

**UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN
ESCUELA DE POSGRADO**



=====

**“OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE CÁLIZ DE
AGUAYMANTO”**

=====

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: MEDIO AMBIENTE

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO EN MEDIO
AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE, MENCIÓN EN
GESTIÓN AMBIENTAL**

TESISTA: JACKELIN GUEVARA CONDEZO

ASESOR: Dr. JUAN EDSON VILLANUEVA TIBURCIO

HUÁNUCO – PERÚ

2020

DEDICATORIA

Con mucho cariño y amor para mis padres:

- Rosalvina Condezo Lino
- Carlos Guevara Shapiama

Por su apoyo incondicional para el logro de mis objetivos.

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme dado la oportunidad de continuar con mi estudio de posgrado.

A mis padres por su amor incondicional, su comprensión y su ayuda constante en el transcurso de mis metas.

Este trabajo de investigación no hubiera sido posible sin el apoyo de mucha gente. Muchas gracias a mi Asesor, Dr. Juan Edson Villanueva Tiburcio, por darle dirección a mis ideas, a mi Co-Asesor Mg. César Cueto Rosales, por sus revisiones y consejos; quien con su enorme cariño y paciencia me ayudo en los análisis. Me llevaría todas las hojas de este escrito en agradecer a todas y cada una de las personas involucradas en este trabajo, por lo que me limito a agradecerles con mi pensamiento y mi infinito cariño, ya que sin todas esas personas no hubiera logrado empezar, desarrollar y finalizar este largo proceso, gracias a todos, también a ti, que en estos momentos lees estas líneas, ya que tú también eres parte de este ciclo que empecé el día en que seleccione este tema de investigación.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar los parámetros óptimos en la obtención de bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto, la metodología empleada consistió en la preparación del cáliz con diferentes concentraciones de hidróxido de sodio (10,15 y 20% NaOH), que se hidrolizó los pretratamientos, se fermentó, se destiló y se obtuvo el rendimiento de etanol expresado en g de etanol/L. Según los resultados obtenidos, el mejor pretratamiento fue con 20% de hidróxido de sodio (NaOH) donde el porcentaje de ceniza fue de $1,95 \pm 0,30$; el porcentaje de fibra de $5,34 \pm 0,44$; la cantidad de azúcares reductores de $0,10 \pm 0,0$ mg/ml y finalmente se obtuvo $8,91 \pm 0,83$ g de etanol/L. El estudio permite concluir que se logró obtener bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto, donde la mejor concentración de Hidróxido de sodio (NaOH) fue la de 20%, ya que tiene mejor efecto para hidrolizar la celulosa y obtener azúcares reductores; además el proceso de fermentación del hidrolizado del cáliz de aguaymanto para producir bioetanol se dio cuando los azúcares reductores formados por la hidrólisis del cáliz de aguaymanto fueron fermentados por las levaduras, obteniendo etanol hasta un máximo de $8,91 \pm 0,83$ g de etanol/L y este proceso de fermentación se dio en 15 días.

PALABRAS CLAVE: Hidrólisis, enzimas, residuos.

SUMMARY

The previous work aimed to determine the optimal parameters in obtaining bioethanol from the calyx of aguaymanto, the methodology used consisted in the preparation of the calyx with different concentrations of sodium hydroxide (10.15 and 20% NaOH), which was Hydrolyzed the pretreatments, fermented, distilled and the yield of ethanol expressed in g of ethanol / L was obtained. According to the results obtained, the best pretreatment was with 20% sodium hydroxide (NaOH) where the percentage of ash was 1.95 ± 0.30 ; the percentage of fiber of 5.34 ± 0.44 ; the amount of reducing sugars of 0.10 ± 0.0 mg / ml and finally 8.91 ± 0.83 g of ethanol / L was obtained. The study concludes that it was possible to obtain bioethanol from the calyx of aguaymanto, where the best concentration of sodium hydroxide (NaOH) was 20%, since it has a better effect to hydrolyze cellulose and obtain reducing sugars; In addition, the fermentation process of the hydrolyzate of the calyx of aguaymanto to produce bioethanol occurred when the reducing sugars formed by the hydrolysis of the calyx of aguaymanto were fermented by yeasts, obtaining ethanol up to a maximum of 8.91 ± 0.83 g of ethanol / L and this fermentation process occurred in 15 days.

KEY WORDS: Hydrolysis, enzymes, waste.

ÍNDICE

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
RESUMEN	v
SUMMARY	vi
INTRODUCCIÓN	ix
CAPÍTULO I. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	1
1.1. FUNDAMENTACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.	3
1.3. IMPORTANCIA O PROPÓSITO	4
1.4. LIMITACIONES.	4
1.5. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	4
1.5.1. Problema general	4
1.5.2. Problemas específicos	4
1.6. FORMULACIÓN DE LOS OBJETIVOS	5
1.6.1. Objetivo general.	5
1.6.2. Objetivos específicos	5
1.7. FORMULACIÓN DE LAS HIPÓTESIS	5
1.7.1. Hipótesis general	5
1.7.2. Hipótesis específicas	5
1.8. VARIABLES	5
1.8.1. Variable independiente	5
1.8.2. Variable dependiente	6
1.9. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	6
1.10. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS OPERACIONALES	6
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO	8
2.1. ANTECEDENTES	8
2.2. BASES TEÓRICAS	14
2.2.1. Aguaymanto	14
2.2.2. Biocombustibles	19
2.2.3. Biomasa lignocelulósica	20
2.2.4. Conversión del material lignocelulósico a biocombustible	22
2.3. BASES CONCEPTUALES	30

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	33
3.1 ÁMBITO	33
3.2 POBLACIÓN	33
3.3 MUESTRA	33
3.4 NIVEL Y TIPO DE ESTUDIO	33
3.4.1. Nivel de estudio	33
3.4.2. Tipo de estudio	33
3.5 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	33
3.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS	34
3.6.1 Técnicas	34
3.7 PROCEDIMIENTO	34
3.8. TABULACIÓN	35
3.9. ANÁLISIS DE DATOS	35
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO	37
4.2. ANÁLISIS INFERENCIAL Y/O CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS	39
4.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	40
4.4. APORTE DE LA INVESTIGACIÓN	42
CONCLUSIONES	43
RECOMENDACIONES O SUGERENCIAS	44
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	49
ANEXO 01. MATRIZ DE CONSISTENCIA	50
ANEXO 02. CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICO DEL CÁLIZ DE AGUAYMANTO	51
ANEXO 03: HIDRÓLISIS DEL CÁLIZ DE AGUAYMANTO	54
ANEXO 04: FERMENTACIÓN DEL CÁLIZ DE AGUAYMANTO	56
NOTA BIOGRÁFICA	56
ACTA DE DEFENSA DE TESIS	58
AUTORIZACION PARA PUBLICACIÓN DE TESIS ELECTRÓNICA	59

INTRODUCCIÓN

El material lignocelulósico representa una fuente renovable de energía, con potencial para la producción de biocombustibles, cuyo uso permitiría reducir el consumo de combustibles fósiles y limitar las emisiones de CO₂, SO_x, NO_x a la atmósfera y la contaminación por metales pesados. Además, de su favorabilidad y sostenibilidad, se encuentra mucho mejor distribuida sobre la superficie de la tierra que los combustibles fósiles y el uranio y pueden ser explotados usando tecnologías más económicas. Los materiales lignocelulósicos presentan una estructura compuesta principalmente por tres componentes (celulosa, hemicelulosa y lignina). En los procesos de degradación de materiales lignocelulósicos se pueden identificar algunos tratamientos comunes (pretratamiento, delignificación e hidrólisis) utilizados para la producción de azúcares fermentables. Estos tratamientos pueden ser físicos, químicos, enzimáticos o con microorganismos. Asimismo, la factibilidad de cada tratamiento depende del consumo de energía, selectividad, costos de procesos y velocidad de degradación. La estructura de los materiales lignocelulósicos determina sus propiedades mecánicas, la resistencia al ataque de microorganismos, enzimas, agentes químicos y establece la dificultad de degradar este tipo de materiales. Por lo que se puede asegurar, que la naturaleza del sustrato y el método de pretratamiento usado, influye sobre la eficiencia de degradación del material lignocelulósico cuando se utilizan enzimas. La acción de una enzima es restringida por la accesibilidad al sustrato. En el caso de las celulasas, disminuyen su acción sobre la celulosa por la presencia de otros polisacáridos. También, es conocido que la combinación de enzimas degradadoras de polisacáridos actúa sinérgicamente en la degradación de la matriz de la pared celular. La velocidad y extensión de la hidrólisis de sustratos lignocelulósicos se ve influenciada no solamente por la eficiencia de las enzimas, sino también por las características fisicoquímicas y morfológicas, expresada en la heterogeneidad de los sustratos lignocelulósicos. Por esto, se hace necesaria la utilización de sistemas muy selectivos (enzimas), para la degradación de este tipo de

materiales. La hidrólisis enzimática puede ser una mejor alternativa que la hidrólisis ácida y tiene un potencial para el desarrollo y mejoras de tecnologías para la producción etanol a partir de biomasa que puede ser competitivo con respecto otros combustibles. Entre los componentes de la pared celular, la lignina es probablemente el compuesto más recalcitrante sintetizado por las plantas y que contribuye a dar firmeza y fortaleza a las plantas. Un complejo enzimático compuesto por enzimas extracelulares, tales como lacasas y peroxidasas, tienen la capacidad de degradar la lignina y otros compuestos tales como moléculas aromáticas simples. Las actividades enzimáticas que intervienen en el proceso de hidrólisis del material lignocelulósico, son de diversa índole. Las enzimas delignificantes, son secretadas por hongos, son las enzimas oxidativas extracelulares (oxidoreductasas) tales como lignina peroxidasa (LiP), Manganese peroxidasa (MnP), lacasa o monofenil oxidasa (Lac) y oxidasas productoras de H₂O₂. La actividad de MnP y LiP se incrementa por el uso de alcohol veratrílico mientras que la lacasa, mejora su actividad en presencia de alcohol benzílico y ácido verátrico. La degradación enzimática de la celulosa a glucosa, está acompañada por la acción sinérgica de tres enzimas: endo- glucanasas, exoglucanasas y β - glucosidasas. Mencionan (Mendoza, Pardo, & Galán, 2011).

Esta producción generada por las empresas agroindustriales en el departamento de Huánuco generan abundantes desechos lignocelulósicos, constituidos principalmente por el cáliz de aguaymanto. Esta biomasa se está desaprovechando debido a que posee un gran potencial industrial. Estos desperdicios actualmente se botan a la basura, sin pensar en obtener otros productos de mayor valor agregado o se queman, causando un impacto importante sobre la calidad del aire. Por tal motivo, es importante valorizarlos hacia bioetanol de segunda generación, que aumentaría igualmente la competitividad del sector aguaymanto. Para una eficiente hidrólisis en el cáliz de aguaymanto, es posible desarrollar una aplicación con la enzima (celulasa), previo tratamiento con NaOH, capaz de degradar la lignina y la hemicelulosa. Por tal razón, este trabajo de investigación tiene por objeto mostrar los avances

en la investigación, en la aplicación de hidrólisis enzimática en el cáliz de aguaymanto, etapa fundamental para obtener azúcares simples, como base para la producción de bioetanol de segunda generación. Se tomó como base, trabajar con tres tratamientos a diferentes concentraciones de hidroxido de sodio (NaOH), a los cuales se les aplicó la enzima celulasa. También se evaluó un nuevo proceso de hidrólisis enzimática, con otra metodología, a partir de una concentración menor de NaOH, que resultó mejor que los otros tratamientos establecidos.

CAPÍTULO I. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. FUNDAMENTACIÓN DEL PROBLEMA

Espinoza, (2015) y Guerrero, Sandoval, Rodriguez, Coronado, & Saavedra, (2012) mencionan que el aguaymanto es una fuente de vitamina A (648 U.I.), importante para el buen desarrollo del feto en las madres gestantes y esencial para la vista. La proteína, fibra, calcio, fósforo, y carbohidratos presentes en la fruta son el motivo por el que el aguaymanto es utilizado en la industria terapéutica, química y farmacéutica, para curar la diabetes, y prevenir las enfermedades como cataratas y miopía. Alivia infecciones de garganta, próstata y disminuye enfermedades cardiovasculares debido a su actividad antioxidante. De modo que la producción de aguaymanto en el Perú, a comienzos de los años 90`s, estuvo conformada, en su mayoría, por pequeños productores que trabajaban de manera individualizada e informal. Había desconocimiento del cultivo, ausencia de tecnología, desconocimiento del mercado, el consumo era ocasional y la comercialización era en mercados locales. Por ello no se realizaban cosechas importantes, los agricultores cultivaban a la vez otros frutos y verduras, tomándole poca importancia al aguaymanto; pero hoy en día el aguaymanto se cultiva en todos los países que conforman la Cordillera de los Andes, desde Venezuela hasta Chile; así como en África (Egipto, Kenia y Sudáfrica); además se siembra en algunos países de Asia incluyendo Malasia y China, lo mismo que en Oceanía y países del Caribe, entre otros. Desde el 2002 Colombia es el mayor productor de aguaymanto del mundo, seguido por Sudáfrica, Zimbabue y Kenia, otros competidores son Ecuador, Perú, México. Sudáfrica es el principal exportador de aguaymanto, produce y comercializa este fruto en el mercado mundial durante el verano y principios de otoño (julio y agosto). Nueva Zelanda es otro de los grandes exportadores, dispone de su producción exportable, principalmente a Europa, entre

abril y junio. Colombia es el principal exportador de América, comercializa su producto a lo largo del año, colocando mayoritariamente a Europa y Estados Unidos. Zimbabue ocupa el cuarto lugar en comercialización mundial, ubica su producción en Europa durante todo el año, mientras que Kenia que tiene el quinto lugar, lo exporta aleatoriamente durante los meses de otoño. En estos mercados internacionales el aguaymanto se comercializa en fruta fresca y procesada. En la actualidad se encuentran diferentes productos procesados a partir de esta fruta tales como mermeladas, pasas, conservas, frutos cubiertos de chocolate, jugos, néctares pulpa, fruta deshidratada”.

