot esculenta*). 1(1), 83-88.
- ❖ Mixan E. (2014). Experiencia profesional adquirida en la empresa Negusa Corp S.A.-Lima, en el área de control de calidad para la elaboración de chocolate. (Tesis pre-grado). Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Perú.
- ❖ Montoya S. (2007). Industrialización de la yuca: Obtención de almidón nativo y sus aplicaciones. Manejo de Sólidos y fluidos. Tecnología de Alimentos, Universidad del Valle, Colombia, p. 18.
- ❖ Pardo M., Rivera P., Castellano O., González E. (2004). Estudio cinético de la hidrólisis enzimática del almidón de Papa. *Revista Ingeniería e Investigación*, N° (54), pp. 66,84.
- ❖ Reyna L., Robles R., Reyes M., Mendoza Y., Romero J. (2004). Hidrólisis enzimática del almidón. Tesis, Facultad de Química e Ingeniería Química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú.
- ❖ Ruíz M. (2009). Obtención de jarabes de glucosa a partir de almidón de yuca por medio de hidrólisis enzimática, para ser usados como sustrato en la producción de Bioetanol. Universidad Industrial de Santander, Colombia.
- ❖ Sánchez A. (2002). Obtención de jarabes de D-glucosa por hidrólisis enzimática del almidón extraído de tres variedades de yuca (Amarga,

Armenia y Chile) cultivadas en la Región Guantán (Santander).
Universidad Industrial de Santander, Colombia.

- ❖ Sivoli I., Pérez E. y Rodríguez P. (2012). Análisis estructural del almidón nativo de yuca (*Manihot esculenta* C.) empleando técnicas morfológicas, químicas, térmicas y reológicas. Revista de la Facultad de Agronomía LUZ, Venezuela. Vol. (29), pp. 293-313.
- ❖ Tester R., Karkalas J., Qui X. (2004). Starch-composition, fine structure and architecture. Journal Cereal Science. Vol. (39), pp. 151-165.
- ❖ Tharanathan N. (2005). Starch-value addition by modification. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 45: 371-384.
- ❖ Thomas J. y Atwell W. (1999). Starches. Eagan Press. St. Paul, MN, USA, pp. 1-30.
- ❖ Unalm (2015). Yuca (*Manihoy esculenta*)-Fuente de proteína y carbohidratos para el hombre y sus animales. Programa de Investigación y Proyección Social en Raíces y Tuberosas, Universidad Nacional Agraria La Molina. Red Informática-Unalm.
- ❖ Usucachi P. (2011). Proceso de obtención de bioetanol a partir de papa peruana. (Tesis pre-grado). Universidad Nacional de Ingeniería Química y Textil, Perú.
- ❖ Uthomporn U., Zaidul S. y Karim A. (2010). Hydrolysis of granular starch at sub-gelatinization temperatura using a mixture of amylolytic enzymes. Food and Bioprocessing. Vol. (88), pp. 47-57.

- ❖ Van M., Van V., Uitdehaag C., Leemhuis H., Dijkhuizen L. (2002). Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Journal of Biotechnology*, 94: 137-155.
- ❖ Voet D. & Voet J. (2006). *Bioquímica*. Editorial Médica Panamericana, Tercera Edición. Capítulos 6, 13, 14.
- ❖ Wang Z. y White J. (1994). Structure and physicochemical properties of starches from oats with different lipid content. *Cereal Chemistry*. 71(5): 443-450.
- ❖ Whistler L., Daniels R. (1990). Function of polysaccharides. In: *Food Additives*. Edited by Marcel Dekker. New York, pp. 399-406.
- ❖ Whistler L., Bemiller J., Paschall E. (1984). *Starch: Chemistry and Technology*. Academic Press. Second Edition, pp. 222-232.

CAPÍTULO VIII

VIII. ANEXOS

ANEXO N° 8.1: DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES

A) DETERMINACIÓN DEL FACTOR

- ❖ Con el uso de un matraz aforado se preparó una solución al 1%, pesando 5 g de glucosa anhidra y diluyendo en agua destilada hasta completar 500 ml.

Esto representa 0.01 g de glucosa pura en 1 ml.

- ❖ En una matraz Erlenmeyer de 300 ml se colocó 5 ml de Fehling A y 5 ml de Fehling B, y se agregó 20 ml de agua destilada.
- ❖ Se comenzó a calentar hasta ebullición, agregando al iniciar 3 gotas de azul de metileno.
- ❖ Se tituló con la solución preparada con bureta graduada hasta que desaparezca el color azul, y se anotó el gasto.
- ❖ La titulación no debe durar más de 3 minutos.
- ❖ Cálculos:

Solución preparada: 0.01 gramos de glucosa por ml.

Consumo de solución 1%: 7.5 ml.

