

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISION DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS



TESIS

**“Proceso de termo hidrólisis para la liberación de
Azúcares monoméricos en residuos agroindustriales”**

Presentada por:

DAVID ALEJANDRO GUTIERREZ LOPEZ

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

SALTILLO, COAHUILA

MAYO DE 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Presentada por:

David Alejandro Gutiérrez López

TESIS

“Proceso de termo hidrólisis para la liberación de
Azúcares monoméricos en residuos agroindustriales”

Que se somete a consideración a consideración del H. Jurado examinador como requisito
parcial para obtener el título de:

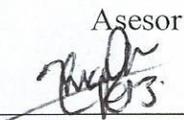
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Director

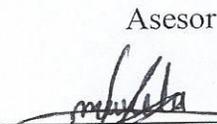

Dr. Armando Robledo Olivo

Asesor

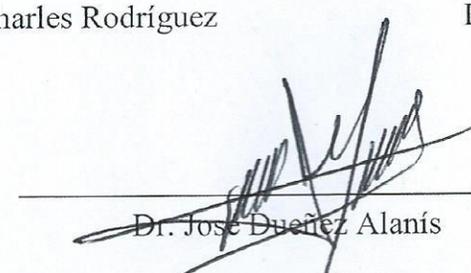

Dra. Dolores Gabriela Martínez Vázquez

Asesor


Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

Asesor


Ing. Mariela Chávez García.


Dr. José Dueñez Alanís

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



DEDICATORIA

A MI DIOS

A MI MADRE

A la que todo le debo, a la que en vida nunca me abandono, fue mi mejor amiga, mi consejera, mi confidente, mi cómplice, mi apoyo incondicional en toda empresa que emprendí, y sobre todo respeto mi libertad, y sé que desde el cielo nunca ha dejado de cuidarme.

A MI PADRE

Del que no guardo muchos recuerdos, pero he tratado de conocer a través de los demás y al que le guardo respeto, admiración y cariño.

A MIS ABUELOS

Especialmente a María Guadalupe Martínez Juárez y Don Tomas López Salgado, a los que les estoy profundamente agradecido por todo el cariño y amor que de sus corazones siempre ha brotado a manos llenas para mí y toda la familia.

A MIS HERMANOS

En los que por algún extraño motivo siempre confié y que siempre han estado presentes en toda situación, a los que estoy infinitamente agradecido por no abandonarme, por confiar en mí, por creer en mí y ser entre los dos el dolor de cabeza que más amo en el mundo.

A MIS PRIMOS y TIOS

Siempre presentes, siempre unidos, pero sobretodo, siempre alegres en cada momento.

“La verdadera sabiduría esta en reconocer la propia ignorancia”.

Sócrates

AGRADECIMIENTOS

A MI ALMA TERRA MATER

Por haberse cruzado en mi camino en el mejor momento, y acogerme entre sus brazos, llenándome de fe, alegría y conocimiento.

A MIS PROFESORES

Por todo el saber compartido, por su dedicación para con sus alumnos, por todo el compromiso que le dedican a la universidad y a su propia formación personal, nunca se detengan.

Especialmente al Doctor Armando Robledo por haberme permitido participar en tan importante investigación, le estoy profundamente agradecido.

A MI ASESORA DE TESIS

Ing. Mariela Chávez García, por su paciencia y ayuda en todo este proceso.

A MIS AMIGOS

A todos mis amigos, que me siguieron y me apoyaron incondicionalmente ante y durante toda mi estadía en la universidad, amigos, compañeros y colegas a los que estimo y admiro mucho. Y mis amigos, que son muchos, sepan que a todos los quiero, estén donde estén.

Tabla de contenido

ÍNDICE DE GRAFICAS	IV
ÍNDICE DE TABLAS	V
Resumen	VI
Abstract	VII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Hipótesis	2
1.2. Objetivos.....	2
1.2.1. General.....	2
1.2.2. Específicos.....	2
2. ANTECEDENTES	3
2.1. Residuos agrícolas y agroindustriales	3
2.2. Biorrefinería.....	4
2.3. Importancia de la vid como biomasa en México	6
2.4. Importancia de la granada como biomasa en México	6
2.5. Procesos de hidrólisis de biomasa.....	6
2.6. Composición de la biomasa lignocelulósica	7
2.7. Los diferentes tipos de azúcares:.....	8
2.8. Pretratamiento de la biomasa	9
2.9. Hidrólisis	9
2.10. Termohidrólisis	9
2.11. Optimización de procesos	10
2.12. Diseños ortogonales.....	11
2.13. Diseño Taguchi	11
3. METODOLOGÍA.....	13
3.1. Obtención y pretratamiento de la materia prima.....	13
3.2. Clasificación física de los residuos obtenidos previos a la hidrólisis.....	13
3.3. Clasificación química del residuo obtenido previo a la hidrólisis.	14
3.3.1. Azucares totales por el método de fenol-sulfúrico. (Dubois 1956).....	14
3.3.2. Azucares reductores	14

3.4. Extracción de azúcares en la materia prima en fresco	15
3.5. Optimización del proceso de hidrólisis térmica mediante un diseño de Taguchi.....	15
3.6. Análisis estadístico	16
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
4.1. Análisis químico de los residuos obtenidos.....	17
4.1.1. Concentración de azúcares totales, reductores y capacidad antioxidante en el bagazo de uva, clasificada por tamaño de partícula.....	17
4.1.2. Concentración de azúcares totales, reductores y capacidad antioxidante en la cascara de granada, clasificada por tamaño de partícula.....	20
4.2. Optimización del proceso de hidrólisis mediante un diseño de Taguchi L-9.	22
4.5. Valorización de azúcares liberados por el proceso de optimización del tratamiento de hidrolisis térmica.....	25
4.5.1. Cuantificación de azúcares en el bagazo de uva, en el slurry y el caldo obtenido.....	25
4.5.2. Cuantificación de azúcares reductores de la hidrolisis térmica de bagazo de uva en el slurry y el caldo obtenido.....	26
4.5.3. Cuantificación de la capacidad antioxidante tras la hidrolisis térmica del bagazo de uva en el slurry y el caldo.	28
4.5.4. Cuantificación de azúcares totales de la hidrolisis térmica de cascara de granada en el slurry y el caldo obtenido.	30
4.5.5. Cuantificación de azúcares reductores de la hidrolisis térmica de cascara de granada en el slurry y el caldo obtenido.....	32
4.5.6. Cuantificación de la capacidad antioxidante tras la hidrolisis térmica de la cascara de granada en el slurry y el caldo.....	34
5. CONCLUSION	36
6. Anexos.	38
6.1. Cuantificación de pérdida de agua en la hidrolisis por explosión de vapor de bagazo de uva.....	38
6.2. Cuantificación de pérdida de agua en la hidrolisis por explosión de vapor en cascara de granada.....	39
7. Bibliografía.....	40

ÍNDICE DE GRAFICAS

GRAFICA 1. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE TUKEY ($P < 0.05$) EN LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES TOTALES EN BAGAZO DE UVA, POR TAMAÑO DE PARTÍCULA, 1:#8, 2:#10 Y 3:#12	17
GRAFICA 2 . COMPARACIÓN DE MEDIAS DE TUKEY ($P \leq 0.05$) EN LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES EN BAGAZO DE UVA, POR TAMAÑO DE PARTÍCULA, 1: #8,2:#10 Y 3:#12	19
GRAFICA3 COMPARACIÓN DE MEDIAS DE TUKEY ($P < 0.05$) EN LA CONCENTRACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN BAGAZO DE UVA, POR TAMAÑO DE PARTÍCULA, 1:#8, 2:#10 Y 3:#12	20
GRAFICA 4. CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES TOTALES EN CASCARA DE GRANADA, POR TAMAÑO DE PARTÍCULA.	21
GRAFICA 5. CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES EN CASCARA DE GRANADA, POR TAMAÑO DE PARTÍCULA.	21
GRAFICA 6. CONCENTRACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN CASCARA DE GRANADA, POR TAMAÑO DE PARTÍCULA.	22
GRAFICA 7. CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES TOTALES EL SLURRY HIDROLIZADO DE BAGAZO DE UVA, POR DIFERENTES TRATAMIENTOS.	25
GRAFICA 8. CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES TOTALES EL CALDO HIDROLIZADO DE BAGAZO DE UVA, POR DIFERENTES TRATAMIENTOS.	26
GRAFICA 9. CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES EN EL SLURRY HIDROLIZADO DE BAGAZO DE UVA, POR DIFERENTES TRATAMIENTOS.....	27
GRAFICA 10. CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES EL CALDO HIDROLIZADO DE BAGAZO DE UVA, POR DIFERENTES TRATAMIENTOS.....	28
GRAFICA 11. CONCENTRACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL SLURRY HIDROLIZADO DE BAGAZO DE UVA, POR DIFERENTES TRATAMIENTOS.	29
GRAFICA 12. CONCENTRACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL CALDO HIDROLIZADO DE BAGAZO DE UVA, POR DIFERENTES TRATAMIENTOS.....	30
GRAFICA 13. CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES TOTALES EL SLURRY HIDROLIZADO DE CASCARA DE GRANADA, POR DIFERENTES TRATAMIENTOS.....	31
GRAFICA 14 CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES TOTALES EL CALDO HIDROLIZADO DE CASCARA DE GRANADA, POR DIFERENTES TRATAMIENTOS.....	32
GRAFICA 15. CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES DEL SLURRY HIDROLIZADO DE CASCARA DE GRANADA, POR DIFERENTES TRATAMIENTOS.....	33
GRAFICA 16 CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES DEL CALDO HIDROLIZADO DE CASCARA DE GRANADA, POR DIFERENTES TRATAMIENTOS.....	34
GRAFICA 17 . CONCENTRACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL SLURRY HIDROLIZADO DE CASCARA DE GRANADA, POR DIFERENTES TRATAMIENTOS.....	35
GRAFICA 18 .CONCENTRACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL CALDO HIDROLIZADO DE CASCARA DE GRANADA, POR DIFERENTES TRATAMIENTOS.....	36
GRAFICA 19. PERDIDA DE AGUA EN LA HIDRÓLISIS TÉRMICA EN BAGAZO DE UVA, POR DIFERENTES TRATAMIENTOS.	38
GRAFICA 20. PERDIDA DE AGUA EN LA HIDRÓLISIS POR EXPLOSIÓN DE VAPOR EN CASCARA DE GRANADA, POR DIFERENTES TRATAMIENTOS.....	39