Reporta Espinoza, (2015) que en el Perú la principal zona de producción de aguaymanto es Cajamarca. Asimismo, se han desarrollado investigaciones y se ha adaptado tecnología para el manejo agronómico del cultivo. Sin embargo, existen otras fuentes de producción en Huánuco, Ancash, Junín y Ayacucho. Los rendimientos reportados en condiciones de sierra son entre 5 a 12 toneladas/ha, en Costa de 6 a 12 toneladas/Ha, dependiendo del tipo de suelo y manejo del cultivo. La estacionalidad de cosecha en sierra se concentra en los meses de abril a junio, mientras que en la costa la cosecha se concentra en octubre a noviembre. Se calcula que en el Perú existen 720 hectáreas dedicadas al cultivo de aguaymanto, lo que significaría una producción promedio de 5,76 mil toneladas (considerando un rendimiento promedio de 8 tn/ha); es por ello que el proceso productivo para la obtención de envasado de aguaymanto fresco, involucra procesos unitarios sencillos y flexibles así los medios de producción se pueden disponer fácilmente en el mercado nacional.

El bioetanol se obtiene mediante la fermentación de los azúcares solubles provenientes de materiales vegetales ricos en azúcar y mediante el uso de levaduras y/o bacterias. El alcohol de segunda generación (llamado así por la fermentación de azúcares obtenidos a

partir de biomasa vegetal) ha sido señalado como el sustituto inmediato del crudo y a diferencia de éste, prácticamente puede obtenerse de manera continua y renovable. No obstante, la producción de azúcares fermentables enfrenta una crisis socio energética ya que estos derivan exclusivamente del sector alimenticio. Una alternativa atractiva es la producción a partir de materiales lignocelulósicos (cáliz de aguaymanto), ya que estos no compiten directamente con los alimentos destinados al consumo humano y animal y permite aprovechar grandes cantidades de biomasa que generan los procesos agroindustriales. La gran biodiversidad vegetal con la que cuenta nuestro país puede ser aprovechada, además de que representa una fuente de empleo, promueve una mejora económica y tecnológica en distintos niveles tanto industriales como tecnológicos (Perales, 2015).

En este contexto, se estudió el potencial de obtener biocombustible a partir del cáliz de aguaymanto sometido a hidrólisis enzimática.

1.2. JUSTIFICACIÓN.

La presente investigación se justifica a nivel:

Técnico. Esta modalidad contribuye a un medio ambiente sostenible, el bioetanol se produjo por la fermentación de los azúcares contenidos en la materia orgánica del cáliz de aguaymanto y es por ello que se planteó el siguiente trabajo de investigación en este caso la “obtención de bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto”, ya que estas materias primas se exportan a diferentes países y su producción se está incrementando, puesto que la industria del aguaymanto, generan como residuo el cáliz del aguaymanto. El cáliz de aguaymanto se considera como material lignocelulósico apto para la producción de bioetanol, por presentar en su composición un alto contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina, además de ser un recurso abundante en la región.

Práctico. La producción de bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto genera una oportunidad de negocio, que si se aplica en mayor escala

se contribuye en la disminución de las emisiones de CO₂ en la ciudad de Huánuco, para el cual se utilizó como biomasa el cáliz de aguaymanto por hidrólisis enzimática utilizando la enzima celulasa, para su posterior fermentación y destilación.

Teórico. Con esta investigación se busca fortalecer el crecimiento y competitividad de pequeñas empresas a nivel regional, productos que generen valor agregado a la cadena, ya que razones económicas y de mercado indican la necesidad de estudiar nuevas alternativas para la industrialización, que permitan la oferta de productos novedosos y satisfagan las necesidades de nuevos mercados exigentes.

Metodológica. La presente investigación propone instrumentos de medición que permite recolectar y analizar los datos, ayudando a de esta manera a esclarecer las variables de estudio.

1.3. IMPORTANCIA O PROPÓSITO

El propósito fue de determinar los parámetros óptimos para obtener bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto, en la provincia de Huánuco. Su importancia radica en que se aportará los datos obtenidos en la presente investigación para mejorar el rendimiento de bioetanol.

1.4. LIMITACIONES.

Se consideró el tiempo que tarda en esperar a que las plantas de producción estén procesando, para así obtener el cáliz de aguaymanto y eso conlleva a una demora en realizar los posteriores análisis hasta su obtención.

1.5. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.5.1. Problema general

- ¿Cuáles son los parámetros óptimos para la obtención de bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto?

1.5.2. Problemas específicos

- ¿Cuál será la mejor concentración de Hidróxido de Sodio (NaOH) para hidrolizar el cáliz de aguaymanto?

- ¿Será posible realizar la fermentación del hidrolizado de cáliz de aguaymanto para producir bioetanol?

1.6. FORMULACIÓN DE LOS OBJETIVOS

1.6.1. Objetivo general.

- Determinar los parámetros óptimos en la obtención de bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto.

1.6.2. Objetivos específicos

- Identificar la mejor concentración de Hidróxido de Sodio (NaOH) para hidrolizar el cáliz de aguaymanto.
- Determinar el proceso de fermentación del hidrolizado del cáliz de aguaymanto para producir bioetanol.

1.7. FORMULACIÓN DE LAS HIPÓTESIS

1.7.1. Hipótesis general

Ha: Si se analiza los parámetros óptimos entonces se podrá obtener bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto.

H^o: Si no se analiza los parámetros óptimos entonces no se podrá obtener bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto.

1.7.2. Hipótesis específicas

Ha: Si se identifica la mejor concentración de Hidróxido de Sodio (NaOH) entonces se podrá hidrolizar el cáliz de aguaymanto.

H^o: Si no se identifica la mejor concentración de Hidróxido de Sodio (NaOH) entonces no se podrá hidrolizar el cáliz de aguaymanto.

Ha: Si se determina el proceso de fermentación del hidrolizado del cáliz de aguaymanto entonces se podrá producir bioetanol.

H^o: Si no se determina el proceso de fermentación del hidrolizado del cáliz de aguaymanto entonces no se podrá producir bioetanol.

1.8. VARIABLES

1.8.1. Variable independiente

V₁: Concentración de Hidróxido de Sodio

1.8.2. Variable dependiente

V₂: El cáliz de aguaymanto (Azúcares Reductores, Humedad, Fibra, Cenizas y Rendimiento de alcohol (OH)).

1.9. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 1. Operacionalización de variables

VARIABLES	DIMENSION	INDICADORES
Variable Independiente	Parámetros:	Porcentajes de hidróxido de sodio (NaOH)
Concentración de Hidróxido de Sodio (V ₁)	V ₁₁ =10% V ₁₂ =15% V ₁₃ =20%	
Variable Dependiente		
Cáliz de aguaymanto (V ₂)	V ₂₁ = ug/ml V ₂₂ = % V ₂₃ = % V ₂₄ = % V ₂₅ = g/l	Azúcares reductores Humedad Fibra Cenizas Rendimiento de etanol

1.10. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS OPERACIONALES

V₁: Concentración de Hidróxido de Sodio: Serán las diversas concentraciones de NaOH (10,15 y 20%).

V₂: Cáliz de aguaymanto: Se harán análisis diversos como:

V₂₁: Azúcares Reductores: Se analizará la cantidad de azúcares reductores (µg/ml) presente en el cáliz de aguaymanto antes y después del proceso de lavado con hidróxido de sodio.

V₂₂: Humedad: Se analizará el porcentaje de Humedad del cáliz fresco; así como del cáliz seco molido.

V₂₃: Fibra: Se analizará el porcentaje de Fibra presente en el cáliz molido.

V₂₄: Cenizas: Se analizará el porcentaje de cenizas presente en el cáliz de aguaymanto.

V₂₅: Rendimiento: Se cuantificará la cantidad de etanol que se obtiene luego del proceso de fermentado (g/l).

CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

A NIVEL INTERNACIONAL

Kaschuk, Lacerda, Coma, & Frollini, (2017) indican en su investigación denominado “**La hidrólisis enzimática de mercerizado y pulpa mercerizada de sisal**” que trabajaron con una solución acuosa alcalina del 20% en el pretratamiento, donde se analizó [contenido de celulosa, masa molar promedio viscosimétrico (MMvis), índice de cristalinidad (CI), pulpa de fibra] y antes de la hidrólisis enzimática, se cuantifico el contenido de celulosa, hemicelulosa, de lignina insoluble. Donde se reportaron los siguientes resultados la pulpa de partida ($85 \pm 2\%$) celulosa, $15 \pm 2\%$ hemicelulosa, $1.2 \pm 2\%$ de lignina insoluble, la masa molar promedio viscosimétrico (MMvis) $19\ 357 \pm 590\ \text{g mol}^{-1}$, índice de cristalinidad (IC) 74%.

Chávez Guerrero *et al.*, (2019) comentan en su estudio “**la hidrólisis enzimática de nanoplatelets de celulosa como fuente de azúcares con la producción concomitante de nano celulosa fibrillas**” que la morfología y la cristalinidad de la celulosa son los factores claves implicados en la hidrólisis enzimática, desarrollando así el estudio de los efectos de tales variables en la conversión nanocelulosa en glucosa; donde se utilizó la celulasa de *Trichoderma sp* a $37\ ^\circ\ \text{C}$, se utilizó para producir la glucosa, de manera que se encontraron los mejores resultados para los nanoplatelets de celulosa (S-CNP) después de 60 h de hidrólisis, que una conversión del 47% a la glucosa, en contraste con el 15% para la no purificación muestra (W-CP) y el 22% para la celulosa micro cristalina (MCC20). El di-rayos X cartograma grabada en las muestras mostró un índice de cristalinidad inicial de 45%, 54% y 72% para W-CNP, SCNP y MCC20, respectivamente. Además, se demostró que después de 24 h de hidrólisis, nano largo de celulosa fi (fibrillas $\varnothing \approx 30\ \text{nm}$) se encontraron como un residuo.

Riaño, Morales, Hernández, & Barrero, (2010) en su estudio **“Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos”** mencionan sobre las características de las materias primas, las etapas de (pre-tratamiento, hidrólisis, detoxificación y fermentación). De estos subproductos o residuos en su mayoría corresponden a biomasa lignocelulosa rica en polímeros de celulosa y hemicelulosa entre 75-80%, los cuales, pese a su dificultosa degradación, es posible mediante procesos químicos, físicos y/o biológicos desdoblarlos a azúcares monosacáridos para su posterior conversión a etanol. La presente investigación está dirigida al estudio e incursión de pretratamientos viables tanto en proceso como económicamente para este tipo de materias primas, y el uso de microorganismos, hongos y/o bacterias modificadas, combinadas, etc., para la potencialización de estas en la fermentación de azúcares y posterior obtención de bioetanol. De las técnicas mencionadas se trabajó con la cascarilla de arroz y cáscara de plátano, la cual se hizo con hidrólisis ácida (H_2SO_4 diluido), también se trabajó con bagazo de caña y subproductos cítricos, técnicas dirigidas a atacar la hemicelulosa, acompañadas con hidrólisis enzimática con celulasas o combinadas con otras enzimas comerciales (dirigidas a la celulosa). En torno a estas técnicas, que suelen ir combinadas con una trituración mecánica previa a los pre-tratamientos, se han generado nuevas investigaciones con miras a mejorar su eficacia y eficiencia en la producción de bioetanol.

Perales, (2015) comenta en su trabajo de investigación denominado **“Obtención de bioetanol a partir de materiales lignocelulosicos sometidos a hidrolisis enzimática”** que se generó bioetanol a partir de los residuos de la cáscara de *Jatropha curcas* y del *Pennisetum sp* sometidos a hidrólisis enzimática. En una primera etapa se caracterizaron los materiales en cuanto a su composición de celulosa, hemicelulosa y lignina mediante las técnicas TAPPI. Posteriormente, se

realizaron pretratamientos ácidos, alcalino y autohidrólisis de las fibras de *Pennisetum sp* y de *Jatropha curcas* y fueron sometidos a hidrólisis enzimática para determinar el pretratamiento óptimo. Finalmente, los líquidos provenientes de los tratamientos de hidrólisis (ácido, alcalino y enzimático) de la cáscara de *Jatropha curcas* y del *Pennisetum sp* fueron fermentados utilizando cepas del género *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* y la detección de etanol se realizó por técnicas cromatográficas. El porcentaje de transformación de masa seca en azúcares reductores obtenido para la fibra pretratada con álcali del *Pennisetum sp* previo al ataque enzimático, fue de 76.61% y de 49.43% de la cáscara de *Jatropha curcas*. La mayor concentración de etanol obtenida fue de 10.27 g/L a partir de las fibras pretratadas con álcali provenientes de la hidrólisis enzimática del *Pennisetum sp*, y 1.53 g/L de etanol para la cáscara de *Jatropha curcas*. Los resultados obtenidos demuestran el potencial de estos materiales para su transformación en bioetanol.

A NIVEL NACIONAL

Cristobal & Cristobal, (2015) en su trabajo de investigación “**Evaluación de las características fisicoquímicas del aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de la zona andina y selva en diferentes estados de madurez**”, indican que existen dos ecotipos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.), en dos lugares con diferentes condiciones ecofisiológicas: Acomayo (Huánuco) y Huaribamba (Huancavelica). Donde se recolectaron los frutos, se seleccionaron y clasificaron por colores de acuerdo a la Norma Técnica Colombiana 4580 (1999). Y su característica física tienen un incremento de valores del estado verde al maduro para cada ecotipo, dando diferencias significativas ($\alpha=0,05$), donde el aguaymanto de Acomayo alcanzó mayor peso de 9,42 g y diámetro de 25 mm en comparación al aguaymanto de Huaribamba que alcanzó un peso de 4,6 g y de diámetro de 19,5 mm. En la caracterización fisicoquímica se resaltó el

índice de madurez, pH, ácido ascórbico y β -carotenos donde: el aguaymanto de Huaribamba alcanzó un índice de madurez de 9,38 °Brix/% de Ácido cítrico, pH de 3,63, ácido ascórbico de 49,81 mg/100g y β -carotenos de 2,36 mg/100g y; el aguaymanto de Acomayo alcanzó un índice de madurez de 8,33 °Brix/% de Acidez y pH de 3,44, ácido ascórbico de 52,31 mg/100g y β -carotenos de 2,79 mg/100g. Ambos ecotipos resultaron estadísticamente diferentes ($\alpha=0,05$). Finalmente se hizo el análisis proximal donde se hallaron el contenido de humedad, proteína, fibra, grasa, ceniza y carbohidratos en donde el aguaymanto de Huaribamba alcanzó una humedad de 79,57 %, proteína de 2,47 %, grasa de 0,51 %, ceniza de 0,77 %, fibra de 3,75 % y carbohidratos de 12,79 % y el aguaymanto de Acomayo alcanzó una humedad de 82,09 %, proteína de 2,95 %, grasa de 0,7 %, ceniza de 0,51 %, fibra de 3,89 % y carbohidratos de 10,15 %. En ambos ecotipos no se encontraron diferencias significativas ($\alpha=0,05$), excepto humedad y ceniza.