Título de Fehling (T.F.): $7.5 \times 0.01 = 0.075$

B) DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES

- ❖ Se tomaron 8 gramos del hidrolizado después de la licuefacción y 1 gramo después de la sacarificación. Ambos se enrazaron hasta 100 ml con agua destilada.
- ❖ Se procedió a cargar la solución preparada anteriormente a la bureta para proceder a la titulación.
- ❖ En un matraz Erlenmeyer se colocó 5 ml de Fehling A y 5 ml de Fehling B, y se agregó 25 ml de agua destilada.
- ❖ Se calentó hasta ebullición agregando al inicio 3 gotas de azul de metileno.
- ❖ Se tituló con la solución preparada con bureta graduada hasta que desaparezca el color azul, y se anotó el gasto.
- ❖ La titulación no debe durar más de 3 minutos.
- ❖ Cálculos:

$$\% \text{ Azucares Reductores} = \frac{\text{Factor de Fehling} \times 100}{A \times G} \times 100$$

A: ml gastados de la solución prueba

G: gramos de muestra problema

8.1.1. DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES Y DE DESPUÉS DE LA LICUEFACCIÓN

A) YUCA

Tabla N° 8.1

ml GASTADOS	% AZUCARES REDUCTORES	°BRIX	DE (%)
31.6	2.967	21.8	13.609
32.3	2.902	21.1	13.756
30.9	3.034	22.2	13.667
PROMEDIO	2.968	-	13.677

Fuente: Autores del proyecto

B) CAMOTE

Tabla N° 8.2

ml GASTADOS	% AZUCARES REDUCTORES	°BRIX	DE (%)
42.7	2.196	19.5	11.259
43.1	2.175	20.2	10.768
42.5	2.206	20.0	11.029
PROMEDIO	2.192	-	11.019

Fuente: Autores del proyecto

C) PAPA

Tabla N° 8.3

ml GASTADOS	% AZUCARES REDUCTORES	°BRIX	DE (%)
37.5	2.500	20.7	12.077
37.9	2.474	20.7	11.950
38.1	2.461	21.1	11.662
PROMEDIO	2.478	-	11.896

Fuente: Autores del proyecto

**8.1.2. DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES Y
DE DESPUÉS DE LA SACARIFICACIÓN**

A) YUCA

Tabla N° 8.4

ml GASTADOS	% AZUCARES REDUCTORES	°BRIX	DE (%)
36.4	20.604	22.8	90.370
36.9	20.325	23.1	87.988
37.1	20.216	22.4	90.248
PROMEDIO	20.382	-	89.535

Fuente: Autores del proyecto

B) CAMOTE**Tabla N° 8.5**

ml GASTADOS	% AZUCARES REDUCTORES	°BRIX	DE (%)
44.1	17.007	21.3	79.844
43.8	17.123	22.4	76.443
43.6	17.202	21.9	78.547
PROMEDIO	17.111	-	78.278

Fuente: Autores del proyecto

C) PAPA**Tabla N° 8.6**

ml GASTADOS	% AZUCARES REDUCTORES	°BRIX	DE (%)
39.8	18.844	22.6	83.382
39.5	18.987	22.9	82.914
40.2	18.657	22.1	84.420
PROMEDIO	18.829	-	83.572

Fuente: Autores del proyecto

ANEXO N° 8.2: DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO**A) RENDIMIENTO TEÓRICO**

Almidón + 0.1111 Agua → 1.1111 Glucosa

Glucosa que se debió obtener teóricamente: $30 \times 1.1111 = 33.333 \text{ g}$

B) RENDIMIENTO: Kg DE GLUCOSA POR Kg DE ALMIDÓN

Peso de almidón: 30 g

Peso de glucosa: % Azucares Reductores x 150

Rendimiento: $\text{Peso de glucosa}/30$

**C) RENDIMIENTO: PORCENTAJE DE GLUCOSA OBTENIDA
RESPECTO AL TEÓRICO**

Glucosa teórica: $30 \times 1.1111 = 33.333 \text{ g}$

Rendimiento respecto al teórico (%): $(\text{Glucosa obtenida}/33.333) \times 100$

8.2.1. DETERMINACIÓN DE LOS RENDIMIENTOS DE GLUCOSA PARA CADA TIPO DE TUBÉRCULO UTILIZADO

A) YUCA

Tabla N° 8.7

%AR	GLUCOSA OBTENIDA (g)	(Kg DE GLUCOSA)/(Kg DE ALMIDÓN)	RENDIMIENTO (%)
20.604	30.907	1.030	92.721
20.325	30.488	1.016	91.464
20.216	30.323	1.011	90.971
PROMEDIO	30.573	1.019	91.719

Fuente: Autores del proyecto

B) CAMOTE

Tabla N° 8.8

%AR	GLUCOSA OBTENIDA (g)	(Kg DE GLUCOSA)/(K g DE ALMIDÓN)	RENDIMIENTO (%)
17.007	25.510	0.850	76.531
17.123	25.685	0.856	77.056
17.202	25.803	0.860	77.409
PROMEDIO	25.666	0.856	76.999

Fuente: Autores del proyecto

C) PAPA**Tabla N° 8.9**

%AR	GLUCOSA OBTENIDA (g)	Kg DE GLUCOSA/Kg DE ALMIDÓN	RENDIMIENTO (%)
18.844	28.266	0.942	84.800
18.987	28.481	0.949	85.444
18.657	27.985	0.933	83.956
PROMEDIO	28.244	0.941	84.733

Fuente: Autores del proyecto

ANEXO N° 8.3: FOTOS DE LA PARTE EXPERIMENTAL

8.3.1. LAVADO, PELADO DE TUBÉRCULOS



8.3.2. LICUADO Y ADICIÓN DE AGUA SULFITADA



8.3.3. FILTRADO



8.3.3. LAVADO DEL ALMIDÓN



8.3.4. GELATINIZACIÓN-LICUEFACCIÓN-SACARIFICACIÓN



8.3.5. OBTENCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES Y EQUIVALENTE DE DEXTROSA (DE) EN EL MOSTO FINAL