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1 PARÁMETROS PARA CURVA DE CALIBRACIÓN AZUCARES TOTALES.....	14
TABLA 2 FORMULACIÓN DEL DNS	14
TABLA 3 PARÁMETROS PARA CURVA DE CALIBRACIÓN AZUCARES REDUCTORES.....	15
TABLA 4 FACTORES DE HIDRÓLISIS SELECCIONADOS Y NIVELES ASIGNADOS PARA EL TRATAMIENTO.	16
TABLA 5 DISEÑO EXPERIMENTAL REALIZADO PARA LA HIDRÓLISIS DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES DE UVA Y GRANADA.	16
TABLA 6 DISEÑO DE TAGUCHI L-9, ANALIZANDO TRES FACTORES (TIEMPO, PRESIÓN Y TAMAÑO DE PARTÍCULA) DE TRES NIVELES CADA UNO.	22
TABLA 7 . ANOVA DEL DISEÑO TAGUCHI PARA LOS AT Y AR DE RESIDUOS DE GRANADA.....	23
TABLA 8 ANOVA DEL DISEÑO TAGUCHI PARA LOS AT Y AR DE RESIDUOS DE GRANADA.....	23
TABLA 9 ANOVA DEL DISEÑO TAGUCHI PARA LOS AR DEL SLURRY DERIVADO DE LA HIDRÓLISIS TÉRMICA.	23

Resumen

La hidrólisis es la ruptura de las moléculas en medio acuoso, tiene como finalidad la transformación de los polímeros de la glucosa (almidón y celulosa) en azúcares sencillos. La hidrólisis térmica o termohidrólisis aplica altas temperaturas y presiones para romper la barrera de lignina descomponiendo las cadenas de celulosa. Gran parte de las industrias agroalimentarias, tanto grandes como pequeñas, generan considerables cantidades de "desechos" de origen vegetal (biomasa) derivados de diferentes procesos, y que por lo general son desperdiciados. Este material orgánico lignocelulósico contiene un alto potencial energético, por su gran contenido de polisacáridos complejos, que mediante los procesos adecuados, pueden ser aprovechados para la producción de gran cantidad de productos de interés económico y social. Esta investigación consta de dos etapas diferentes, en la primera se realizó un pretratamiento de secado y tamizado separando por tamaño de partícula (2.38, 2.0 y 1.68mm) a la materia prima (bagazo de uva y granada) y se realizaron determinaciones de azúcares totales, reductores y capacidad antioxidante. En bagazo de uva la mayor concentración de azúcares totales fue con un tamaño de partícula de 2mm con una concentración de 21mg/ml, en azúcares reductores en el tamaño de partícula de 1.68mm con una concentración de 11mg/ml y la capacidad antioxidante en el tamaño de partícula de 2.38mm con 2.43mg/ml. En cuanto al bagazo de granada la mayor concentración de azúcares totales fue con un tamaño de partícula de 2mm con una concentración de 42mg/ml, en azúcares reductores en el tamaño de partícula de 1.68mm con una concentración de 17mg/ml y la capacidad antioxidante en el tamaño de partícula de 1.68mm con una concentración de 4.94mg/ml. En la segunda etapa se realizó la termohidrólisis para incrementar la concentración de azúcares monoméricos en las muestras de los residuos de uva y granada, con el objetivo de determinar mediante un sistema Taguchi L-9, las condiciones más óptimas para la extracción de estos azúcares, rompiendo las cadenas de lignina considerando diferentes variantes: presión (10, 15 y 20Psi), tiempo de exposición (5, 10 y 15min) y tamaño de partícula (1.68, 2 y 2.38mm), este sistema determinó las mejores combinaciones en 9 tratamientos, posteriormente se realizaron determinaciones de azúcares totales, reductores y capacidad antioxidante en el caldo del hidrolizado y en el Slurry. Tras analizar los resultados, se determina que el tiempo de exposición y el tamaño de partícula de la materia prima son factores que afectan la liberación de glucosas y fructosas principalmente, rompiendo las fibras de lignina. En donde la mayor concentración de azúcares totales en el bagazo de uva llegó a 28.581mg/ml en el tratamiento 6 del caldo hidrolizado (10min, 20Psi y tamaño de partícula de 2.38mm),

mientras que en la cascara de granada la máxima liberación llegó a 33.511mg/ml en el tratamiento 2 del slurry hidrolizado (5min, 15Psi y tamaño de partícula 2.0mm).

Palabras clave:

Material lignocelulósico, polisacáridos, azúcares monoméricos, termohidrólisis.

Abstract

Hydrolysis is the rupture of the molecules in aqueous medium, its purpose is the transformation of the polymers of glucose (starch and cellulose) into simple sugars. Thermal hydrolysis or thermohydrolysis applies high temperatures and pressures to break the lignin barrier by breaking down the cellulose chains. A large part of the agri-food industries, both large and small, generate considerable amounts of "waste" of vegetable origin (biomass) derived from different processes, and which are usually wasted. This organic lignocellulosic material contains a high energy potential, due to its high content of complex polysaccharides, which through appropriate processes can be used for the production of a large number of products of economic and social interest. This investigation consists of two different stages, in the first a pretreatment of drying and sieving was carried out, separating the raw material (grape and pomegranate bagasse) by particle size (2.38, 2.0 and 1.68mm) and determinations of total sugars were made, reducers and antioxidant capacity. In grape bagasse the highest concentration of total sugars was with a particle size of 2mm with a concentration of 21mg / ml, in reducing sugars in the particle size of 1.68mm with a concentration of 11mg / ml and the antioxidant capacity in the particle size of 2.38mm with 2.43mg / ml. Regarding the pomegranate bagasse, the highest concentration of total sugars was with a particle size of 2mm with a concentration of 42mg / ml, in reducing sugars in the particle size of 1.68mm with a concentration of 17mg / ml and the antioxidant capacity in the particle size of 1.68mm with a concentration of 4.94mg / ml. In the second stage, thermohydrolysis was carried out to increase the concentration of monomeric sugars in the samples of grape and pomegranate residues, with the objective of determining, by means of a Taguchi L-9 system, the most optimal conditions for the extraction of these sugars, breaking the lignin chains considering different variants: pressure (10, 15 and 20Psi), exposure time (5, 10 and 15min) and particle size (1.68, 2 and 2.38mm), this system determined the best combinations in 9 treatments, later determinations were made of total sugars, reducing agents and antioxidant capacity in the hydrolyzate broth and in the Slurry. After analyzing the results, it is determined that the exposure time and the particle size of the raw material are factors that affect the release of glucose and fructose mainly, breaking the lignin fibers. Where the highest concentration of total sugars in

the grape bagasse reached 28.581mg / ml in treatment 6 of the hydrolyzed broth (10min, 20Psi and particle size of 2.38mm), while in the pomegranate shell the maximum release reached 33,511mg / ml in treatment 2 of hydrolyzed slurry (5min, 15Psi and 2.0mm particle size).

Keywords:

Lignocellulosic material, polysaccharides, monomeric sugars, thermo-hydrolysis

1. INTRODUCCIÓN

La agricultura a lo largo de los años ha generado cantidades muy importantes de residuos de difícil degradación en el medio ambiente derivados del uso y mantenimiento de las explotaciones agrícolas (residuos vegetales, residuos plásticos, residuos de envases de plaguicidas, etc.) y subproductos aprovechables (cáscaras, bagazos, extractos, etc.).

La biotecnología permite la bio-conversión de residuos agroindustriales en productos de interés comercial mediante procesos de extracción directos o de transformación por química o microbiológica. (Moldes, 2002) En México existe gran cantidad de agroindustrias, que generan residuos orgánicos con un gran potencial de aprovechamiento, tal es el caso de el bagazo de la uva que se utiliza para la elaboración de vinos en diferentes puntos del país, así como la cascara de granada que se genera en la zona de Cuatro Ciénegas, Coahuila.

El origen del problema radica en el vertido incontrolado de los desechos y excedentes generados en el medio rural, que genera problemas como residuos vegetales, mismos que han creado un foco importante de infección para los cultivos, así como su eliminación mediante la quema, contaminando aguas de riego, encareciendo los costes de producción y aumentando los riesgos que del uso de productos fitosanitarios se derivan. Los residuos vegetales como el bagazo de uva, la cáscara del fruto granado y otros subproductos agroindustriales y de diversos cultivos, son vertidos en las inmediaciones de los invernaderos o bien en zonas abiertas donde pasta el ganad

En este panorama, se busca el aprovechamiento de carbohidratos complejos que forman la estructuración celular de mencionados residuos, como celulosas y hemicelulosas. Para que esto sea posible estos carbohidratos complejos deben ser simplificados en azúcares monoméricos y así crear caldos de cultivo enriquecidos, y por medio de procesos de fermentación generar diversos productos de interés en el mercado.