Poma, (2016) en su estudio **“Efecto de tres niveles de concentración de levadura *Saccharomyces cerevisiae* cepa CH 158 SIHA en la fermentación del zumo de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.)”** determinó el efecto de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* cepa CH 158 SIHA en la producción de etanol, consumo de sustrato, variabilidad de densidad, acidez volátil, acidez total y características sensoriales descriptivas, para poder determinar este efecto se trabajó a tres concentraciones de levadura en el zumo de aguaymanto. La investigación tiene tres etapas diferenciadas. En la primera etapa, se realizó una caracterización fisicoquímica del fruto de aguaymanto determinando el peso promedio, diámetro promedio, índice de madurez fisiológica, sólidos solubles, acidez total, densidad y pH. En la segunda etapa se determinó los controles durante el proceso fermentativo, donde los parámetros de inicio de la fermentación fueron: 20°Brix, dilución de pulpa 1:2, tres concentraciones de levadura, 0,2; 0,5 y 0,8 %.

Medina Morales, Lara Fernández, Aguilar, & La Garza Toledo, (2011) señalan en su investigación **“Aprovechamiento de materiales lignocelulósicos para la producción de etanol como carburante”** sobre la creciente necesidad de disminuir la dependencia hacia el petróleo ha promovido la búsqueda de fuentes alternas de energía renovable para la generación de combustibles en gran cantidad y que generen menos contaminación atmosférica como es el caso del etanol. En años recientes se han elaborado mezclas de etanol/gasolina en proporciones de 8%/92% respectivamente, con el propósito de aminorar la contaminación. Teniendo en consideración este aspecto, y el hecho de que anualmente las destilerías en nuestro país producen 53 millones de litros de etanol, si se destinara esa cantidad de etanol para elaborar combustible en las proporciones mencionadas, solamente habría abasto para cinco semanas en la Ciudad de México. Actualmente Brasil y Estados Unidos utilizan etanol como combustible, obtenido de caña de azúcar y de almidón de maíz respectivamente. Independientemente de la efectividad del maíz y caña de azúcar como materia prima para la producción de etanol, en el caso de maíz, usado también como alimento, su valor aumenta y los derivados que se encuentran normalmente comercializados aumentarán su valor. Otro material que es de interés para la producción de etanol es la lignocelulosa, ya que está compuesta principalmente de tres polímeros: lignina, hemicelulosa y celulosa, siendo estas dos últimas las aprovechables para la producción de etanol ya que su composición total corresponde a azúcares los cuales en su mayoría pueden ser convertidos a etanol.

Pacheco & Trujillo, (2019) señalan en el presente trabajo de investigación **“Obtención de etanol por fermentación alcohólica a partir del exudado de la pulpa de cacao (*Theobroma cacao* L.)”** que se aisló una cepa del fruto de cacao y una cepa de la uva con lo cual se fermentaron las muestras de exudado y se comparó con la

fermentación del exudado utilizando levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*); donde se desarrollaron cuatro fermentaciones utilizando una cepa del fruto de cacao al 1 %, una cepa del fruto de cacao al 5 %, una cepa de la uva al 1 % y una cepa de *Saccharomices cerevisiae* al 1 %, después estos fermentados se destilaron en las mismas condiciones. Finalmente, se realizó la determinación del contenido de etanol de las muestras destiladas mediante cromatografía de Gases con detector de ionización de llama, encontrándose que las muestras tratadas con cepa de uva y *Saccharomyces cerevisiae* presentan mayor contenido de etanol comparadas con las muestras tratadas con cepa aislada del fruto de cacao, la cual fue identificada como *Kloeckera sp.*

A NIVEL REGIONAL

Ladera & Frans, (2013) mencionan en su investigación “**Evaluación de la actividad celulolítica del complejo enzimático celulasa en cepas fúngicas de los departamentos de Cajamarca, Lima, Junín, Huánuco**”, que Mundialmente los residuos lignocelulósicos constituyen el recurso renovable más importante que existen y está compuesto en su mayor parte por celulosa la que es degradada principalmente por hongos. En el Perú se conoce poco acerca del potencial celulolítico de las cepas fúngicas nativas en las distintas regiones de nuestro país. Este trabajo tuvo como objetivo seleccionar cepas fúngicas productoras de celulasas de los mantenidos en el cepario del laboratorio de micología aplicada, identificarlas morfológicamente y evaluar su actividad enzimática. Se evaluaron 289 cepas semicuantitativamente mediante la técnica de difusión radial en agar czapeck Na-CMC y cuantitativamente por el método de Somogy Nelson. Se seleccionaron cinco cepas: tres del genero *Paecilomyces sp* (SA – 726; SA - 668; SA – 651), una de *Fusarium sp* (SA - 683) y una de *Aspergillus sp* HN – 566), los que presentaron áreas de hidrólisis de 14.9; 12.5, 12.0, 14.4 y 12.7 x 10² mm² respectivamente. La actividad enzimática de las cepas

seleccionadas mostró los siguientes valores: 0.048, 0.042, 0.042, 0.080 y 0.048 UI/mL respectivamente. Los resultados muestran que existen cepas nativas en las zonas de Satipo y Huancayo con buena actividad enzimática.

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Aguaymanto

2.2.1.1 Definición y taxonomía

Cristobal & Cristobal, (2015) mencionan que el aguaymanto es un fruto andino que pertenece a la familia Solanaceae, y el cual se le conoce bajo diferentes nombres: aguaymanto (Perú), uchuva (Colombia), uvilla (Ecuador), Cape gooseberry o Inca Goldenberry (Europa), entre otros. El fruto es una baya jugosa de forma globosa u ovoide; con un diámetro entre 1,25 y 2,5 cm, con 4 a 10 g de peso; y que contiene en su interior alrededor de 100 a 300 semillas pequeñas. La estructura interior del fruto parece a un tomate en miniatura. Presenta un cáliz que cubre completamente el fruto durante todo su desarrollo y maduración, de forma que protege de insectos, pájaros, enfermedades y condiciones climáticas adversas.

Larreátegui & Espinoza, (2016) clasifican al aguaymanto de la siguiente manera:

Reino: Vegetal

Tipo: Fanerógamas

Clase: Dicotiledóneas

Sub-clase: Metaclamideas

Orden: Tublifora

Familia: Solanácea

Género: *Physalis*

Especie: *Physalis peruviana* L.

2.2.1.2 Descripción botánica

Planta herbácea de hasta 1 m de altura, con pelos simples y tallos

angulosos simples o ramificados. Hojas membranáceas, germinadas y alternas, ovadas, de 5 – 15 x 3 – 8 cm, con el borde sinuadentado, entero o lobulado, el ápice acuminado, la base obtusa, cordadao truncada y veloso-viscosas. Peciolos de 1 – 4 cm. Flores solitarias axilares y con pedicelos de 3 – 10 mm. Cáliz pubescente, campanulado, de 7 – 15 mm de longitud y con 5 dientes acuminados. Baya globulosa de 1 – 2,5 cm de longitud y 1,5 – 3 cm de diámetro, amarilla o amarillo – verdosa, lampiña y envuelta en una bolsa formada por el cáliz acrescente. Semillas 4 discoideas, de 1,7 – 2 mm, blanquecinas o parduzcas y con la testa reticulada. La característica más distintiva del género *Physalis* es su cáliz acrescente, que crece de forma simultánea con el fruto y lo cubre completamente incluso en el estado de madurez. (Cristobal & Cristobal, 2017).

2.2.1.3 Composición nutricional

Ramírez, (2015) presenta la tabla de composición nutricional del aguaymanto.

Tabla 2. Reporte de la composición nutricional de *Physalis peruviana* L. Por 100 g de fruta.

CONTENIDO NUTRICIONAL	CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACION (NRC) (1989)	FISHER ET AL. (2000)	CCI (2001)	OSORIO Y ROLDÁN (2003)	REPO DE CARRASCO Y ZELADA (2008)	VALORES DIARIOS RECOMENDADOS (BASADO EN UNA DIETA DE 2000 CAL)
Energía (cal)	73	49	54	49	76.8	-
Agua (g)	78.9	85.5	76.9	85.9	79.8	-
proteína (g)	0.3	1.5	1.1	1.5	1.9	-
Grasa (g)	0.2	0.5	0.4	0.5	0.0	66
Carbohidrato (g)	19.6	11	13.1	11	17.3	300
Fibra (g)	4.9	0.4	4.8	0.4	3.6	25
Ceniza (g)	1.0	0.7	0.7	0.7	1	
Ácido ascórbico (g)	0.43	0.2	-	0.28	-	0.6

Fuente:Ramírez,(2015)

2.2.1.4 Factores ecofisiológicos el aguaymanto (*Physalis peruviana* L.)

Cristobal & Cristobal, (2015) menciona que la uchuva se adapta fácilmente a condiciones “adversas” de crecimiento; crece sobre la corteza de árboles grandes o bajo condiciones de poca luz (por debajo de las mesas de propagación en invernadero), esta facilidad de adaptación y dispersión conllevó a clasificarla como una maleza, común en las tierras frías.

Temperatura

la temperatura de crecimiento se encuentra entre 13°C a 16 °C incluso llega a 18 °C. La temperatura óptima es de 18 °C La fruta puede soportar bajas temperaturas, pero sufre daños irreparables por debajo de 0 °C, su crecimiento es afectado si persisten temperaturas menores a 10 °C; temperaturas muy altas pueden perjudicar la floración y fructificación. La planta no tolera heladas fuertes porque afectan especialmente el crecimiento nuevo y tierno (ápices, hojas en desarrollo inicial, flores) de esta planta semileñosa. (Cristobal & Cristobal, 2015; Fischer, Almanza-Merchán, & Miranda, 2014).

Luz

Dentro de los factores ecofisiológicos, la radiación solar ocupa el primer lugar por su papel clave como fuente de energía que determina la producción de materia seca y el rendimiento de frutos de una planta. El aguaymanto crece en asociación con un bosque abierto, que produce una cierta sombra. Sin embargo, condiciones de menor luminosidad, como ocurre por ejemplo en invernadero, causan un mayor crecimiento longitudinal de las ramas en comparación con el cultivo al aire libre. La Uchuva crece demasiado exuberante si hay condiciones de una intensidad lumínica reducida (por ejemplo, bajo invernadero), es decir la planta se desarrolla mejor en plena luz (Cristóbal & Cristóbal, 2015 y Fischer, Almanza-Merchán, & Miranda, 2014).

Altitud

Cristobal & Cristobal, (2015); Ecograins, (2019) y Fischer, Almanza-Merchán, & Miranda, (2014) indican que el aguaymanto crece desde 1500 a 3000 msnm, con buen comportamiento entre 1800 a 2800 msnm, el óptimo entre 2400 y 2800 msnm por la poca incidencia de plagas y enfermedades y tamaño de frutos. También, con la altitud creciente de 2300 a 2690 msnm puede disminuir la concentración de sacarosa y de los sólidos solubles en el fruto del aguaymanto y de ácido ascórbico y los demás ácidos orgánicos (cítrico, málico y tartárico).

Agua

Para favorecer el desarrollo vegetativo y reproductivo de la planta, debe tener una precipitación de 1000 a 2000 mm, bien distribuidos a lo largo del año y su humedad al ser demasiado alta durante la época de cosecha deteriora el fruto y estanca el crecimiento. El fruto fresco de aguaymanto contiene un 80% de agua, se encoge y dilata durante el día al cambiar las relaciones hídricas de la planta (Cristobal & Cristobal, 2017).

Humedad relativa del ambiente

Cristobal & Cristobal, (2015) y Fischer *et al.*, (2014) indican que las humedades relativas están entre 70 y 80%; un exceso de HR favorece la propagación de enfermedades de hoja y cáliz. Un clima seco durante la maduración de la fruta considera el más adecuado, pero puede también perjudicar el desarrollo de nuevos frutos que necesitan buena humedad durante sus fases iniciales y de llenado.

2.2.1.5 Calidad del aguaymanto

Cristobal & Cristobal, (2015) sugieren que de acuerdo a la Norma Técnica Colombiana 4580 (1999) los requisitos mínimos para procesamiento y consumo deben ser de la siguiente manera: Los frutos deben ser enteros; debe tener la forma característica de la uchuva; el color debe ser homogénea dependiendo del estado de

madurez definido en la tabla de color; debe presentar aspecto fresco, consistencia firme y corteza liza y brillante, debe estar libre de daños mecánicos tales como cortes, punciones o magulladuras y sin ataque de insectos y/o enfermedades que demeriten la calidad del fruto, libres de humedad externa anormal producida por mal manejo en las etapas de pos cosecha (recolección, acopio, selección, clasificación, adecuación, empaque, almacenamiento y transporte), se debe encontrar exento de cualquier olor y/o sabor extraño provenientes de otros productos empaques o recipientes y/o agroquímicos con los cuales hayan estado en contacto, exentos de materiales extraños tales como tierra, polvo, agroquímicos y cuerpos extraños visibles en el producto o en su empaque; además el cumplimiento de las normas del Codex Alimentarius (incorporado a la legislación peruana), de las normas de HACCP, de las normas BPM, de las normas POES y aun de las normas ISO 9000 y 14000 constituye un requisito imprescindible para colocar productos alimenticios en el mercado internacional.

2.2.1.6 Producción del aguaymanto

Larreátegui & Espinoza, (2016) argumentan que el cultivo se encuentra principalmente asociado a zonas frías de las regiones andinas de Ancash, Huánuco, Junín, Ayacucho, Arequipa, Cajamarca y Cuzco. Además; el potencial del aguaymanto, está determinado por la variabilidad genética y su adaptación a condiciones tropicales y subtropicales; Sin embargo, este gran potencial se ve afectado por la condición silvestre de la fruta y por la falta de soporte tecnológico, dado que el desarrollo de esta especie como cultivo ha sido fundamentalmente de tecnología media, fruto del esfuerzo de los agricultores y empresarios. Donde se concluye que el rendimiento promedio nacional es 18,5 t/ha/año, el de los mejores productores es 25, el promedio de investigación es 30 t/ha/año, lo que demuestra que se debe hacer mayor investigación, incrementar la capacitación y mejorar la asistencia técnica en algunos casos. Se calcula que en el

Perú existen 720 hectáreas dedicadas al cultivo de aguaymanto, lo que significaría una producción promedio de 5760 tn (considerando un rendimiento promedio de 8tn/ha). Haciendo las conversiones del caso (fresco a deshidratado) y considerando las toneladas exportaciones realizadas en el 2012, se tiene que sólo el 6% de la fruta producida ha sido exportada. Los principales destinos de nuestras exportaciones en el 2013 fueron: Estados Unidos, que consumió un 31.26% de lo exportado; seguido por Alemania que adquiere un 17.74%; Francia con 11%; Australia con el 10%; Países Bajos con 8.9%; Reino Unido con 5.16%; Canadá con 3.48 y Otros países con 12.46%. Teniendo en cuenta que en el Perú la principal zona de producción de aguaymanto es Cajamarca, es aquí donde se inició su cultivo con una perspectiva comercial y asociativa, así mismo se han desarrollado investigaciones y se ha adaptado tecnología para el manejo agronómico del cultivo. Sin embargo, existen otras fuentes de producción en Huánuco, Ancash, Junín (Tarma) y Ayacucho.

Cajamarca que abarca más del 50% de las exportaciones en los últimos años tanto en fresco como en deshidratado y jaleas. El segundo departamento productor es cuzco, Lambayeque y Ayacucho que abarcan el resto de las exportaciones. Debido a que presenta buenas perspectivas e interés en los mercados internacionales, lo cual se deriva de las características nutricionales y propiedades medicinales que posee el fruto.

2.2.2. Biocombustibles

Young & Steffen, (2008) y Perales, (2015) definen a los combustibles como biomásas provenientes de materia orgánica de las actividades agrícola, pecuaria, silvícola, acuicultura, algacultura, residuos de la pesca, domésticas, comerciales, industriales, de microorganismos y de enzimas, así como sus derivados producidos por procesos tecnológicos sustentables. Los biocombustibles se pueden clasificar en tres grupos: bioetanol, biodiesel y biogás. Los biocombustibles se

clasifican en generaciones dependiendo de la materia prima empleada en su elaboración. En la Tabla siguiente, se presenta la clasificación por generación de combustible.

Tabla 3: clasificación por generación de combustible

Generación	Materia prima	Producto	Ventajas	Desventaja
Primera	Instintos alimenticios (caña de azúcar, remolacha, granos de maíz)	Etanol, metanol, diésel y biogás.	Facilidad de procesamiento, baja emisión de GEI.	Desvío de recursos alimenticios hacia la producción de bioenergéticos.
Segunda	Residuos agrícolas y forestales (bagazos de caña, sorgo).	Etanol, metanol, diésel e hidrógeno.	No existe desviación de alimentos hacia bioenergéticos.	Poca disminución de los GEI con respecto a la primera generación.
Tercera	Insumos vegetales no alimenticios (algas verdes, árboles)	Diésel y etanol	Utilización de CO ₂ para la producción de insumos.	Utilización de tierras para sembrar insumos.

Fuente: Young & Steffen, (2008); Perales, (2015).

2.2.3. Biomasa lignocelulósica

(Perales, 2015) Sostiene que La biomasa lignocelulósica es una matriz compuesta principalmente por esterres extraíbles, proteínas, carbohidratos, celulosa, hemicelulosa, lignina y material mineral. Es un heteropolímero complejo y el componente estructural de las plantas. Se encuentra en residuos agrícolas, industriales, forestales, municipales, pastos de crecimiento rápido, material vegetal del mar, y biomasa proveniente de zonas semiáridas. La energía almacenada en sus componentes, hacen de la lignocelulosa un compuesto con un enorme potencial biotecnológico, La celulosa, hemicelulosa y la lignina forman estructuras llamadas microfibrillas, organizadas en macrofibras que regulan la estabilidad de la pared celular de las plantas.

2.2.3.1 Celulosa

Enciclopedia, (2011); Perales, (2015) mencionan que la celulosa es un biopolímero ya que forma parte de estructuras biológicas vegetales. La celulosa es un polímero lineal cuya unidad estructural es la celobiosa,

formada por residuos de Dglucopiranosas unidas mediante un enlace β (1 \rightarrow 4). En la figura 1, se representan la estructura de la celulosa.

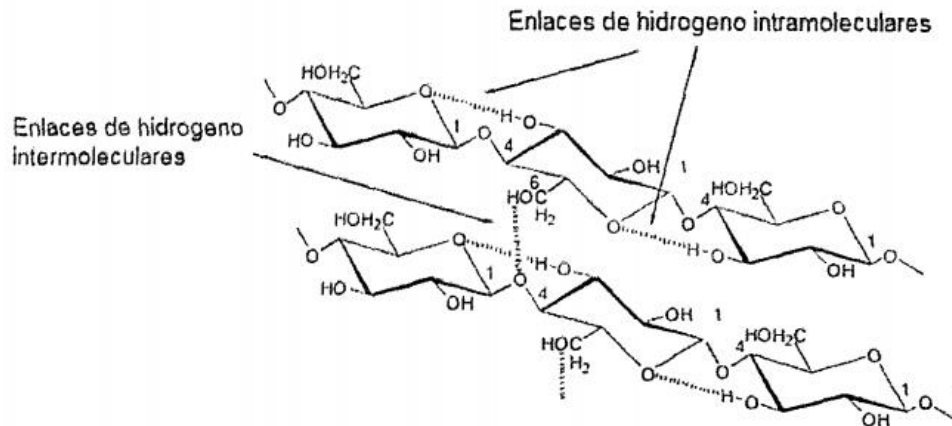


Figura 1. Estructura general de la celulosa.

Su estructura es altamente cristalina debido a la presencia de puentes de hidrógeno íter e intramoleculares que influyen en su morfología, rigidez, orientación, resistencia y reactividad. Las zonas de alta cristalinidad son difíciles de hidrolizar en sus unidades monoméricas, mientras que las zonas de menor cristalinidad, es decir amorfas, son accesibles y susceptibles a las reacciones químicas.

2.2.3.2 Hemicelulosa

(Perales, 2015), indica que la hemicelulosa es una estructura compleja de carbohidratos que consiste de diferentes polímeros, tales como: pentosas (xilosa y arabinosa), hexosas (glucosa, mañosa y galactosa), y ácidos urónicos. La cadena principal de xilana está compuesta de residuos de β -xilopiranosas unidos mediante un enlace β (1 \rightarrow 4). Se caracteriza por tener una configuración estructural amorfa y muy hidrofílica, por lo que es más accesible y fácil de hidrolizar que la celulosa. Los azúcares tipo C₆ son fácilmente fermentables a etanol, pero los microorganismos normalmente usados en la industria para obtener alcohol etílico no son capaces de metabolizar los azúcares de cinco átomos de carbono. A diferencia de la celulosa, la cual siempre tiene la misma estructura y composición, las de la hemicelulosa pueden variar ampliamente entre especies de plantas. Las cadenas poliméricas

individuales contienen de 50 a 100 unidades monoméricas de azúcares. Debido a que las cadenas de hemicelulosa no son lineales, tiene ramificaciones laterales y no tienen estructura regular, este polímero no es cristalino y es fácilmente hidrolizado.

2.2.3.3 Lignina

Lagunes-Fortiz, Zavaleta-Mejía, Lagunes-Fortiz, & Zavaleta-Mejía, (2016) y Perales, (2015) comentan que la lignina es un heteropolímero amorfo, tridimensional y ramificado formado por alcoholes aromáticos que da soporte estructural, rigidez, impermeabilidad y protección a los polisacáridos estructurales (celulosa y hemicelulosa) y es altamente resistente a la degradación química y biológica. Puede constituir del 15 al 25% de la biomasa lignocelulósica, esta composición varía en cada especie.

2.2.4. Conversión del material lignocelulósico a biocombustible

La conversión de la biomasa lignocelulósica a etanol se realiza en varias etapas; la primera es el pretratamiento, que tiene como objetivo disociar la conformación vegetal, solubilizar total o parcialmente la lignina y la hemicelulosa y reducir la cristalinidad de la celulosa. La segunda etapa es la hidrólisis de la celulosa, dando lugar a la recuperación de azúcares fermentables; la tercera es la fermentación de los monosacáridos vía biológica y la última es la obtención del etanol producido. En los siguientes apartados, se explica a detalle cada etapa del proceso (Perales, 2015).

2.2.4.1 Pretratamiento

«El Pretratamiento de la Biomasa—Plantas de Biomasa», (2013) y Perales, (2015) manifiestan que el pretratamiento está destinado a modificar las propiedades físicas y fisicoquímicas del material lignocelulósico, como pueden ser el grado de polimerización y el estado cristalino de la celulosa. Tiene como objetivo el rompimiento del escudo de lignina que limita la accesibilidad de las enzimas a la celulosa y hemicelulosa, y altera el tamaño y estructura para facilitar la hidrólisis

rápida y eficiente; puede llevarse a cabo mediante métodos físicos, químicos o biológicos. El éxito del pretratamiento se mide en función de la degradación de la lignina y la hemicelulosa como un indicador de la disociación de la matriz celulosa-lignina, la disminución de la cristalinidad y el aumento de la porosidad de la celulosa. De acuerdo con lo reportado el remanente líquido generado después de un pretratamiento puede ser filtrado para obtener dos fracciones: la parte sólida rica en celulosa y la fracción líquida rica en hemicelulosa conformada por xilosas, glucosas, galactosas y arabinosas. Existen diversos procesos para el pretratamiento de materiales lignocelulósicos, los cuales se describen en la tabla 4.

Tabla 4. Ejemplos de pretratamiento para materiales lignocelulósicos

Pretratamiento	Descripción
Físico	Reducción de tamaño de partícula para aumentar el área de superficie de hidrólisis.
Auto hidrólisis	Altas temperaturas (150 - 180 °C) y presión, la hemicelulosa y lignina comienzan a solubilizarse dejando a la celulosa más expuesta.
Químicos	Solubilizan la lignina y la hemicelulosa dejando a la celulosa expuesta para ser hidrolizada. Se emplean ácidos y/o bases.
Oxidativos	Se agregan agentes oxidantes como ácido acético, peróxido de hidrógeno u ozono, donde se afecta a la lignina y hemicelulosa.
Biológicos	Utilización de hongos y bacterias capaces de solubilizar la lignina y dejar expuesta la celulosa para ser hidrolizada.

Fuente: Perales (2015)

2.2.4.1.1 Pretratamientos físicos

Tienen como objeto reducir el grado de polimerización de la celulosa y la lignina, así como de aumentar la superficie accesible para los enzimas. Suelen ser ineficaces y poco rentables, como pueden ser la molienda y las técnicas de irradiación (Perales, 2015; Villalobos, 2010).

2.2.4.1.2 Hidrólisis a presión o autohidrólisis.

Perales, (2015) menciona que la hidrólisis a presión consiste en calentar el material lignocelulósico con agua bajo fuerte presión. El proceso es similar al de una simple autoclave (proceso discontinuo) y permite la solubilización completa de la hemicelulosa y una

solubilización significativa de la lignina. Es una técnica interesante ya que conduce a rendimientos de hidrólisis elevados y minimiza la formación de productos de degradación. A pesar de ello, no se conoce ninguna aplicación industrial.

2.2.4.1.3 Pretratamientos químicos.

Perales, (2015) y Villalobos, (2010) menciona que dentro de los pretratamientos químicos tenemos:

- **Pretratamientos en medio alcalino.** Los pretratamientos alcalinos son realizados mediante el uso de bases tales como hidróxido de sodio, potasio, calcio y amonio, los cuales son eficaces en la alteración de la estructura de la lignina, por lo tanto, aumenta la accesibilidad enzimática a la celulosa y hemicelulosa y aumenta el tamaño del poro lo que facilita la difusión de las enzimas hidrolíticas. Suelen llevarse a cabo con NaOH al 8-12% (p/p), en el rango de 80-120°C y durante 30-60

minutos. Presentan algunas desventajas como son las pérdidas inevitables de un 30 a un 35% de la materia seca inicial.

- **Pretratamientos con ácido diluido.** Los ácidos como el H₂SO₄ y HCL concentrados son poderosos agentes que hidrolizan la celulosa, pero son tóxicos, corrosivos y peligrosos por lo que requieren reactores que resistan su corrosión. Estos pretratamientos se llevan a cabo comúnmente con ácido sulfúrico diluido, en proporción del 1 al 3% en relación a la biomasa lignocelulósica seca. Las temperaturas y los tiempos de pretratamiento varían según las técnicas utilizadas. El objetivo de este pretratamiento es aumentar la superficie de la celulosa accesible a los enzimas, gracias a la extracción de la fracción hemicelulósica, Sin embargo, tienen poco efecto sobre el grado de cristalinidad de la celulosa.

2.2.4.1.4 Pretratamientos biológicos.

Arnaiz, Isac, & J, (2000) y Perales, (2015) señalan los principales organismos que descomponen la lignina pertenecen al grupo de los

hongos. Estos degradan los polímeros de la madera, incluyendo los componentes de la lignina, mediante la secreción de enzimas extracelulares. Las ventajas de la deslignificación biológica sobre otros métodos incluyen las leves condiciones de reacción, mayor rendimiento por producto y pocas reacciones laterales, menos demanda de energía y menos resistencia en el reactor a la presión y la corrosión. Sin embargo, la velocidad de hidrólisis en la mayoría de los procesos de pretratamiento biológico es muy baja y la dificultad de controlar las condiciones de operación hace que no se conozcan ensayos a una escala superior al nivel de laboratorio.

2.2.4.2 Hidrólisis química y enzimática

Perales, (2015) y Villalobos, (2010) comentan que la hidrólisis o sacarificación se refiere a los procesos que convierten los polisacáridos en azúcares monoméricos. La hidrólisis química suele realizarse comúnmente utilizando ácidos, se han empleado ácidos sulfúrico y clorhídrico concentrados, con la desventaja de ser tóxicos, corrosivos y peligrosos; y además requieren de reactores que sean resistentes a la corrosión, lo cual da como resultado un proceso muy costoso. Además, los ácidos deben recuperarse para hacer el proceso económicamente viable. En la hidrólisis enzimática, la sacarificación de la celulosa se lleva a cabo enzimáticamente mediante celulasas, las cuales producen la ruptura de las cadenas poliméricas de la celulosa y la hemicelulosa, que previamente han sido modificadas estructuralmente en el pretratamiento. A partir de la celulosa se obtiene glucosa, mientras que a partir de la hemicelulosa se obtienen diferentes monosacáridos, tales como xilosa, glucosa, arabinosa, galactosa y manosa, entre otros. La principal ventaja de la hidrólisis enzimática sobre la química, es que la enzimática no presenta problemas de corrosión. La hidrólisis enzimática es un método específico, realizado en condiciones relativamente suaves (50°C), que permite rendimientos de hidrólisis superiores a los obtenidos por vía química. El procedimiento más

común consiste en poner en contacto la disolución de enzima con la muestra del sustrato lignocelulósico previamente pre tratado, manteniendo el pH, la temperatura y la homogeneidad de la mezcla durante todo el proceso. Una vez determinadas las condiciones óptimas de pH y temperatura, las posibilidades de optimización son bastante limitadas. Los factores que afectan la hidrólisis enzimática de la celulosa incluyen: el tipo de sustrato, la actividad celulasa y las condiciones de reacción: temperatura y pH.