En este trabajo se pretende la optimización mediante hidrólisis térmica en el proceso para la liberación de estos azúcares monoméricos, particularmente celulosas y fructosas. Esto considerando diferentes variables como la presión, el tiempo de hidrólisis y observar la relación que existe entre la eficiencia de extracción y el tamaño de partícula en la que se trabajaron las muestras. Y con esto llegar a una eficiencia mayor en este eslabón del proceso.

Capítulo I.- Antecedentes

1.1. Hipótesis

La optimización del tamaño de partícula y los tiempos de exposición de los residuos al método de termo hidrólisis favorecerá la liberación de azúcares monoméricos.

1.2. Objetivos

1.2.1. General

Incrementar la concentración de azúcares monoméricos en muestras de residuos de uva (variedad merlot) y granada (variedad wonderful) mediante la optimización del proceso de termo hidrólisis.

1.2.2. Específicos

- Obtener y clasificar físicamente los residuos de uva y granada en las regiones de Parras y Cuatro Ciénegas, respectivamente.
- Analizar químicamente los residuos obtenidos previo a la hidrólisis
- Optimizar el proceso de hidrólisis mediante un diseño de Taguchi.
- Valorizar los azúcares liberados por la optimización del proceso de hidrólisis térmica.

2. ANTECEDENTES

En este capítulo se presenta la descripción de conceptos básicos que son de suma importancia para la comprensión de este trabajo.

2.1. Residuos agrícolas y agroindustriales

La mayoría de las definiciones ubican a los residuos agrícolas como la fracción o fracciones de un cultivo que no constituyen la cosecha propiamente dicha. Dentro de estas fracciones se puede considerar a los esquilmos, como parte de la cosecha que no cumple con los requisitos de calidad mínima para ser comercializada como tal.

Por otra parte, los residuos agroindustriales son materiales en estado sólido o líquido que se generan a partir del consumo directo de productos primarios o de su industrialización, y que ya no son de utilidad para el proceso que los generó, pero que son susceptibles de aprovechamiento o transformación para generar otro producto con valor económico, de interés comercial y/o social. (Susana, 2012)

En numerosas ocasiones el destino final de estos materiales no permite un adecuado aprovechamiento, ya que pueden contener un notable poder nutritivo, considerable potencial energético y características en cuanto a su composición, que los hacen idóneos para su empleo en el sector industrial. La quema de residuos tiene impactos negativos en el suelo y emite gases de efecto invernadero a la atmósfera (FAO, 2014); las descargas incontroladas en parajes o zonas desprotegidas son una clara agresión al entorno paisajístico e imposibilitan el control del potencial contaminante de los residuos acumulados.

La información disponible sobre Residuos Agrícolas y agroindustriales tanto a nivel público como privado en el país está dispersa, no sistematizada y muy centralizada; lo cual dificulta el establecimiento de un diagnóstico preciso que abarque todos los temas relacionados con su gestión y manejo. Sin embargo, los esfuerzos realizados hasta ahora permiten identificar la siguiente situación en términos generales:

- La gestión de los Residuos Agrícolas y agroindustriales no se realiza de forma planificada.
- Su manejo está orientado más hacia el tratamiento y disposición final que a la prevención y el aprovechamiento.
- Existe desconocimiento por parte de generadores, gestores o receptores, autoridades y comunidad en general sobre el tema, lo cual agudiza la problemática. (SAGARPA, 2015)

Capítulo I.- Antecedentes

- En Coahuila existe una región vitivinícola, ubicada en Parras de la fuente, donde el procesado de la uva en la industria vinícola genera una gran cantidad de residuos completamente aprovechables. Otra fruta utilizada en la región centro de Coahuila para la creación del vino, licores y jugos, y que genera una cantidad mayor considerable de residuos es la granada, pues solo se aprovecha el fruto y su jugo, dejando de lado las cáscaras, el mesocarpio y endocarpio.

2.2. Biorrefinería

Las biorrefinerías son instalaciones de transformación de biomasa en una variedad de productos de valor agregado incluyendo combustibles, energía, químicos y productos finales. Estas se conciben como la base tecnológica de una nueva industria basada en la biomasa. (Sacramento Rivero, 2010)

El camino hacia un desarrollo sostenible y de renovabilidad de los recursos pasa por la búsqueda o el uso de nuevas fuentes de materias primas y productos químicos y de consumo donde la biomasa lignocelulósica, se revela como una fuente “necesaria” de materias primas debido a su ubicuidad, disponibilidad, y carácter poco contaminante. (López, 2010)

Las materias primas que pueden ser utilizadas en una biorrefinería provienen normalmente de cinco sectores diferentes:

- Sector Agrícola: Cultivos energéticos y residuos agrícolas.
- Sector Forestal: Madera, cultivos energéticos y residuos de la industria de la madera.
- Sector Industrial: subproductos/residuos de los procesos industriales.
- Actividades domésticas: Residuos orgánicos.
- Acuicultura: algas.

En general, la biomasa está constituida por un 95% de carbohidratos, lignina, grasas y proteínas; el otro 5% lo forman las vitaminas, colorantes, aromatizantes y otras pequeñas moléculas, los cuales pueden obtenerse a través de diferentes rutas de transformación, extracción y/o fraccionamiento, algunas de las cuales aún se encuentran en fase de investigación. (BIOENAREA, 2011)

Existe una gran variedad de tecnologías de conversión aplicables a la biomasa que serán empleadas en función del producto deseado a obtener en una biorrefinería: Procesos Químicos, mecánicos, bioquímicos y Termoquímicos, Este último implica una descomposición térmica de los componentes de la biomasa y una liberación de energía en forma de calor u obtención de biocombustibles intermedios.

Capítulo I.- Antecedentes

Los procesos químicos son aquellos que suponen una modificación en la estructura química de la molécula por reacción con otras sustancias, siendo los procesos más comunes la hidrólisis y la transesterificación.

Por otro lado, los procesos mecánicos no cambian el estado o la composición de la biomasa, sino que sólo se produce una reducción de tamaño para la adaptación de la materia prima a los requisitos de la instalación, o una separación de los componentes y la extracción de los compuestos de interés industrial.

Los Procesos Bioquímicos ocurren a temperaturas y velocidades bajas y se producen gracias a la acción de microorganismos y/o enzimas específicas que degradan el sustrato fermentable de la biomasa.

Mediante fermentación pueden transformarse aquellas materias primas que contienen un gran porcentaje de carbohidratos, bien en forma simple o bien en forma de polímeros complejos como el almidón, inulina o polisacáridos de celulosa y hemicelulosa. También se pueden utilizar efluentes procedentes de la industria agroalimentaria, como los sueros lácteos.

Además, mediante la fermentación es posible producir una gran variedad de productos que son especialmente interesantes en la industria: xilitol, ácido succínico, ácido itacónico, lisina, 1,-3 propanidol, etc. El otro proceso bioquímico, la digestión anaeróbica, ocurre en ausencia de oxígeno, y la biomasa se descompone en una suspensión acuosa de productos sólidos y productos gaseosos conocidos como biogás, usado para electricidad o energía térmica. Este proceso de transformación puede aplicarse sobre cualquier tipo de biomasa, especialmente en aquellas con un alto contenido en humedad.

Hay dos procesos termoquímicos principales que transforman la biomasa lignocelulósica en energía y productos químicos asociados a las instalaciones de biorrefinería:

La gasificación consiste en un proceso de oxidación parcial de la biomasa a alta temperatura (800-1.500 °C) originándose un producto gaseoso, “*syngas*”, formado por una mezcla de H₂, CO, CO₂ y CH₄, el cual puede ser utilizado directamente como combustible para producir calor y electricidad o bien puede transformarse en combustibles mediante síntesis química o en productos químicos (alcoholes, ácidos orgánicos, amoníaco, metanol, etc.).

La pirolisis es la segunda vía termoquímica de conversión de biomasa en la cual se trabaja a temperaturas intermedias (300-600 °C) y en ausencia de oxígeno, obteniéndose una serie de compuestos gaseosos similares al *syngas*, compuestos

Capítulo I.- Antecedentes

líquidos y compuestos sólidos, en función de la temperatura y tiempo de calentamiento y otras condiciones de operación. (BIOENAREA, 2011)

2.3. Importancia de la vid como biomasa en México

El cultivo de la vid tradicionalmente se realiza con el objetivo de obtener su fruto en sus distintas variedades (uva roja o uva blanca) para el consumo directo o para la elaboración de vino.

Hoy, México produce 19.4 millones de litros de vino al año en estados como Baja California Coahuila, Querétaro, Chihuahua, Guanajuato, Aguascalientes, Zacatecas, San Luis Potosí, Puebla, Sonora y Nuevo León, de acuerdo con el Consejo Mexicano Vitivinícola. En 2015 la producción de vino en México fue cercana a los 20 millones de litros, que representa únicamente un 0.07% de la producción mundial. Sin embargo, del vino en México tiene un valor aproximado de 27.500 millones de pesos (mdp), de acuerdo con Euromonitor Internacional (Líder mundial en investigación de mercado estratégica independiente.). (SAGARPA, 2018)

2.4. Importancia de la granada como biomasa en México

La granada por su parte es un fruto originario del este de Europa y de Oriente. Es un fruto de piel gruesa de color escarlata o carmesí, con gran cantidad de semillas en su interior, recubierta de una pulpa de color rubí envueltas en una membrana blanquecina. De delicioso sabor agridulce y astringente (por su contenido elevado en taninos), se le atribuyen propiedades saludables como antioxidantes, antiinflamatorias y digestivas, las jugosas semillas de la granada se utilizan en infinidad de recetas en todo el mundo, no solo en postres, zumos, confituras y helados, sin embargo, también ocurre el desperdicio de gran cantidad del fruto, por lo que se puede sacar provecho de este y usarlo como biomasa.

2.5. Procesos de hidrólisis de biomasa

Las plantas almacenan la mayor parte de la energía solar que captan en forma de hidratos de carbono. Estos hidratos de carbono pueden presentarse de manera simple, en forma de azúcares, o en forma de polímeros: almidón o celulosa.

Cualquier producto que contenga azúcares fermentables o hidratos de carbono transformables en aquéllos (almidón o celulosa) puede servir para obtener alcohol u otros productos de interés. Dependiendo del tipo de biomasa de partida, es necesario analizar con detalle el rendimiento de este proceso de conversión de la

Capítulo I.- Antecedentes

biomasa en alcohol combustible, para poder evaluar su viabilidad técnica y económica, ya que, cuando la materia prima es rica en almidón o celulosa, es necesario someterla previamente a ciertos procesos para transformarla en compuestos fermentables.

Se puede dividir el proceso global de obtención de etanol a partir de biomasa en las siguientes etapas:

- Pretratamiento de la materia prima
- Hidrólisis
- Fermentación alcohólica
- Separación y purificación del etanol

Esto es una generalización del proceso, ya que la etapa de hidrólisis es opcional, dependiendo de la biomasa que se vaya a procesar.

2.6. Composición de la biomasa lignocelulósica

Celulosa

Es el polisacárido estructural de todo el reino vegetal; por ser el compuesto orgánico más abundante de la naturaleza y constituir una fuente de glucosa prácticamente inagotable que se renueva de forma continua mediante la fotosíntesis. (BADUI DERGAL, 2006). Consta de una cadena lineal de glucosa unida por enlaces glucosídicos entre el carbono 1 y el 4 formando una cadena lineal y su fórmula química es $(C_6 H_{10} O_5)_n$

Hemicelulosa

Este término es muy ambiguo; se emplea para referirse a un grupo muy extenso de polisacáridos con diversos tipos de monómeros (heteropolisacáridos) que se localizan principalmente en la pared celular, y que son muy distintos a la celulosa o al almidón. (BADUI DERGAL, 2006)

Lignina

La lignina es uno de los biopolímeros más abundantes en las plantas y junto con la celulosa y la hemicelulosa conforma la pared celular de las mismas en una disposición regulada a nivel nano-estructural, dando como resultado redes de lignina-hidratos de carbono. La composición o distribución de los tres componentes en esas redes varía dependiendo del tipo de planta. La lignina está presente en todas las plantas vasculares, y al igual que muchos otros componentes de la

Capítulo I.- Antecedentes

biomasa, se forma mediante la reacción de fotosíntesis. Está considerada como un recurso renovable asequible y de potencial uso industrial. (Chávez-Sifontes, 2013)

La estructura del material lignocelulósico y sus características morfológicas, químicas y estructurales influyen de manera importante en la elección de los procesos en los cuales puede ser aprovechada la biomasa agroindustrial. En el caso de las características estructurales, la celulosa puede ser utilizada en la industria del papel, textil, alimenticia y de azúcares fermentables, y en la industria química para la obtención de éteres y ésteres de celulosa. La hemicelulosa se puede emplear como materia prima en diferentes industrias para la generación de diversos productos como el furfural el xilitol, ácido acético, entre otros. La lignina presenta diversos usos en la industria, dentro de las cuales se encuentran la obtención de vainillina y lignosulfonatos, además, la lignina puede emplearse en la sustitución de resinas de fenol-formaldehído. Debido a la variedad de compuestos extractivos presentes en la biomasa, estos tienen una amplia gama de aplicaciones. Los compuestos bioactivos hacen parte de los extractivos presentes en la biomasa, los cuales, gracias a su capacidad antioxidante, son usados en la industria farmacéutica, cosmética y alimenticia. (FLÓREZ MONTES, 2018)

Es importante señalar que las proporciones de los diversos carbohidratos existentes en las frutas pueden experimentar modificaciones como consecuencia de la actividad metabólica, ya que durante la maduración se producen cambios intensos en donde los azúcares son los sustratos preferidos para la biosíntesis y suministro de energía pues son oxidados (vía glucólisis) hasta ácido pirúvico, el cual a su vez, por descarboxilación oxidativa se convierte en Acetil-CoA que se metaboliza, vía ciclo de Krebs, dando lugar a la formación de CO₂, H₂O y ENERGÍA la cual queda disponible para la biosíntesis de otros componentes (otros azúcares, ácidos orgánicos, ácido ascórbico, proteínas, nucleótidos azucarados, glucósidos, etc.). Durante todo este proceso, el contenido de azúcares aumenta casi invariablemente básicamente por hidrólisis que experimentan los polisacáridos, aunque algunos azúcares sean utilizados como sustratos para la actividad respiratoria.

2.7. Los diferentes tipos de azúcares:

Los azúcares se encuentran de forma natural en todas las frutas, verduras, productos lácteos y granos enteros. Estos azúcares naturales son también conocidos como hidratos de carbono, un macronutriente esencial. Los carbohidratos de la dieta se clasifican como monosacáridos, que son moléculas individuales de azúcar; disacáridos - dos moléculas de azúcar unidas entre sí; u oligosacáridos y polisacáridos, que son cadenas más largas de moléculas de azúcar. Los monosacáridos incluyen glucosa, galactosa y fructosa, que son todos los azúcares reductores. Los monosacáridos se encuentran a menudo no solo en la naturaleza,

Capítulo I.- Antecedentes

pero que son componentes de los disacáridos y polisacáridos. Por esta razón, algunos disacáridos, tales como maltosa, también son azúcares reductores.

2.8. Pretratamiento de la biomasa

El pretratamiento tiene como objetivo transformar la biomasa a utilizar cuando ésta es poco asequible a la fermentación. El tratamiento más general y aplicable a todas las materias primas, consistente en la trituración, molienda, pulverización, etc. de la biomasa, ya que su objetivo fundamental es reducir éstas a partículas pequeñas, de forma que aumente la superficie de contacto para los procesos posteriores.

Cuando se trabaja con biomasa que contiene almidón, se suele someter ésta, además, a una cocción, con objeto de gelatinizarla, es decir, impregnarla bien de agua para obtener una masa homogénea. La celulosa generalmente se trata con diversos agentes químicos (ácidos, principalmente), que permiten solubilizarla y separarla de la lignina, sustancia no fermentable.

2.9. Hidrólisis

La hidrólisis, o ruptura de las moléculas en medio acuoso, tiene como finalidad la transformación de los polímeros de glucosa (almidón y celulosa) en azúcares sencillos. Esta operación se efectúa, bien mediante fermentos o enzimas (hidrólisis enzimática), bien mediante el uso de reactivos químicos (hidrólisis química).

La hidrólisis enzimática se lleva a cabo con la ayuda de enzimas obtenidas de microorganismos, dependiendo las condiciones óptimas del proceso de la naturaleza del organismo productor de enzimas, y sus rendimientos del pretratamiento efectuado y del sustrato empleado.

La hidrólisis química de la celulosa se efectúa preferentemente con los ácidos clorhídrico y sulfúrico (hidrólisis ácida) o con una base fuerte (hidrólisis alcalina). Aunque en este caso la reacción es mucho más rápida que en la hidrólisis enzimática, las temperaturas de trabajo son muy superiores (mayor consumo de energía) y se producen problemas de corrosión. (INVIMA, 2016)

2.10. Termohidrólisis

La termo-hidrólisis o hidrólisis térmica es un proceso en el que cadenas de moléculas largas, como la celulosa y hemi-celulosa, se rompen para obtener los

Capítulo I.- Antecedentes

componentes originales de dichas moléculas. Este proceso resulta interesante debido a que permite realizar un pretratamiento de la biomasa de una manera económica para posteriormente obtener Productos de alto valor.

Debido a su abundancia, la biomasa celulósica ha atraído el interés como materia prima bioenergética que no compite con los productos alimentarios cultivados, evitando posibles efectos de precios negativos que el uso de estos cultivos para la bioenergía pudiese causar. La tecnología posibilita el uso de ciertos residuos industriales para productos de interés industrial.