2.2.4.2.1 Microorganismos productores de celulasas

Las enzimas celulasas son producidas por una variedad de bacterias y hongos aeróbicos o anaerobios, mesófilos o termófilos. Sin embargo, sólo algunos de ellos producen enzima celulasa extracelular capaz de hidrolizar celulosa, los sistemas enzimáticos de los microorganismos celulíticos exhiben un fenómeno muy particular, presentan sinergismo como estrategia al degradar residuos de lignocelulosa. El consorcio enzimático celulítico se puede obtener por vía fúngica mediante la inducción del hongo filamentoso *Trichoderma*, ya que se ha reportado a este género como productor de celulasas. *Triciwdenna reesei* se caracteriza por la efectividad que tiene en la degradación de la celulosa nativa y cristalina con el complejo celulítico que produce y secreta, el cual presenta las tres actividades necesarias para la hidrólisis de la celulosa (Gutiérrez-Rojas, Moreno-Sarmiento, & Montoya, 2015).

2.2.4.2.2 Actividad enzimática: celulasas

Según Gutiérrez-Rojas *et al.*, (2015) la complejidad de la biomasa lignocelulósica impide que pueda ser hidrolizada por una sola enzima. La hidrólisis enzimática mediante una celulasa requiere de la acción combinada de tres diferentes tipos de actividades:

-Las endoglucanasas cortan de manera aleatoria al interior de la cadena de celulosa enlaces β -(1, 4) de glucosa generando oligosacáridos de varias longitudes y consecuentemente nuevos extremos reductores.

-Las exoglucanasas o celibiohidrolasas, actúan de manera progresiva en extremos reductores y no reductores de la cadena de celulosa, liberando glucosa y celobiosa (disacáridos de glucosa).

-Las β -glucosidasas hidrolizan celobiosa y productos de cadena corta en monómeros de glucosa.

La afinidad de las celulasas hacia el sustrato lignocelulósico depende de las características del mismo, incluyendo el contenido de lignina y hemicelulosa, la porosidad, la cristalinidad y el grado de polimerización de la celulosa. El contenido de lignina es determinante en el rendimiento de la hidrólisis, debido a que bloquea el acceso de las celulasas por impedimento estérico causado por los enlaces lignina - carbohidratos y por la naturaleza hidrofóbica de la lignina que rechaza la acción hidrofílica de las enzimas. Por lo tanto, la degradación de la lignina es determinante en el rendimiento de la hidrólisis enzimática.

2.2.4.3 Fermentación

Perales, (2015); Vázquez & Dacosta, (2007) indican que la fermentación alcohólica es un proceso biológico de fermentación que ocurre en ausencia de aire, originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono para obtener como productos finales: un alcohol en forma de etanol, dióxido de carbono en forma de gas y tinas moléculas de ATP. Las hexosas son monosacáridos formados por una cadena de seis átomos de carbono. Su fórmula general es $C_6H_{12}O_6$ Su principal función es producir energía. Un gramo de cualquier hexosa produce unas 4 kilocalorías de energía. Las más importantes desde el punto de vista biológico son: glucosa, galactosa y fructosa. El balance global de la fermentación alcohólica es el siguiente:



El rendimiento teórico estequiométrico para la transformación de glucosa en etanol es de 0.511 g de etanol y 0.489 g de CO_2 ; por 1g de

glucosa. Este valor fue cuantificado por Gay Lussac. En la realidad es difícil lograr este rendimiento, porque la levadura utiliza la glucosa para la producción de otros metabolitos. La fermentación alcohólica de D-glucosa se lleva a cabo a través de la vía de EmbdenMeyerhoff-Parnas (EMP). En esta vía, D-glucosa se fosforila a D-glucosa-6-fosfato y después es isomerizada a D-fructosa-6-fosfato, por medio de las enzimas hexoquinasa y fosfohexoisomerasa, respectivamente, para acabar degradada en píruvato. La descarboxilación del píruvato a acetaldehído y la reducción de éste a etanol. El píruvato se transforma en acetaldehído por la acción de la enzima píruvatodescarboxilasa con liberación de CO₂; Posteriormente, el acetaldehído se transforma en etanol por la acción de la enzima alcohol deshidrogenasa. Durante la fermentación alcohólica también se producen otros subproductos fermentativos y sobre todo biomasa a partir de los azúcares. Su producción siempre es pequeña en comparación con la cantidad de azúcares transformados en etanol y gas carbónico. Algunos de estos metabolitos secundarios son los siguientes: glicerol, ácidos orgánicos, esteroides, y compuestos azulfurados.

2.2.4.3.1 Levaduras

Perales, (2015); vinetur.com, (2012) comentan que los azúcares obtenidos de la hidrólisis son fermentados por microorganismos etanolgénicos. Las levaduras son los microorganismos de mayor uso en la producción de etanol, debido a su productividad, baja producción de inhibidores y facilidad de separación después de la fermentación. En dichos procesos se emplean levaduras de los géneros *Candida (seudotropicalis)*, *Saccharomyces (cerevisiae, ellipsoidicus, ananiensis, carlsbergensis)* y *Kluyveromyces marxianus y fragilis*, que además de altas eficiencias, son capaces de trabajar a temperaturas superiores a los 40°C. En la tabla 4 se describen algunos géneros de levaduras y bacterias que tienen la cualidad de fermentar azúcares en alcohol y también los sustratos a los que presentan mayor afinidad.

Tabla 5. Bacterias y Levaduras productoras de etanol y sus respectivos sustratos.

LEVADURA	SUSTRATO
Saccharomyces Spp. S. cerevisiae	glucosa,fructuosa,galactosa,maltosa,maltotriosa,xilulosa
<i>S. carisbergensis</i>	glucosa,fructuosa,galactosa,maltosa,maltotriosa,xilulosa
<i>S. rouxii (osinfilica)</i>	glucosa,fructuosa,galactosa,maltosa,sacarosa
Kluyveromyces spp. K. fragilis k.lactis	glucosa, galactosa,lactosa glucosa,galactosa,lactosa
Candida spp. C.pseudotropicalis C.tropicalis	glucosa,galactosa,lactosa glucosa,xilosa,xilulosa
BACTERIAS	SUSTRATO
<i>Zymomonas mobilis</i>	glucosa,fructuosa,sacarosa
Clostridium spp. <i>C.thermocellum (termofilica)</i> <i>C.thermoanaerobiumn (termofilica)</i> <i>thermoanaerobiumn brockii (termofilica)</i>	glucosa,celobiosa,celulosa glucosa,xilosa,sacarosa,celobiosa,almidon glucosa,sacarosa,maltosa,lactosa,celobiosa,almidon
<i>Thermobacteroides acetoethylicus (termofilica)</i>	glucosa,sacarosa,celobiosa

Fuente: Perales, (2015) y vinetur.com, (2012)

Saccharomyces cerevisiae

Gualtieri A *et al.*, (2007) y Perales, (2015) comentan que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es el microorganismo convencional para la fermentación de azúcares derivados de celulosa. Las cepas silvestres de *S. cerevisiae* pueden fermentar glucosa, manosa y fructosa, así como los disacáridos sacarosa y maltosa a través de la glucólisis. Las cepas de *Saccharomyces* son responsables de la mayoría de las producciones industriales por fermentación. Las *Saccharomyces* sintetizan la glucosa por la ruta de glicólisis hacia altas concentraciones de etanol y dióxido de carbono. Solo dos ATPs son producidos por mol de glucosa metabolizada, y las células de levaduras las usan para su crecimiento. La inoculación de la fermentación alcohólica requiere un paso previo de propagación celular bajo condiciones aeróbicas para promover la formación de biomasa. La presencia de azúcares

asimilables superiores a 0.16 g/L conduce invariablemente a la formación de alcohol en el proceso de crecimiento de levaduras de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, aun en presencia de exceso de oxígeno. Éste es el denominado efecto Crabtree; Sin embargo, algunas de las enzimas involucradas en la ruta fermentativa son del tipo inducible y, por tanto, su activación requerirá de cierto tiempo antes de alcanzar la concentración necesaria para una bioinversión eficiente de los azúcares en etanol bajo condiciones de anaerobiosis.

Kluyveromyces lactis

El interés por *Kluyveromyces lactis* se debe a su metabolismo de lactosa. La habilidad de esta levadura para metabolizar este disacárido resulta de la presencia de lactosa permeasa y (3-galactosidasa. El azúcar es hidrolizado en glucosa (a la glucólisis) y galactosa (ruta de Leloir). Se han reportado en diversos trabajos la producción de etanol a partir del suero de leche utilizando *K. lactis* para la fermentación. Bajos niveles de oxígeno favorecen el metabolismo fermentativo de estas células para producir etanol, esto debido a que estas células tienen un metabolismo orientado a la respiración, *Kluyveromyces lactis* es una levadura aeróbica respiratoria. Una diferencia importante entre las especies de *Kluyveromyces* y *S. cerevisiae* es la represión catabólica (represión por glucosa), algunas cepas de *Kluyveromyces* pueden ser reprimidas por glucosa, pero aun cuando esto ocurre, esta es menos marcada que en las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (Perales, 2015).

2.3. BASES CONCEPTUALES

- **Aguaymanto:** *Physalis peruviana* L. (aguaymanto, uchuva o ushun), perteneciente a la familia *Solanaceae*, es un fruto silvestre oriundo de los andes sudamericanos, está compuesto de carbohidratos (19,6 g/100 g) como fructosa, sacarosa y polisacáridos (celulosa, almidón, hemicelulosa y pectina); proteínas (0,05-0,3 g/100 g), lípidos (0,150,2 g/100 g), fósforo, calcio, hierro, potasio, ácido ascórbico, β -caroteno,

provitamina A y complejos de vitamina B. Es importante resaltar a la pectina, principal fibra dietética (4,9 g/100 g), pues se ha demostrado que su consumo presenta beneficios para la salud, posee propiedades anticancerígenas y contribuye a disminuir los niveles de glucosa y colesterol en sangre, sin afectar el colesterol HDL o los triglicéridos (Reyes-Beltrán et al., 2015).

- **Cáliz de aguaymanto:** Es la envoltura o cáscara del fruto, que tiene forma de un capullo, tiene una textura como el papel, pero no es comestible («Propiedades y beneficios medicinales del aguaymanto para la salud», 2015).

- **Bioetanol:** es un producto químico obtenido a partir de la fermentación de los azúcares que se encuentran en los productos vegetales, tales como cereales, remolacha, caña de azúcar, sorgo o biomasa («Bioetanol—Plantas de Biomasa», 2013).

- **Material lignocelulósico:** La lignocelulosa es el principal componente de la pared celular de las plantas, esta biomasa producida por la fotosíntesis es la fuente de carbono renovable más prometedora para solucionar los problemas actuales de energía y materias primas (Villalobos, 2010).

- **Hidrólisis enzimática:** Es un proceso controlado, mediante la inactivación de enzimas, se elabora en condiciones moderadas, evitando excesos en las variables de proceso que afecten los productos ya sea temperatura, PH (Villalobos, 2010).

- **Celulosa:** Es el principal componente de las paredes celulares de los árboles y otras plantas. Es una fibra vegetal que al ser observada en el microscopio es similar a un cabello humano, cuya longitud y espesor varía según el tipo de árbol o planta (Perales, 2015).

- **Celulasa:** Es una enzima compleja especializada en descomponer celulosa, transformándola en múltiples monómeros de glucosa. Es producida con leves diferencias químicas por los integrantes del reino de los Hongos y el de las Bacterias. Los cuales son los mayores

descomponedores del planeta (Medina, Nuñez, & Ordoñez, 2010).

- **Lignina:** Es un polímero aromático de estructura tridimensional, compleja, ramificada y amorfa (Ramos, Alpírez, Beleño, & Palomar, 2015).

- **Hemicelulosa:** Es una estructura compleja de carbohidratos que consiste de diferentes polímeros, tales como: pentosas (xilosa y arabinosa), hexosas (glucosa, mañosa y galactosa), y ácidos urónicos (Perales, 2015).

- **Fermentación:** La fermentación alcohólica es una bioreacción que permite degradar azúcares en alcohol y dióxido de carbono (Vázquez & Dacosta, 2007).

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1 ÁMBITO

El siguiente proyecto denominado “**obtención de bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto**”, fue realizado en la ciudad de Huánuco, provincia de Huánuco.

3.2 POBLACIÓN

Se determinó por la cantidad de cáliz de aguaymanto obtenido de las diferentes empresas productoras de aguaymanto de la ciudad de Huánuco, que fue de 22 kg.

3.3 MUESTRA

Se trabajó con 22 kg de cáliz de aguaymanto en fresco; con el proceso de secado se redujo a 11 kg, este fue llevado al molino y se redujo a 10 kg, de manera que se trabajó con esta cantidad para los diversos análisis que se hicieron durante la investigación.

3.4 NIVEL Y TIPO DE ESTUDIO

3.4.1. Nivel de estudio

El nivel de estudio que se considero fue experimental

3.4.2. Tipo de estudio

El tipo de estudio es aleatoria simple (descriptiva, explicativa).

3.5 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Para efecto de la investigación se considera el Diseño Completamente al Azar (DCA).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad \begin{array}{l} i = 1, 2, 3, \dots, t \\ j = 1, 2, 3, \dots, n \end{array}$$

Donde:

Y_{ij} = Obtención de etanol

μ = Media general

T_i = Tratamiento de hidróxido de sodio

E_{ij} = Error aleatorio

3.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

3.6.1 Técnicas

- La técnica que se utilizó para la recolección de los datos fueron los apuntes.

3.7 PROCEDIMIENTO

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DEL CÁLIZ DE AGUAYMANTO. A continuación, se detallarán los pasos a seguir.