Aplicando altas temperaturas y presiones se rompe la barrera de lignina y se descomponen las cadenas de celulosa. Si además se utiliza la explosión de vapor, se mejora el proceso. (HRS, 2019)

Ventajas:

- Es un proceso en continuo que permite una producción más eficiente
- El uso de intercambiadores de calor de superficie rascada asegura una operación sin presencia de ensuciamiento
- La recuperación energética genera una significativa reducción de costes en el proceso
- Este proceso se puede aplicar a diferentes materias primas
- Se puede usar para la producción de biogás y bioetanol
- Esta tecnología es aplicable en instalaciones ya existentes para mejorar el rendimiento de los procesos
- Dependiendo de la materia prima utilizada, se puede incrementar el rendimiento (produciendo más biocombustible) y reducir los tiempos de fermentación (con digestores más pequeños)

2.11. Optimización de procesos

Optimizar. Calco admitido del inglés to optimize, que se emplea en español a partir del último cuarto del siglo xx, normalmente en textos técnicos especializados, con el sentido de 'obtener el máximo rendimiento o provecho [de algo]' (RAE, 2005)

La optimización de procesos industriales es un asunto estrechamente vinculado al BPM. Pero antes de entrar más profundamente en este tema, es importante definir qué entendemos exactamente por optimización de procesos industriales:

La optimización de procesos industriales es el esfuerzo de la organización destinado a garantizar:

- El aumento máximo de la productividad

Capítulo I.- Antecedentes

- El aumento máximo de la seguridad
- La reducción de los costos de operación

El objetivo es mantener los niveles de productividad y eficiencia lo más alto posible, mediante el control y dosificación cuidadosa de las otras variables que pueden medirse durante un proceso de optimización industrial, tales como:

- Los niveles de inventario
- Los niveles de energía
- La temperatura de los materiales
- La temperatura de las calderas
- La presión de las calderas
- Los niveles de las cisternas
- La velocidad de las esteras

Y muchos otros, pero siempre dentro de los límites de seguridad. (Pacheco, 2017)

2.12. Diseños ortogonales

Taguchi innovó y simplificó el Diseño de Experimentos con la introducción de las tablas conocidas como arreglos ortogonales (A.O.), que son una modificación de las matrices de Hadamard (matrices ortogonales $n \times n$). A través de un A.O. se determina de una manera estandarizada la combinación de los niveles de los factores que se probarán en cada ensayo.

Los A.O. permiten examinar hasta un total de $n-1$ factores, siempre y cuando no se consideren las interacciones entre los mismos. Facilitan y, en algunos casos, reducen gran parte del esfuerzo del diseño experimental porque posibilitan evaluar simultáneamente numerosos factores con un número mínimo de ensayos, permitiendo así una disminución en los recursos necesarios para la experimentación. (ALICIA B., 2015)

2.13. Diseño Taguchi

Los diseños experimentales de Taguchi, están basados en arreglos ortogonales y se hicieron populares por el ingeniero Genichi Taguchi. Normalmente se identifican con un nombre como L_8 , que indica un arreglo con 8 corridas. Los diseños experimentales clásicos también están basados en arreglos ortogonales, pero se identifican con un exponente para indicar el número de variables - así un diseño experimental clásico 2^3 también tiene 8 corridas.

Capítulo I.- Antecedentes

Así, los diseños generados por los dos métodos parecen ser similares - y de hecho lo son. De esta forma algunas industrias y organizaciones que están al lado de los métodos de Taguchi y otros se inclinan por el método clásico.

La metodología de Taguchi enfatiza en:

- Diseño Robusto – es la búsqueda por el juego de condiciones para lograr un comportamiento del proceso óptimo.
- Minimización de la función de pérdida – es la minimización de la pérdida económica debido a las corridas en condiciones no-óptimas.
- Maximización de la Señal razón a Ruido – es el alcance de los mejores objetivos del proceso bajo las condiciones no controlables (ruido).
- Selección del diseño experimental para examinar las Gráficas Lineales, que permiten además la investigación de las interacciones de los efectos deseados, basados en el proceso conocido.

La metodología clásica enfatiza en:

- Experimentación secuencial para modelar el comportamiento del proceso (por ejemplo, para desarrollar modelos empíricos del proceso incluyendo el efecto de los factores de “ruido”).
- Predicción del comportamiento futuro del proceso, incluyendo los efectos óptimos - de los modelos empíricos.
- Investigación y el aislamiento de factores que afectan a la media y a la varianza, independientemente.
- Selección del diseño experimental, considerando las salidas, esto, en corridas de una fracción de un diseño factorial completo, por ejemplo, un diseño
- 28-4, investiga los efectos de los 8 factores en 16 corridas, y las salidas son conocidas antes de correr el experimento. La experimentación adicional puede ser requerida para identificar claramente los efectos de sus interacciones.

El uso de estos métodos es para diseñar experimentos para mejorar procesos y productos. (Kavanaugh, 2002)

3. METODOLOGÍA

El presente trabajo se llevó a cabo en el departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, en el laboratorio de Fermentaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Esta investigación consta de dos etapas diferentes, en la primera se le realizó un pretratamiento de secado y tamizado a la materia prima (bagazo de uva y granada) y se realizaron determinaciones de azúcares totales, reductores y capacidad antioxidante. En la segunda etapa se realizó la termo hidrolisis para incrementar la concentración de azúcares monoméricos en las muestras de los residuos de uva y granada.

3.1. Obtención y pretratamiento de la materia prima

Se obtuvieron los residuos de uva y granada en las regiones de Parras y Cuatro Ciénegas, respectivamente, Se les realizó un pretratamiento de secado en una estufa de aire caliente a 60°C por 24 horas.

3.2. Clasificación física de los residuos obtenidos previos a la hidrólisis

Se maceraron los residuos de uva y granada y se clasificaron utilizando tamices de mallas de tres tamaños, 1:#8 (2.38mm), 2:#10 (2.0 mm) y 3:#12 (1.68 mm)

3.3. Clasificación química del residuo obtenido previo a la hidrólisis.

3.3.1. Azúcares totales por el método de fenol-sulfúrico. (Dubois 1956).

Se realizó la curva de calibración utilizando glucosa al 0.1%. Según la tabla 1

Tabla 1 Parámetros para curva de calibración azúcares totales

Concentración (mg/ml)	Glucosa (μl)	Agua destilada (μl)	Fenol 5% (μl)	Ácido sulfúrico (μl)
0	0	500	500	1000
0.2	100	400	500	1000
0.4	200	300	500	1000
0.6	300	200	500	1000
0.8	400	100	500	1000
1	500	0	500	1000

Para la determinación de azúcares totales en el extracto se colocó 500 microlitros (μl) de la muestra en un tubo. Posteriormente 500 μl de fenol al 5% y se colocó a baño de agua con hielo por 5 minutos. Con los tubos dentro del baño con hielo, se añadió lentamente y por las paredes 1000 μl de ácido sulfúrico y se dejó reposar por 15 minutos. Para detener la reacción se agitó y se llevó a baño caliente a 50°C por 5 minutos. Se dejó a enfriar a temperatura ambiente por 5 minutos.

Se leyeron absorbancias en lector de microplacas BIOBASE EL-10 A ELISA a 470 nanómetros (nm).

3.3.2. Azúcares reductores

Para la determinación de azúcares reductores, se siguió la metodología de Miller (1959). Se preparó el ácido dinitro salicílico (DNS marca SIGMA), para 100 ml. Según la tabla 2

Tabla 2 Formulación del DNS

DNS	10 g/l
Fenol (Jalmek)	2 g/l
Sulfito de sodio (Jalmek)	0.5 g/l
Hidróxido de sodio (Jalmek)	10 g/l
Tartrato de sodio y potasio (Jalmek)	200 g/l

Se calentaron 10 ml de agua destilada a 50°C en un baño María (Thermo Scientific México), con agitación. Se agregó el DNS, hidróxido de sodio, tartrato de sodio y

potasio, fenol y sulfito de sodio en ese orden. Se aforo con agua destilada a 100 ml. Para la conservación se mantuvo en oscuridad y en refrigeración.

Para la curva de calibración se utilizó glucosa al 0.1%. Según la tabla 3.

Tabla 3 Parámetros para curva de calibración azúcares reductores.

Glucosa (µl)	Agua destilada (µl)	DNS (µl)
0	1000	1000
200	800	1000
400	600	1000
600	400	1000
800	200	1000
1000	0	1000

Para la determinación de azúcares reductores de la muestra, se adiciono 1000 µl de la muestra, y 1000 µl del DNS preparado. Se llevó a baño María (Thermo Scientific), a 50°C por 5 minutos. Se adiciono 5 ml de agua destilada, y se dejó reposar por 5 minutos a temperatura ambiente.

Se leyeron absorbancias en lector de microplacas BIOBASE EL-10 A ELISA a 540 nanómetros (nm).

3.4. Extracción de azúcares en la materia prima en fresco

Se colocó 1 g de muestra en 40 ml de agua destilada. Se agito por 20 minutos, y se filtró, recibido el filtrado se en vasos con hielo.

3.5. Optimización del proceso de hidrólisis térmica mediante un diseño de Taguchi.

La metodología de optimización que se realizó consistió en tres fases: planificación, experimentación y análisis. Para el diseño de experimentos se seleccionaron tres factores (tiempo de hidrólisis, presión en reactor y tamaño de partícula) que tienen una influencia significativa en la hidrólisis. El siguiente paso fue diseñar el experimento matricial y definir el procedimiento de análisis de datos (Prakasham, 2005) Se seleccionó una matriz ortogonal L-9 para los parámetros de control anteriores, con tres niveles de variación de factor (Tabla 4).

Tabla 4 Factores de hidrólisis seleccionados y niveles asignados para el tratamiento.

Señal	Factor	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
1	Tiempo de residencia en reactor (min)	5	10	15
2	Presión acumulada en reactor (psi)	10	15	20
3	Tamaño de diámetro de partícula (mm)	2.38	2.00	1.68

Se colocaron 2g de muestra en bolsas filtro para fibra, porosidad 25 micras y 500 ml de agua destilada en el reactor. La hidrólisis se llevó bajo condiciones y tiempos específicos según su diseño experimental (tabla 5).