- OBTENCIÓN DEL CÁLIZ DE AGUAYMANTO

El cáliz de aguaymanto se obtuvo de las diferentes empresas productoras de aguaymanto de la ciudad de Huánuco, provincia de Huánuco.

- SECADO

El cáliz se secó a una temperatura de 40 ° C, por un tiempo de 3 horas.

- MOLIDO

El cáliz tuvo que pasar por el molino para reducir el tamaño de las partículas. Donde se pasó por un tamiz de número de malla de 100, que tiene una abertura de 0.149 mm.

- PRETRATAMIENTO

El cáliz de aguaymanto se trató con soluciones de diferentes concentraciones de hidróxido de sodio al 10%, 15% y 20 %.

- HIDRÓLISIS

Se utilizó la enzima celulasa de 5 KU para el proceso de hidrólisis, que se expresó en μmol glucosa/minuto.

- FERMENTACIÓN

Se utilizó la levadura *Sacharomices Sereviciae* para la fermentación; donde se expresó en g/L. Durante un tiempo de 15 días.

- DESTILACIÓN

Se destilo a nivel laboratorio, a una temperatura de 150 °C, por un tiempo de 3 horas.

- OBTENCIÓN DE BIOETANOL

Se obtuvo el rendimiento de alcohol a partir del cáliz de aguaymanto. Expresado en g/L.

3.8. TABULACIÓN

Se utilizó la estadística experimental. El análisis se realizó con el programa Excel y software estadístico Statgraphics Centurion XVI.II.

3.9. ANÁLISIS DE DATOS

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICO DEL CÁLIZ DE AGUAYMANTO

Se consideró los siguientes análisis de caracterización del cáliz de aguaymanto, que veremos a continuación:

Humedad. Los métodos de secado son los más comunes para valorar el contenido de humedad en los alimentos; se calcula el porcentaje en agua por la pérdida en peso debida a su eliminación por calentamiento bajo condiciones normalizadas. Aunque estos métodos dan buenos resultados que pueden interpretarse sobre bases de comparación, es preciso tener presente que: algunas veces es difícil eliminar por secado toda la humedad presente, a cierta temperatura el alimento es susceptible de descomponerse, con lo que se volatilizan otras sustancias además de agua, también pueden perderse otras materias volátiles aparte de agua (García & Fernández, 2012).

Fibra. La fibra puede ser clasificada en dos grupos, fibra soluble y fibra insoluble. Para la determinación de cada uno de las clasificaciones se emplean diferentes métodos cuantitativos, ya que hay unos que identifican y cuantifican cada una de las fracciones de la fibra bruta (insolubles), otros de la fibra total (soluble e insoluble). Al hablar de fibra bruta se hace referencia al residuo orgánico combustible o insoluble generado después de someter la muestra en determinados tratamientos sucesivos con petróleo ligero, ácido sulfúrico diluido hirviente, hidróxido de sodio diluido hirviente, ácido clorhídrico diluido, en alcohol y éter. Dejando así el residuo el cual contiene celulosa,

lignina y hemicelulosa, (Cristobal & Cristobal, 2017).

Cenizas. Para la determinación de cenizas se sigue el método de la AOAC Determinación de cenizas. Se calcina/incinera la muestra tras su desecación, a 550°C en el horno mufla y se calcula el residuo de incineración por diferencia de peso. Los equipos y reactivos utilizados son: Balanza analítica, Horno Mufla, Desecador, pinzas y crisoles. Los resultados se expresan como porcentaje de cenizas calculado según la expresión siguiente: %Cenizas = [(Peso final – Peso inicial)/Peso muestra] x 100 (Morillas & Delgado, 2012).

HIDRÓLISIS DEL CÁLIZ DE AGUAYMANTO

Se consideró la determinación de azúcares reductores para el proceso de hidrólisis del cáliz de aguaymanto.

Azúcares reductores. El método empleado para la determinación de azúcares reductores fue el método DNS.

FERMENTACIÓN DEL CÁLIZ DE AGUAYMANTO HIDROLIZADO

Se destilo, para que finalmente se obtenga el rendimiento de etanol del cáliz de aguaymanto, que veremos a continuación:

Rendimiento de etanol. Las levaduras empleadas en la fermentación, son los microorganismos de mayor uso en la producción de etanol, debido a su productividad. En dichos procesos se emplean levaduras de los géneros *Candida (seudotropicalis)*, *Saccharomyces (ceresviceae, ellipsoideus, anamensisi, carlsbergensis)* y *Kluyveromyces marxianus y fragilis*, que además de altas eficiencias, son capaces de trabajar a temperaturas superiores a los 40°C. Otras son *Candida bytyrii*, *Pichia stipitis*, *Schizosaccharomyces pombe* y *Pichia membranaefaciens*. Las materias primas (biomasas como la paja de trigo o la cebada) se muelen y limpian en la fase preparatoria, y después se pretratan. La biomasa pretratada pasa al proceso de hidrólisis, para fraccionar los azúcares que serán seguidamente fermentados por una levadura para obtener etanol y dióxido de carbono (Riaño et al., 2010).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

Se realizaron los siguientes análisis:

- CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICO DEL CÁLIZ DE AGUAYMANTO

Tabla 6. Determinación de humedad, ceniza y fibra del cáliz de aguaymanto

TRATAMIENTOS	HUMEDAD (%)	CENIZA (%)	FIBRA (%)
Cáliz de aguaymanto fresco	9,72 ± 0,45 ^b	-	-
Cáliz de aguaymanto seco molido	7,68 ± 0,09 ^a	6,19 ± 0,11 ^d	28,90 ± 0,75 ^c
Cáliz de aguaymanto seco molido pretratado con diferentes porcentajes de NaOH	10%	-	3,54 ± 0,16 ^c
	15%	-	7,13 ± 0,15 ^b
	20%	-	2,86 ± 0,10 ^b
		-	6,83 ± 0,59 ^b
		-	1,95 ± 0,30 ^a
		-	5,34 ± 0,44 ^a

Resultados expresados como promedio ± desviación estándar. Letras en superíndice representan diferencias estadísticas y se lee en vertical.

En la tabla 6, se presenta el porcentaje de humedad promedio del cáliz de aguaymanto fresco igual $9,72 \pm 0,45$ en comparación con el cáliz de aguaymanto seco molido que fue de $7,68 \pm 0,09$, donde hubo diferencia significativa; debido a la pérdida del contenido de agua en el cáliz de aguaymanto.

De igual modo en la tabla 6, se muestra el porcentaje promedio de cenizas del cáliz de aguaymanto seco molido igual a $6,19 \pm 0,11$, mientras que en el cáliz de aguaymanto seco molido pretratado con 10% NaOH fue de $3,54 \pm 0,16$, 15% NaOH igual a $2,86 \pm 0,10$ y 20% NaOH fue igual a $1,95 \pm 0,30$, mostrando claramente que hay

diferencias significativas entre ellos, lo que demuestra que si hubo presencia de minerales en el cáliz de aguaymanto.

El porcentaje promedio de fibra del cáliz de aguaymanto seco molido, que nos muestra la tabla 6, fue igual a $28,90 \pm 0,75$, en cambio el cáliz de aguaymanto seco molido pretratado con 10% NaOH fue de $7,13 \pm 0,15$, 15% NaOH igual a $6,83 \pm 0,59$ y 20% NaOH fue igual a $5,34 \pm 0,44$, de modo que, hubo diferencias significativas entre ellos, a excepción de 10% y 15% de NaOH entre estos dos no hubo diferencias significativas. Se ve claramente que en el cáliz de aguaymanto si funciono el pretratamiento ya que reduce el porcentaje de fibra que tubo inicialmente.

- HIDRÓLISIS DEL CÁLIZ DE AGUAYMANTO

En la tabla 7, se muestra los resultados de los análisis de azúcares reductores realizados al cáliz de aguaymanto.

Tabla 7. Contenido de azúcares reductores del cáliz de aguaymanto

TRATAMIENTOS		AZÚCARES REDUCTORES (mg/ml)
Cáliz de aguaymanto seco molido		$0,54 \pm 0,01^a$
Cáliz de aguaymanto seco molido pretratado	10% NaOH	$0,04 \pm 0,00^f$
	15% NaOH	$0,05 \pm 0,00^e$
	20% NaOH	$0,07 \pm 0,00^d$
Cáliz de aguaymanto seco molido pretratado e hidrolizado con enzima Celulasa de 0,2 mg/ml.	10% NaOH	$0,07 \pm 0,01^d$
	15% NaOH	$0,08 \pm 0,00^c$
	20% NaOH	$0,10 \pm 0,00^b$

Resultados que son expresados como, promedio \pm desviación estándar. Letras en superíndice representan diferencias estadísticas y se lee en vertical. El hidrolizado con enzima, se realizó a 0,2 mg/ml, por 24 h a Temperatura de 45 °C y un Ph de 4,5.

En la tabla 7, se da a conocer la cantidad promedio de azúcares reductores presentes en el cáliz de aguaymanto seco molido, expresado en mg/ml que fue de $0,54 \pm 0,01$ con respecto al cáliz de aguaymanto seco molido pretratado y cáliz de aguaymanto seco molido pretratado e hidrolizado.

- FERMENTACIÓN DEL CÁLIZ DE AGUAYMANTO HIDROLIZADO

En la tabla 8, se muestra los resultados del etanol obtenido a partir del cáliz de aguaymanto.

Tabla 8. Rendimiento de etanol a partir de cáliz de aguaymanto hidrolizado, mediante destilación.

TRATAMIENTOS		ETANOL (g/L)
Cáliz de aguaymanto seco molido		$10,11 \pm 0,46^a$
Cáliz de aguaymanto seco molido pretratado e	10% NaOH	$3,96 \pm 0,76^c$
	15% NaOH	$6,17 \pm 0,51^b$
hidrolizado con la enzima Celulaza	20% NaOH	$8,91 \pm 0,83^a$

Resultados expresados como promedio \pm desviación estándar. Letras en superíndice representan diferencias estadísticas y se lee en vertical.

En la tabla 8, se muestra la cantidad de alcohol obtenido del cáliz de aguaymanto seco molido pretratado hidrolizado al 20% de NaOH con un rendimiento promedio igual a $8,91 \pm 0,83$ en comparación con los otros dos tratamientos de 10 y 15% de NaOH que tuvieron $6,17 \pm 0,51$ y $3,96 \pm 0,76$ sucesivamente; todo esto expresado en g de etanol/L.

4.2. ANÁLISIS INFERENCIAL Y/O CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

Según las hipótesis planteada, se contrasta lo siguiente que, si se pudo analizar y obtener etanol a partir del cáliz de aguaymanto, ya que se identificó de todos los pretratamientos planteados de (10,15 y 20 % de NaOH), donde la mejor concentración de Hidróxido de Sodio (NaOH) fue el pretratamiento de 20% de NaOH y además se pudo hidrolizar el

cáliz de aguaymanto, previo a ello se determino el proceso de fermentación del hidrolizado del cáliz de aguaymanto por lo que se llegó a obtener etanol.

4.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Según los resultados obtenidos, el contenido de humedad varió estadísticamente ($p < 0.05$) entre el estado fresco y seco molido debido a la eliminación de agua por efecto del calor. En comparación con otros materiales lignocelulosicos el porcentaje de humedad varía de acuerdo al material lignocelulosico que se está utilizando y varía de acuerdo al estado de madurez; es decir son características propias de las plantas (Cristobal & Cristobal, 2017).

Mediante los resultados reportados del contenido de ceniza muestran que si hubo variaciones ($p < 0.05$) entre el cáliz de aguaymanto seco molido y el cáliz de aguaymanto seco molido pretratado de (10,15 y 20 % de NaOH). Esta presencia de minerales va a repercutir en la planta del cáliz de aguaymanto seco molido porque posiblemente se le haya dado un manejo agronómico con agroquímicos. La presencia de minerales se debe al manejo agronómico que se le da a la planta en cada lugar de procedencia como la cantidad de fertilizante que es agregado a la planta y su retención y asimilación, así como la calidad del suelo y la capacidad de absorción de nutrientes, minerales y otros (Cristobal & Cristobal, 2017; Riaño et al., 2010).

En los resultados se observa, el contenido de fibra, que si varían estadísticamente ($p < 0.05$) entre el cáliz de aguaymanto seco molido y el cáliz seco molido pretratado en las diferentes concentraciones de (10,15 y 20 % de NaOH). Y encontramos que la aplicación de NaOH al 20% de NaOH es el más efectivo ya que reduce en mayor proporción el contenido de fibra; además se puede ver que a mayor concentración de NaOH se reduce el contenido de fibra. La cantidad de fibra presente en

un material lignocelulósico depende de las condiciones climáticas y del terreno donde se hayan generado (Riaño et al., 2010).

Según los resultados obtenidos, el contenido de azúcares reductores vario estadísticamente ($p < 0.05$) entre el cáliz de aguaymanto seco molido con respecto al cáliz de aguaymanto seco molido pretratado y cáliz de aguaymanto seco molido pretratado e hidrolizado. Cuando se trabaja con un desecho agroindustrial hay que tener en cuenta que la fibra está conformada por celulosa, lignina y hemicelulosa, para que la enzima trabaje mejor hay que realizar pretratamientos ya sean físicos, autohidrólisis, químicos, oxidativos y biológicos, en esta investigación se hace un pretratamiento con una base que es el hidróxido de sodio y posiblemente sea el pretratamiento que está afectando a la celulosa directamente, de tal modo las enzimas no tienen suficiente celulosa y por lo tanto hay baja presencia de azúcares en el cáliz de aguaymanto seco molido pretratado y en el cáliz de aguaymanto seco molido pretratado e hidrolizado. La biomasa lignocelulósica presenta una estructura compleja, cuya fracción mayoritaria es la celulosa, este polisacárido está formado por largas cadenas de glucosa unidas entre sí por enlaces β (1-4) que a su vez se agrupan en estructuras superiores de gran cristalinidad, lo cual dificulta el proceso de hidrólisis enzimática por lo que es necesario realizar pretratamientos de la biomasa (Chauca et al., 2017).

Según los resultados obtenidos, el rendimiento de etanol, vario estadísticamente ($p < 0.05$) entre el cáliz de aguaymanto seco molido pretratado e hidrolizado de concentración de 20% de NaOH, con los otros dos pretratamientos la de 10 y 15 % de NaOH. Posiblemente el bajo rendimiento de alcohol, se deba a que no hay demasiada celulosa en el cáliz pretratado; por ende, las enzimas no actúan como debe ser, hay poca presencia de azúcares y por ello las levaduras no tienen mucho alimento, lo que genera bajo rendimiento de etanol. La fermentación alcohólica es un proceso biológico de fermentación en

plena ausencia de aire, originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (por regla general azúcares: como pueden ser por ejemplo la glucosa, la fructosa, la sacarosa, el almidón, etc.) para obtener como productos finales: un alcohol en forma de etanol, dióxido de carbono en forma de gas y unas moléculas de ATP que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico; la tecnología más estudiada en la actualidad para la producción de etanol de biomasa es la hidrólisis enzimática, siendo el proceso de sacarificación y fermentación simultánea la alternativa más eficiente; además los jugos dulces ya extraídos pierden 20 % de su contenido de azúcares fermentables en 3 días a temperatura ambiente y de 40-50 % en 7 días. Otros aspectos afectados son la disminución del pH, el aumento en la acidez total y en la cantidad de azúcares reductores. Por lo que se origina la presencia de acetato de etilo, acetaldehído y carbonato de etilo en los jugos dulces teniendo un efecto negativo en la fermentación, lo que produce rendimientos bajos (Riaño et al., 2010).

4.4. APORTE DE LA INVESTIGACIÓN

- Se obtuvo etanol a partir del cáliz de aguaymanto. Donde se buscó utilizar un desecho agroindustrial, en este caso el cáliz de aguaymanto que hoy en día las industrias tienden a desecharlo ya sea votándole a la basura o quemándole; generando así una contaminación al medio ambiente; es por ello que se planteó la obtención de bioetanol a partir de cáliz de aguaymanto; de manera que se pueda utilizar el desecho y obtener etanol de segunda generación.

CONCLUSIONES

Luego de concluir la investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

- Se logró obtener los parámetros óptimos de bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto (materia considerado como residuo agroindustrial) con $8,91 \pm 0,83$ g de etanol/L.
- La mejor concentración de Hidróxido de sodio (NaOH) fue la de 20%, ya que tuvo mejor efecto para hidrolizar la celulosa y obtener azúcares reductores.
- El proceso de fermentación del hidrolizado del cáliz de aguaymanto para producir bioetanol se dio cuando los azúcares reductores formados por la hidrólisis del cáliz de aguaymanto fueron fermentados por las levaduras, obteniendo etanol hasta un máximo de $8,91 \pm 0,83$ g de etanol/L y este se dio en 15 días de fermentación.

RECOMENDACIONES O SUGERENCIAS

- Se recomienda utilizar la concentración de Hidróxido de sodio (NaOH) de 20% porque se obtiene mayor rendimiento de etanol, en comparación con los otros pretratamientos realizados.
- Se recomienda realizar los análisis completos de fibra, para saber cuánto de lignina, hemicelulosa y celulosa contiene el cáliz de aguaymanto.
- Se recomienda hacer un análisis más completo de minerales, para conocer con mayor exactitud qué tipo de minerales están presentes en cáliz de aguaymanto.
- Se recomienda hacer un análisis de la rentabilidad del bioetanol a partir de cáliz de aguaymanto, de manera que se pueda generar nuevos ingresos.
- Si se produce bioetanol de cáliz de aguaymanto en gran escala, se estaría contribuyendo a reducir la contaminación ambiental y se estaría reemplazando el consumo de combustible fósil, por el consumo de combustible de segunda generación; es decir un combustible más saludable, eficiente y barato.
- Se recomienda hacer otras pruebas con otras metodologías, utilizando otros buffers, para ver el comportamiento de la enzima celulasa.
- Se recomienda variar la metodología, donde se utilice otras concentraciones de NaOH y ver otras combinaciones con alcohol al 45 %.
- Realizar otras pruebas para ver el comportamiento entre el cáliz seco entero y cáliz seco molido, y ver en cuál de ellas se trabaja mejor durante el pretratamiento e hidrolizado.
- Realizar tratamientos de hidrolisis que sean mayores a 24 horas, para ver el comportamiento de la enzima celulasa, verificar si siguen produciendo azúcares después de ese tiempo.
- Además, incrementar el tiempo de fermentado, para ver el comportamiento del grado alcohólico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arnaiz, C., Isac, L., & J, L. (2000). Tratamiento biológico de aguas residuales I. Eliminación de carbono orgánico. *Technologie del Agua*, 20, 20-26.
- Bioetanol—Plantas de Biomasa. (2013). Recuperado 18 de octubre de 2019, de <http://www.plantasdebiomasa.net/bioetan.html>
- Chauca, K., Grosso, C., Cabrera, J., León, C., Arellano, J., Rodríguez, C., & Pretel, O. (2017). Extracción de azúcares reductores totales ART por métodos físicos y químicos de planta de Zea mays (Poaceae) "maíz amarillo duro. *Arnaldoa*, 24(1), 289-300. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.241.24112>
- Chávez Guerrero, L., Silva Mendoza, J., Sepúlveda Guzmán, S., Medina Aguirre, N. A., Vazquez Rodriguez, S., Cantú Cárdenas, M. E., & García Gómez, N. A. (2019). Enzymatic hydrolysis of cellulose nanoplatelets as a source of sugars with the concomitant production of cellulose nanofibrils. *Carbohydrate Polymers*, 210, 85-91. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.055>
- Cristobal, E. J., & Cristobal, K. I. (2017). *PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE: INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS*.
- Ecograins. (2019). Características del Aguaymanto |. Recuperado 15 de octubre de 2019, de <https://ecograins.wordpress.com/2014/05/02/caracteristicas-del-aguaymanto/>
- El Pretratamiento de la Biomasa—Plantas de Biomasa. (2013). Recuperado 17 de octubre de 2019, de <http://www.plantasdebiomasa.net/el-pretratamiento-de-la-biomasa.html>
- Enciclopedia. (2011). Celulosa. Artículo de la Enciclopedia. Recuperado 17 de octubre de 2019, de <http://enciclopedia.us.es/index.php/Celulosa>
- Espinoza, G. A. (2015). *Aguaymanto para la exportación de la región Cajamarca (Perú): El caso de la Asociación Provincial de Productores Ecológicos de Cajamarca- APPEC*.

- F. Young, C. E., & Steffen, P. G. (2008). Biocombustibles como estrategia de desarrollo. ¿Rumbo hacia la sustentabilidad o hacia una nueva periferia? *Polis. Revista Latinoamericana*, (21). Recuperado de <http://journals.openedition.org/polis/2897>
- Fischer, G., Almanza-Merchán, P. J., & Miranda, D. (2014). Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(1), 01-15. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-441/13>
- García, E., & Fernández, I. (2012). *Determinación de la humedad de un alimento por un método gravimétrico indirecto por desecación*. Recuperado de <https://riunet.upv.es/handle/10251/16339>
- Gualtieri A, M. J., Villalta R, C., Díaz T, L. E., Medina, G., Lapenna, E., & Rondón, M. E. (2007). Producción de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida utilis* usando residuos de pulpa de *Coffea arabica* L. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 38(2), 31-37.
- Guerrero, D., Sandoval, C., Rodriguez, C., Coronado, N., & Saavedra, K. (2012). *DISEÑO DE LA LÍNEA DE PRODUCCIÓN PARA LA OBTENCIÓN Y ENVASADO DE NÉCTAR DE AGUAYMANTO*.
- Gutiérrez-Rojas, I., Moreno-Sarmiento, N., & Montoya, D. (2015). Mecanismos y regulación de la hidrólisis enzimática de celulosa en hongos filamentosos: Casos clásicos y nuevos modelos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 32(1), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2013.10.009>
- Ladera, L., & Frans, H. (2013). *Evaluación de la actividad celulolítica del complejo enzimático celulasas en cepas fúngicas de los departamentos de Cajamarca, Lima, Junín, Huánuco*. Recuperado de <http://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/450573>
- Lagunes-Fortiz, E., Zavaleta-Mejía, E., Lagunes-Fortiz, E., & Zavaleta-Mejía, E. (2016). Función de la lignina en la interacción planta-nematodos endoparásitos sedentarios. *Revista mexicana de fitopatología*, 34(1), 43-63. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1506-7>
- Larreátegui, L. A. G., & Espinoza, J. C. (2016). *PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO*.

- Medina, D. A. P., Nuñez, M. F. A., & Ordoñez, M. S. (2010). Obtención de Enzimas Celulasas por Fermentación Sólida de Hongos para ser Utilizadas en el Proceso de Obtención de Bioalcohol de Residuos del Cultivo de Banano. *Revista Tecnológica - ESPOL*, 23(1). Recuperado de <http://www.rte.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/view/39>
- Medina Morales, M. A., Lara Fernández, L., Aguilar, C., & La Garza Toledo, H. (2011). Aprovechamiento de materiales lignocelulósicos para la producción de etanol como carburante. *ACTA QUÍMICA MEXICANA*, 3.
- Mendoza, J. G., Pardo, L. M., & Galán, J. E. (2011). EVALUACIÓN DE ENZIMAS PARA LA HIDRÓLISIS DE RESIDUOS (HOJAS Y COGOLLOS) DE LA COSECHA CAÑA DE AZÚCAR. *DYNA*, 78(169), 182-190.
- Morillas, J. M., & Delgado, J. M. (2012). Análisis nutricional de alimentos vegetales con diferentes orígenes: Evaluación de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*, 32(2), 8-20.
- Pacheco, N. C., & Trujillo, J. J. (2019). *Obtención de etanol por fermentación alcohólica a partir del exudado de la pulpa de cacao (Theobroma cacao L.)*. Recuperado de <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/10422>
- Perales, C. (2015). *Obtención de bioetanol a partir de materiales lignocelulosicos sometidos a hidrólisis enzimática*.
- Poma, P. A. (2016). *Efecto de tres niveles de concentración de levadura Saccharomyces cerevisiae cepa CH 158 SIHA en la fermentación del zumo de aguaymanto (Physalis peruviana L.)*. Recuperado de <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/1218>
- Propiedades y beneficios medicinales del aguaymanto para la salud. (2015). Recuperado 18 de octubre de 2019, de <https://www.saludeo.com/propiedades-beneficios-medicinales-aguaymanto-salud/>

- Ramírez, W. A. (2015). *CHARACTERISTICS AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF Physalis peruviana «AGUAYMANTO»*.
- Ramos, R. T., Alpírez, G. M., Beleño, M. T., & Palomar, L. T. (2015). Lignina obtenida de residuos agrícolas como biocombustible de tercera generación. *Ciencia y Tecnología*, 14.
- Reyes-Beltrán, M. E. D., Guanilo-Reyes, C. K., Ibáñez-Cárdenas, M. W., García-Collao, C. E., Idrogo-Alfaro, J. J., & Huamán-Saavedra, J. J. (2015). Efecto del consumo de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto) sobre el perfil lipídico de pacientes con hipercolesterolemia. *Acta Médica Peruana*, 32(4), 195-201.
- Riaño, A. M., Morales, A. I., Hernández, J. A., & Barrero, C. A. (2010). Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Tumbaga*, 1(5), 61-91.
- Vázquez, H. J., & Dacosta, O. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *Ingeniería, investigación y tecnología*, 8(4), 249-259.
- Villalobos, V. A. C. (2010). *COMPARACIÓN DE PRETRATAMIENTOS EN RESIDUOS FORESTALES PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN: HIDRÓLISIS ÁCIDA Y LÍQUIDOS IÓNICOS*. 133.
- vinetur.com. (2012). La fermentación: Un proceso con mucha vida. Recuperado 18 de octubre de 2019, de <https://www.vinetur.com/201206117893/la-fermentacion-un-proceso-con-mucha-vida.html>

ANEXOS

ANEXO 01. MATRIZ DE CONSISTENCIA

ENTIFICACION DE PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPOTESIS
¿Cuáles son los parámetros óptimos para la obtención de bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto?	-Obtener bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto.	Ha: Si se analiza los parámetros óptimos entonces se podrá obtener bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto. Hº: Si no se analiza los parámetros óptimos entonces no se podrá obtener bioetanol a partir del cáliz de aguaymanto.
ESPECIFICOS:		
a) ¿Cuál será la mejor concentración de Hidróxido de Sodio (NaOH) para hidrolizar el cáliz de aguaymanto?	a) Identificar la mejor concentración de Hidróxido de Sodio (NaOH) para hidrolizar el cáliz de aguaymanto.	Ha: Si se identifica la mejor concentración de Hidróxido de Sodio (NaOH) entonces se podrá hidrolizar el cáliz de aguaymanto. Hº: Si no se identifica la mejor concentración de Hidróxido de Sodio (NaOH) entonces no se podrá hidrolizar el cáliz de aguaymanto.
b) ¿Será posible realizar la fermentación del hidrolizado de cáliz de aguaymanto para producir bioetanol?	b) Determinar el proceso de fermentación del hidrolizado del cáliz de aguaymanto para producir bioetanol.	Ha: Si se determina el proceso de fermentación del hidrolizado del cáliz de aguaymanto entonces se podrá producir bioetanol. Hº: Si no se determina el proceso de fermentación del hidrolizado del cáliz de aguaymanto entonces no se podrá producir bioetanol.

ANEXO 02. CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICO DEL CÁLIZ DE AGUAYMANTO

a) **Determinación de humedad del cáliz entero fresco y cáliz molido seco.**

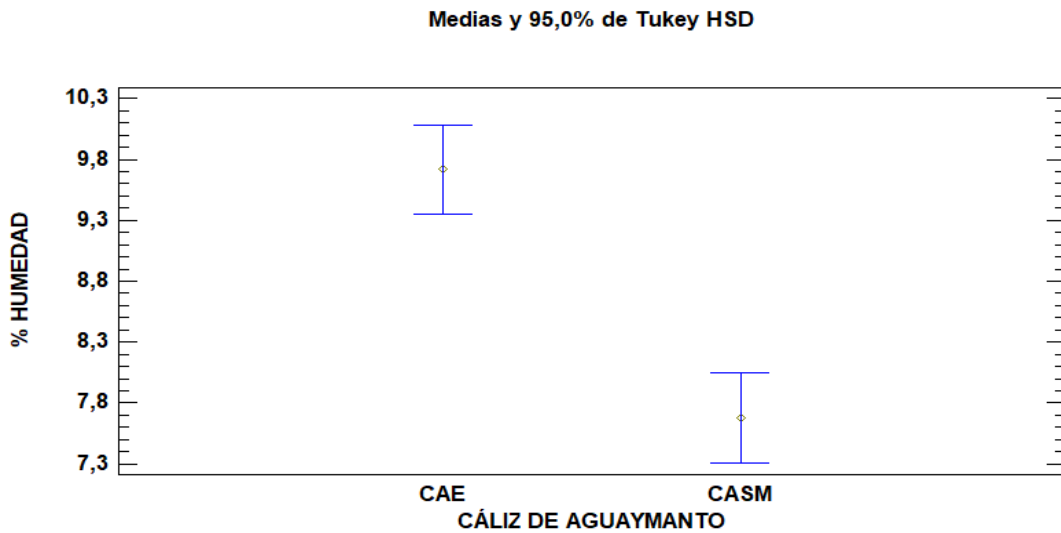
Tabla 9: Tabla ANOVA para % humedad por cáliz de aguaymanto

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	6,22202	1	6,22202	58,61	0,0016
Intra grupos	0,424667	4	0,106167		
Total (Corr.)	6,64668	5			

Pruebas de Múltiple Rangos para % humedad por cáliz de aguaymanto

Tabla 10: Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
CAM	3	7,68	X
CAF	3	9,7166	X
		7	



b) Determinación de cenizas del cáliz molido seco y cáliz molido seco pretratado.