Tabla 5 Diseño experimental realizado para la hidrólisis de residuos agroindustriales de uva y granada.

Tiempo	Presión	Tamaño
1	1	1
1	2	2
1	3	3
2	1	2
2	2	3
2	3	1
3	1	3
3	2	1
3	3	2

3.6. Análisis estadístico

Para el procesamiento de los datos se utilizó el paquete Statistical Analysis Systems (SAS) versión 9.0. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$). Para el diseño y análisis automático de los experimentos de Taguchi se empleó el software Minitab®. El análisis de Taguchi se procesó con la característica “más grande, mejor” para la identificación de la influencia de cada factor en la liberación de azúcares.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

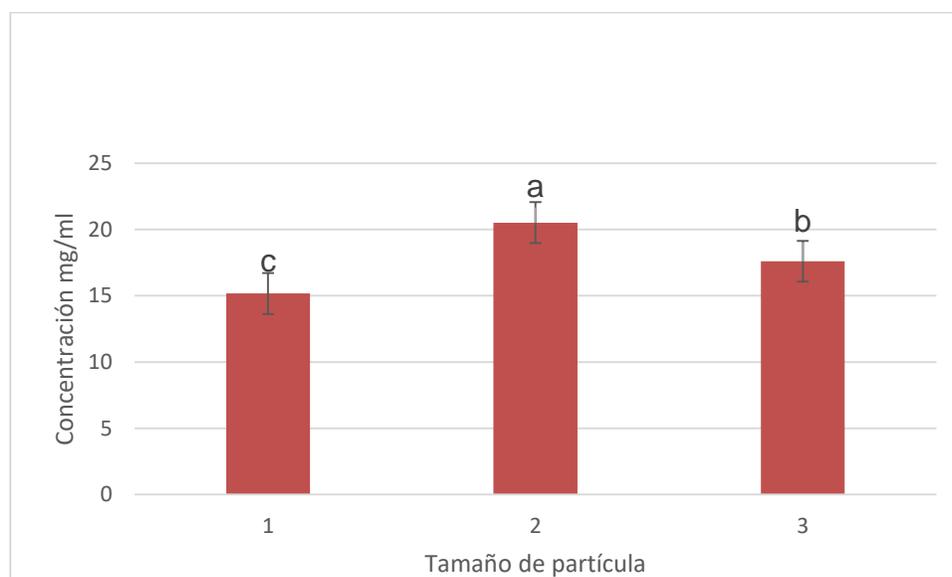
El análisis químico de las muestras permite determinar el potencial que estas tienen como materia prima para extraer azúcares monoméricos, y su aprovechamiento futuro. Así mismo, esta clase de análisis nos permite conocer la relación que existe entre la eficiencia de la extracción y el tamaño de partícula de la muestra a la que se trabaja.

La hidrólisis ácida generada por la técnica de Dubois (1956) es apropiada para cuantificar monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. La deshidratación de las hexosas a hidroximetilfurfural (HMF) y de las pentosas a furfural por efecto del ácido sulfúrico facilita la formación de complejos coloreados que permiten determinar el contenido de carbohidratos. (López-Legarda, y col, 2017)

4.1. Análisis químico de los residuos obtenidos.

4.1.1. Concentración de azúcares totales, reductores y capacidad antioxidante en el bagazo de uva, clasificada por tamaño de partícula.

La grafica 1 muestra que la mayor concentración de azúcares totales en el bagazo de Uva, clasificado por tamaño de partícula se obtuvo en la malla #10 (21mg/ml), superando en 40% la concentración del azúcares totales obtenida con la malla #8 (15mg/ml).



Grafica 1. Comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$) en la concentración de azúcares totales en bagazo de uva, por tamaño de partícula, 1:#8, 2:#10 y 3:#12

Se observó que de los tres diferentes tamaños de partícula se muestran variaciones en los valores obtenidos, siendo el tamaño de partícula entre 2.00 y 2.38 mm la que presenta los mejores valores de azúcares liberados para ambos materiales. Esta liberación puede ser posible debido a la facilidad con la que puede interactuar el material con el compuesto químico, ya que permite una mejor distribución superficial (Jiménez Islas, y col, 2012) mostraron el efecto de la concentración del ácido empleado en los procesos de hidrólisis y menciona la interferencia que se puede dar debido a la variación en el tamaño de partícula del material.

En general, los carbohidratos constituyen la mayor parte de los componentes vegetales. Son carbohidratos los diferentes azúcares, almidones, celulosa, hemicelulosas, pectinas y numerosas gomas.

Los azúcares como la glucosa, fructosa y sacarosa se acumulan especialmente en el jugo celular; los almidones son los carbohidratos de reserva y se encuentran en forma de plastidios; la hemicelulosa y pectinas son los polisacáridos que conforman el material estructural y las gomas son productos de desecho (Cristancho Cruz, y col, 2014) El sabor característico de las frutas se debe a la gran variación en composición y concentración de los azúcares; el color atractivo se debe principalmente a los glucósidos (antocianinas y antoxantinas) y la firmeza está determinada por los polisacáridos estructurales.

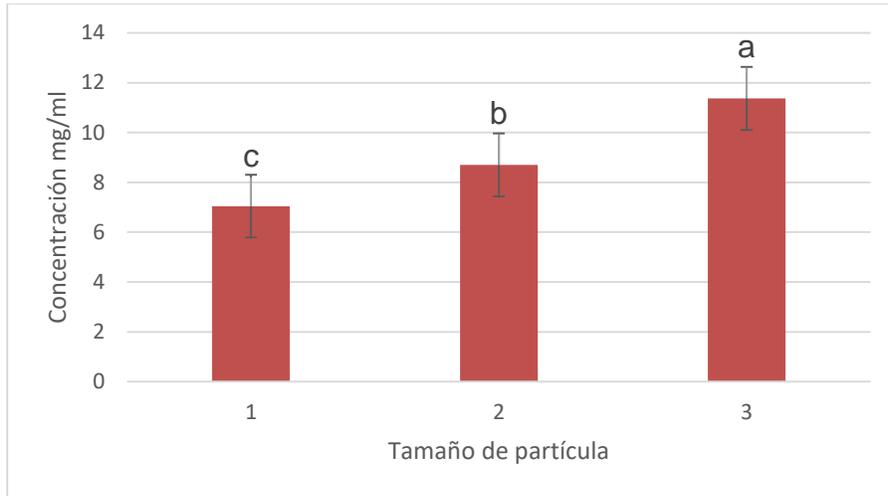
Un azúcar reductor es un término químico para un azúcar que actúa como un agente reductor y puede donar electrones a otra molécula. Específicamente, un azúcar reductor es un tipo de carbohidrato o azúcar natural que contiene un grupo aldehído o cetona libre. Los azúcares reductores pueden reaccionar con otras partes de la comida, como aminoácidos, para cambiar el color o el sabor de la comida.

El monosacárido más importante y azúcar reductor, es la glucosa, esto lleva a que éste sea el azúcar reductor generalmente considerado en las reacciones de glucosilación no enzimática de mayor interés biológico.

Los factores que afectan el proceso son el tiempo del tratamiento, la temperatura, el tamaño de partícula y el contenido de humedad. (Laura Cuervo, 2009) Es por lo antes mencionado, que se incrementa la importancia de conocer la concentración de azúcares totales en el bagazo de uva.

Se puede observar en la gráfica 2, que la malla #12, fue la que obtuvo una mayor concentración de azúcares reductores (11 mg/ml) superando en 57.14% la concentración en la malla #8 (7 mg/ml) que es la de mayor tamaño, Esto sugiere

que existe una relación importante entre la eficiencia de la hidrólisis térmica y el tamaño de partícula en la liberación de azúcares.



Grafica 2 . Comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$) en la concentración de azúcares reductores en bagazo de uva, por tamaño de partícula, 1: #8,2:#10 y 3:#12

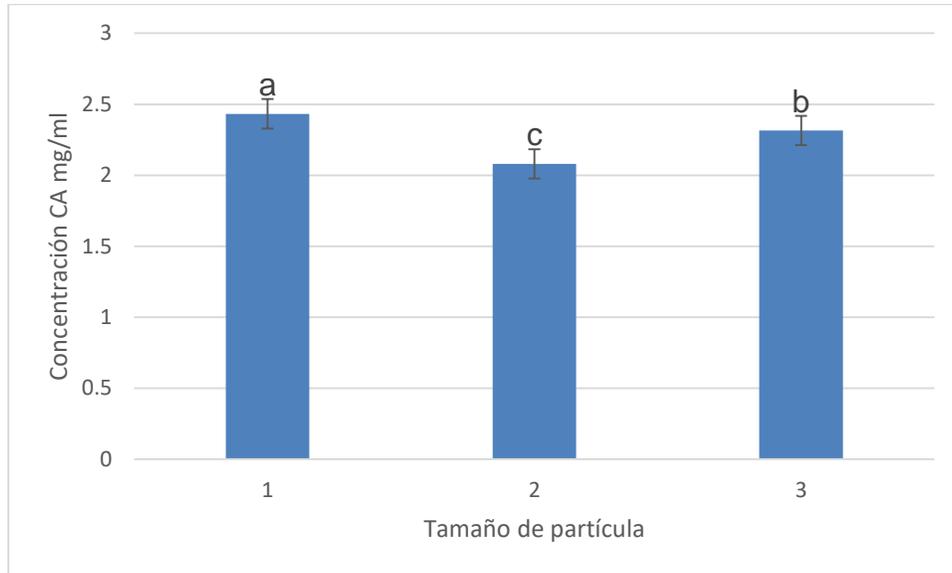
Capacidad Antioxidante

Los organismos han desarrollado sistemas de defensa antioxidante para hacer frente a la atmósfera oxidativa del planeta y al metabolismo oxidativo que permitió la evolución de la vida. Lo que permitió alcanzar eficientes sistemas amortiguadores antioxidantes que mantienen la capacidad de reducir a los radicales libres. (Escorza, 2019)