Tabla 11: Tabla ANOVA para % cenizas por cáliz de aguaymanto

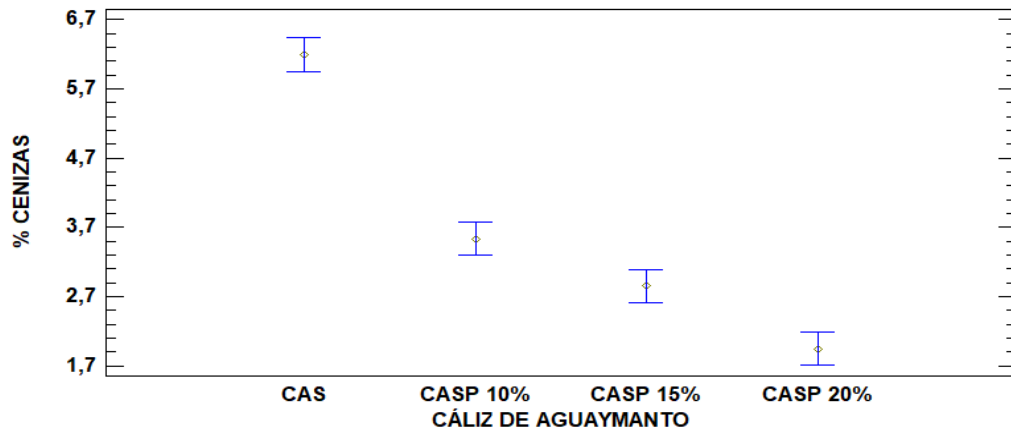
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	30,0421	3	10,014	295,62	0,0000
Intra grupos	0,271001	8	0,0338752		
Total (Corr.)	30,3131	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para % cenizas por cáliz de aguaymanto

Tabla 12: Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Caso</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
CASP 20%	3	1,9462	X
CASP 15%	3	2,8560	X
CASP 10%	3	3,5371	X
CAS	3	6,1934	X

Medias y 95,0% de Tukey HSD



c) Determinación de fibra del cáliz molido seco y cáliz molido seco pretratado.

Tabla 13: Tabla ANOVA para % fibra por cáliz de aguaymanto

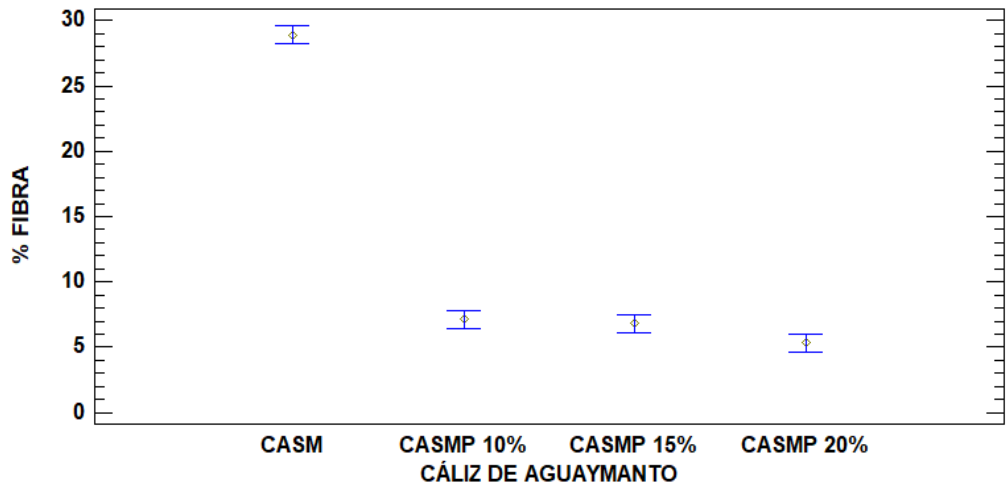
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1141,14	3	380,38	1351,49	0,0000
Intra grupos	2,25161	8	0,281452		

Pruebas de Múltiple Rangos para % fibra por cáliz de aguaymanto

Tabla 14: Método, 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
CASMP 20%	3	5,3447	X
CASMP 15%	3	6,8266	X
CASMP 10%	3	7,1264	X
CASM	3	28,899	X

Medias y 95,0% de Tukey HSD



ANEXO 03: HIDRÓLISIS DEL CÁLIZ DE AGUAYMANTO

a) **Determinación de azúcares reductores del cáliz molido seco y cáliz molido seco pretratado y cáliz molido seco pretratado e hidrolizado.**

Tabla 15: Tabla ANOVA para azúcares reductores por cáliz de aguaymanto

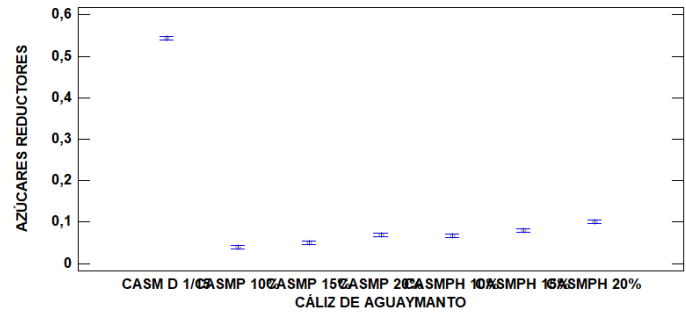
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,588381	6	0,0980635	10296,67	0,0000
Intra grupos	0,000133333	14	0,000009523 81		
Total (Corr.)	0,588514	20			

Pruebas de múltiples rangos para azúcares reductores por cáliz de aguaymanto

Tabla 16: Método, 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
CASMP 10%	3	0,04	X
CASMP 15%	3	0,05	X
CASMPH 10%	3	0,06666 67	X
CASMP 20%	3	0,07	X
CASMPH 15%	3	0,08	X
CASMPH 20%	3	0,1	X
CASMP D 1/15	3	0,54333 3	X

Medias y 95,0% de Tukey HSD



ANEXO 04: FERMENTACIÓN DEL CÁLIZ DE AGUAYMANTO

a) Destilación del cáliz seco molido pretratado e hidrolizado

Tabla 17: Tabla ANOVA para cantidad de alcohol (g/l) por cáliz de aguaymanto

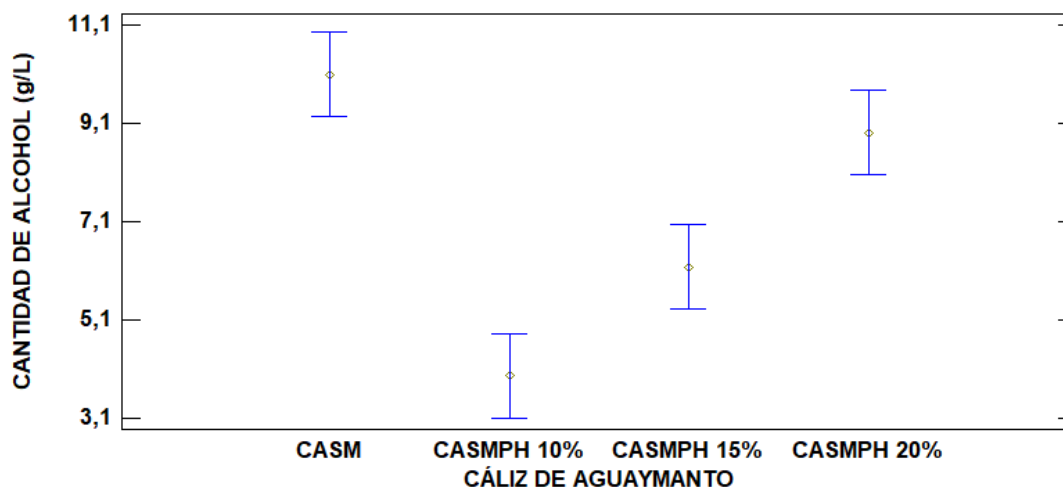
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	68,6698	3	22,8899	52,68	0,0000
Intra grupos	3,4764	8	0,43455		
Total (Corr.)	72,1462	11			

Pruebas de múltiples rangos para cantidad de alcohol (g/l) por cáliz de aguaymanto.

Tabla 18: Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
CASMPH 10%	3	3,9633	X
CASMPH 15%	3	6,17	X
CASMPH 20%	3	8,9133	X
CASM	3	10,106	X
	7		

Medias y 95,0% de Tukey HSD



NOTA BIOGRÁFICA

JACKELIN GUEVARA CONDEZO, nació en Tingo María, Distrito de Rupa Rupa, Provincia de Leoncio Prado-Huánuco, Ing. Agroindustrial de Profesión que realizó su Maestría en Gestión Ambiental y Desarrollo Sostenible en la universidad Nacional Hermilio Valdizan-Huánuco, actualmente trabaja en el Laboratorio de Análisis por Instrumentación de la Carrera Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la UNHEVAL.

ACTA DE DEFENSA DE TESIS



UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN

Huánuco – Perú

ESCUELA DE POSGRADO

Campus Universitario, Pabellón V "A" 2do. Piso – Cayhuayna
Teléfono 514760 - Pág. Web: www.posgrado.unheval.edu.pe



ACTA DE DEFENSA DE TESIS DE MAESTRO

En el Auditorio de la Escuela de Posgrado, siendo las **13:00h**, del día martes **14 DE ENERO DE 2020** ante los Jurados de Tesis constituido por los siguientes docentes:

Dr. Fernando Jeremias GONZALES PARIONA	Presidente
Dr. Zosimo Pedro JACHA AYALA	Secretario
Dr. Ruben Max ROJAS PORTAL	Vocal

Asesor de tesis: Dr. Juan Edson VILLANUEVA TIBURCIO (Resolución N° 0730-2019-UNHEVAL/EPG-D)

La aspirante al Grado de Maestro en Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible, mención en Gestión Ambiental, Doña, Jackelin GUEVARA CONDEZO.

Procedió al acto de Defensa:

Con la exposición de la Tesis titulado: **"OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE CÁLIZ DE AGUAYMANTO"**.

Respondiendo las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y público asistente.

Concluido el acto de defensa, cada miembro del Jurado procedió a la evaluación de la aspirante al Grado de Maestro, teniendo presente los criterios siguientes:

- Presentación personal.
- Exposición: el problema a resolver, hipótesis, objetivos, resultados, conclusiones, los aportes, contribución a la ciencia y/o solución a un problema social y recomendaciones.
- Grado de convicción y sustento bibliográfico utilizados para las respuestas a las interrogantes del Jurado y público asistente.
- Dicción y dominio de escenario.

Así mismo, el Jurado plantea a la tesis **las observaciones** siguientes:

.....
.....

Obteniendo en consecuencia la Maestría la Nota de Dieciséis (16)
Equivalente a Buena, por lo que se declara APROBADO
(Aprobado o desaprobado)

Los miembros del Jurado firman el presente **ACTA** en señal de conformidad, en Huánuco, siendo las 14:30 horas de 14 de enero de 2020.

.....
PRESIDENTE
DNI N° 22491216.....

.....
SECRETARIO
DNI N° 22407184.....

.....
VOCAL
DNI N° 06511922.....

Leyenda:
19 a 20: Excelente
17 a 18: Muy Bueno
14 a 16: Bueno

(Resolución N° 0053-2020-UNHEVAL/EPG)

AUTORIZACION PARA PUBLICACIÓN DE TESIS ELECTRÓNICA

AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN DE TESIS ELECTRÓNICAS DE POSGRADO

1. IDENTIFICACIÓN PERSONAL (especificar los datos del autor de la tesis)

Apellidos y Nombres: Guevara Condezo Jackelin

DNI: 43252777 Correo electrónico: Jackigc8@gmail.com

Teléfonos Casa _____ Celular 972928334 Oficina _____

2. IDENTIFICACION DE LA TESIS

Posgrado	
Maestría:	<u>Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible</u>
Mención:	<u>Gestión Ambiental</u>

Grado Académico obtenido:

GRADO DE MAESTRO

Título de la tesis:

OBTENCIÓN DE BIOETANO¹ A PARTIR DEL CÁLIZ DE AGUAYMAN

Tipo de acceso que autoriza el autor:

Marcar "X"	Categoría de Acceso	Descripción de Acceso
<input checked="" type="checkbox"/>	PÚBLICO	Es público y accesible el documento a texto completo por cualquier tipo de usuario que consulta el repositorio.
<input type="checkbox"/>	RESTRINGIDO	Solo permite el acceso al registro del metadato con información básica, mas no al texto completo.

Al elegir la opción "Público" a través de la presente autorizo de manera gratuita al Repositorio Institucional – UNHEVAL, a publicar la versión electrónica de esta tesis en el Portal Web repositorio.unheval.edu.pe, por un plazo indefinido, consintiendo que dicha autorización cualquiera tercero podrá acceder a dichas páginas de manera gratuita, pudiendo revisarla, imprimirla o grabarla, siempre y cuando se respete la autoría y sea citada correctamente.

En caso haya marcado la opción "Restringido", por favor detallar las razones por las que se eligió este tipo de acceso:

Asimismo, pedimos indicar el periodo de tiempo en que la tesis tendría el tipo de acceso restringido:

() 1 año () 2 años () 3 años () 4 años

Luego del periodo señalado por usted(es), automáticamente la tesis pasara a ser de acceso público.

Fecha de firma: 31/01/2020



Firma del autor