La actividad antioxidante es un parámetro que determina qué tanto el compuesto antioxidante evita que su sustrato se oxide. (Najera, 2013)

La grafica 3 muestra que la mayor concentración de capacidad antioxidante en el bagazo de uva, clasificado por tamaño de partícula se obtuvo en la malla #8 (2.43

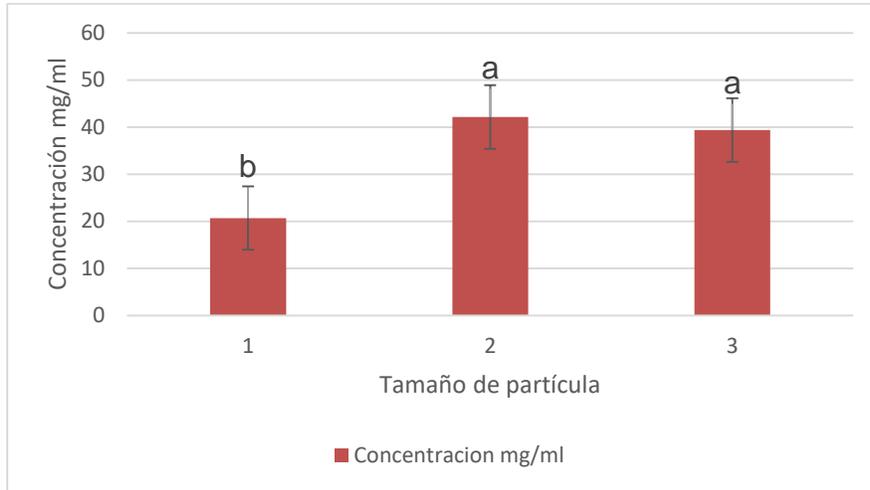
mg/ml) superando en 17.39% la concentración de capacidad antioxidante obtenida con la malla #10 (2.07mg/ml),



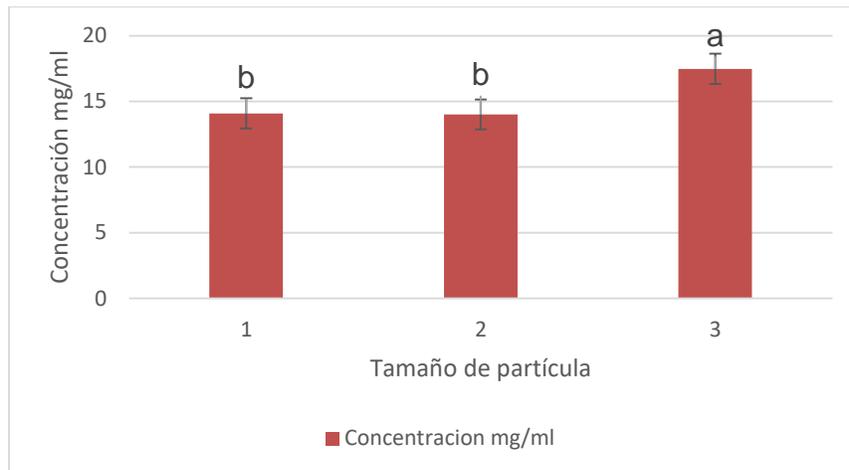
Grafica3 Comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$) en la concentración de capacidad antioxidante en bagazo de uva, por tamaño de partícula, 1:#8, 2:#10 y 3:#12

4.1.2. Concentración de azúcares totales, reductores y capacidad antioxidante en la cascara de granada, clasificada por tamaño de partícula.

La grafica 4, muestra que la concentración más alta de azúcares totales en cáscara de granada, clasificado por tamaño de partícula, se obtuvo en la malla #10 (42 mg/ml), superando en 100% la concentración del azúcares totales obtenida con la malla #8 (21 mg/ml). Mientras que la concentración mayor de azúcares reductores (Grafica 5), se obtuvo en la malla #12 (17 mg/ml), superando en 21.42% la concentración en la mallas #10 y #8 (14 y 14.1 mg/ml respectivamente).

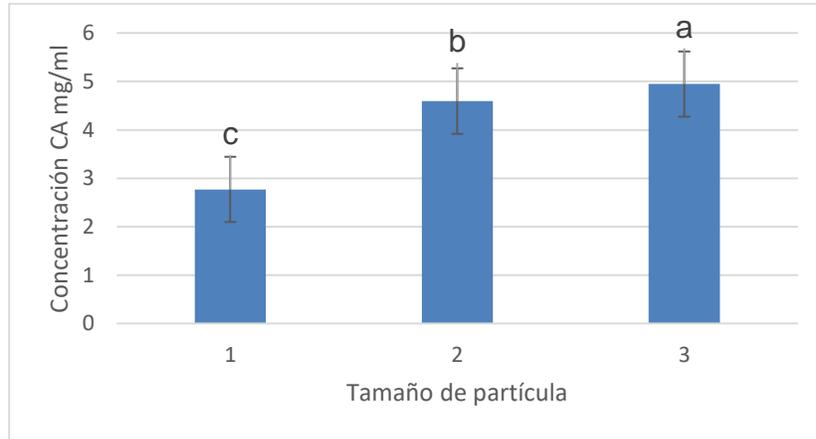


Grafica 4. Concentración de azúcares totales en cascara de granada, por tamaño de partícula.



Grafica 5. Concentración de azúcares reductores en cascara de granada, por tamaño de partícula.

La Grafica 6 muestra que la mayor concentración de capacidad antioxidante en cascara de granada, clasificado por tamaño de partícula se obtuvo en la malla #12 (4.94mg/ml), superando en 78.33% la concentración de capacidad antioxidante obtenida con la malla #8 (2.77mg/ml).



Grafica 6. Concentración de capacidad antioxidante en cascara de granada, por tamaño de partícula.

4.2. Optimización del proceso de hidrólisis mediante un diseño de Taguchi L-9.

Se realizó la optimización del proceso de hidrólisis térmica mediante el diseño de Taguchi L-9, analizando tres factores en tres niveles cada uno, tiempo 5, 10 y 15 minutos, presión 10, 15 y 20 Psi y tamaño de partícula #8, #10 y #12 (Tabla 6).

Tabla 6 Diseño de Taguchi L-9, analizando tres factores (tiempo, presión y tamaño de partícula) de tres niveles cada uno.

	1	2	3
Tiempo	5 min	10 min	15 min
Presión	10 Psi	15 Psi	20 Psi
Tamaño (malla)	#8 (2.38 mm)	#10 (2.0 mm)	#12

Tratamientos	Tiempo (min)	Presión (Psi)	Tamaño
T1	5	10	8
T2	5	15	10
T3	5	20	12
T4	10	10	10
T5	10	15	12
T6	10	20	8
T7	15	10	12
T8	15	15	8
T9	15	20	10

De los análisis obtenidos en el software Minitab®

No se encontraron efectos significativos de los factores tiempo, presión y tamaño de partícula en los niveles evaluados para el hidrolizado líquido (tablas 7 y 8).

Tabla 7 . ANOVA del diseño Taguchi para los AT y AR de residuos de granada.

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Tiempo	2	103.21	103.21	51.61	4.78	0.173
Presión	2	28.02	28.02	14.01	1.30	0.435
Tamaño	2	57.06	57.06	28.53	2.64	0.274
Residual Error	2	21.59	21.59	10.79		
Total	8	209.88				

Tabla 8 ANOVA del diseño Taguchi para los AT y AR de residuos de granada.

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Tiempo	2	141.53	141.53	70.77	5.53	0.153
Presión	2	37.8	37.8	18.9	1.48	0.404
Tamaño	2	35.02	35.02	17.51	1.37	0.422
Residual Error	2	25.59	25.59	12.79		
Total	8	239.94				

Para el caso de la optimización en la liberación del slurry del residuo de uva, se encontró que los tratamientos tienen un efecto significativo en la liberación de los azúcares reductores (Tabla 9), siendo el tiempo el factor que más contribuye a la liberación de glucosa. Para las muestras de AT de uva y granada, así como para AR de granada en el slurry no se mostraron efectos significativos.

Tabla 9 ANOVA del diseño Taguchi para los AR del slurry derivado de la hidrólisis térmica.

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Tiempo	2	0.4726	0.4726	0.2363	26	0.037
Presión	2	0.356	0.356	0.178	19.6	0.049
Tamaño	2	0.3701	0.3701	0.185	20.4	0.047
Residual Error	2	0.0182	0.0182	0.0091		
Total	8	1.2169				

La diferencia en los ANOVAS y el impacto de los factores evaluados en la liberación de los azúcares monoméricos se puede deber a las características del material vegetal. Al emplear los residuos de procesos industriales donde se requieren los

Capítulo V.- Resultados y Discusión

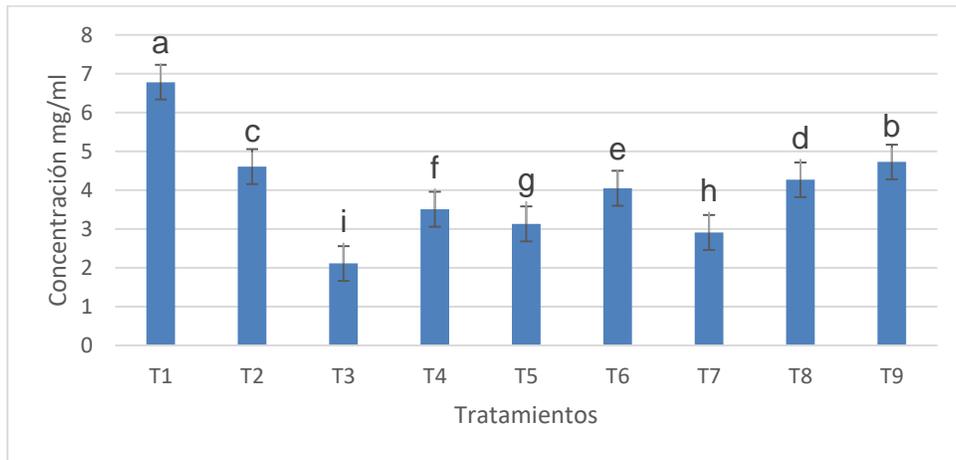
azúcares como materia prima, los residuos carecen de azúcares hidrosolubles disponibles para extracción acuosa a bajas condiciones de tiempo y temperatura

El proceso de optimización permitió distinguir el factor que más afecta a la liberación de azúcares monoméricos de glucosa, aunque no se mostraron efectos estadísticos significativos para la mayoría de los elementos evaluados.

4.5. Valorización de azúcares liberados por el proceso de optimización del tratamiento de hidrolisis térmica

4.5.1. Cuantificación de azúcares en el bagazo de uva, en el slurry y el caldo obtenido.

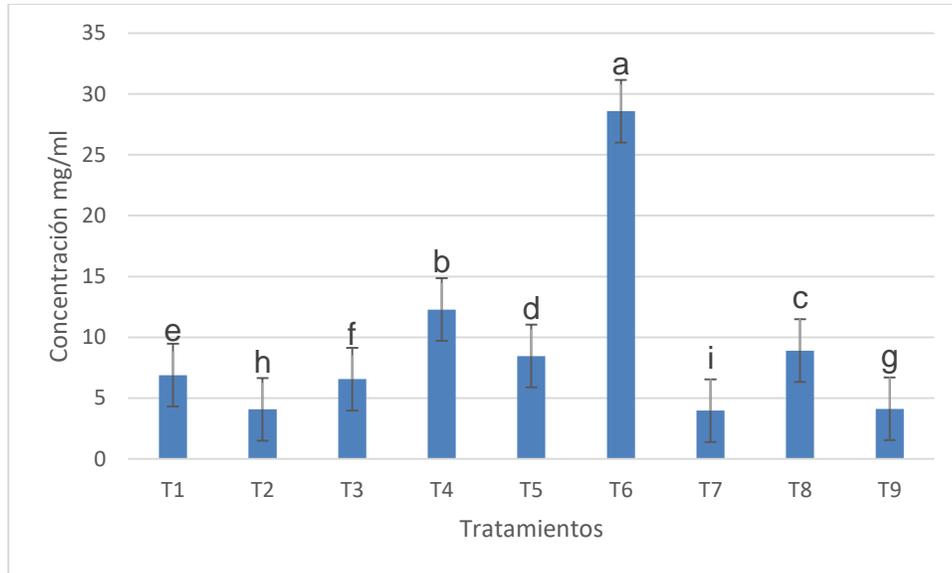
La grafica 7 muestra que la concentración de azucars totales en el slurry de residuos de uva fue mayor en el tratamiento 1 (Tiempo 5min, 10psi y tamaño de partícula #8), con una concentración de 6.784 mg/ml, superando en 220.90% a la concentración de los azúcares totales obtenida en el tratamiento 3 (5min, 20 psi y tamaño de partícula #12) con una concentración de 2.114 mg/ml.



Grafica 7. Concentración de azúcares totales el slurry hidrolizado de bagazo de uva, por diferentes tratamientos.

Cabe mencionar que en el slurry de uva la mayor concentración de azucars totales ocurre en el tratamiento 1 y dicha concentración se encuentra por debajo de las referencias de la gráfica 1, lo que sugiere que buena parte de los azucars liberados totales se localizan en el caldo hidrolizado de gabazo de uva.

La grafica 8 muestra que en el caldo de uva hidrolizado el incremento en la concentración de azúcares totales fue mayor en el tratamiento 6 (Tiempo 10min, 20psi y tamaño de partícula #8), con una concentración de 28.581 mg/ml, superando en 619.92% la concentración de azúcares totales obtenida en el tratamiento 7 (15 min, 10psi y tamaño de partícula #12) con una concentración de 3.970 mg/ml.



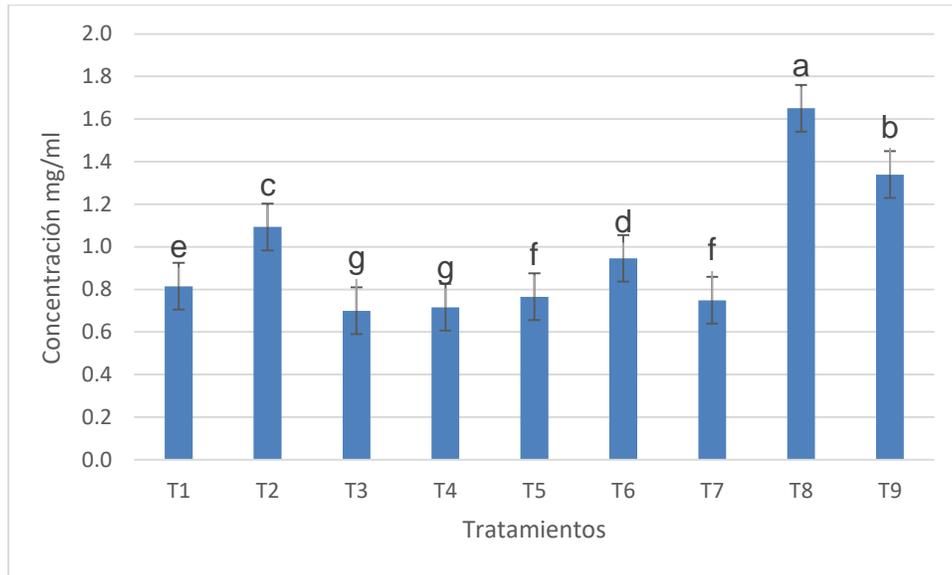
Grafica 8. Concentración de azúcares totales el caldo hidrolizado de bagazo de uva, por diferentes tratamientos.

Tras la termohidrólisis, se observó que concentración de 28.58 mg/ml es 36.10% mayor que en lo obtenido previo a la hidrolisis térmica. Siendo un factor determinante en ambos casos el tamaño de partícula #10.

4.5.2. Cuantificación de azúcares reductores de la hidrolisis térmica de bagazo de uva en el slurry y el caldo obtenido.

Capítulo V.- Resultados y Discusión

La grafica 9 muestra que en el slurry de uva hidrolizado la concentración de azúcares reductores fue mayor en el tratamiento 8. (Tiempo 15 min, 15psi y tamaño de partícula #8), con una concentración de 1.651 mg/ml, superando en 135.85% la concentración de azúcares reductores obtenida en el tratamiento 3 (5min, 20psi y tamaño de partícula #12) con una concentración de 0.700 mg/ml.

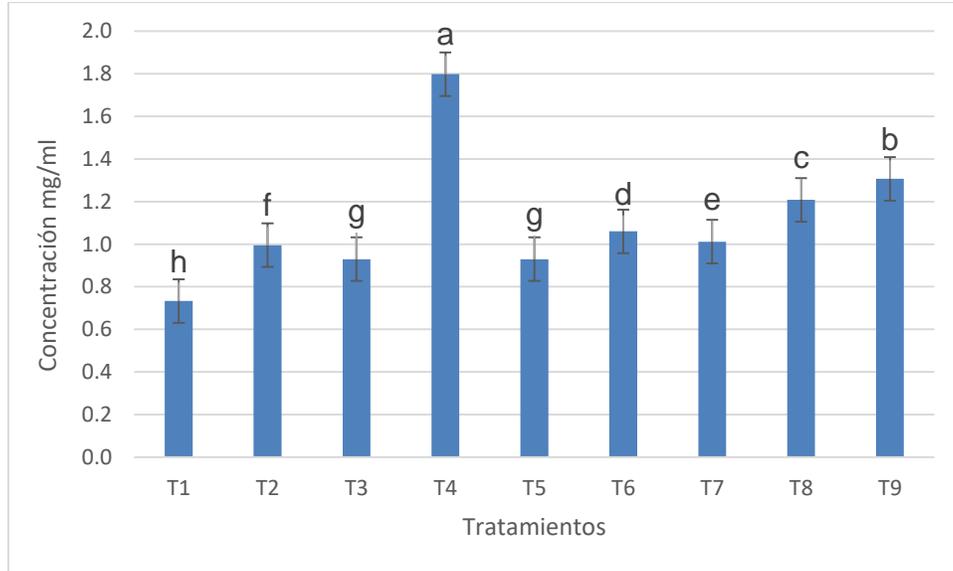


Grafica 9. Concentración de azúcares reductores en el slurry hidrolizado de bagazo de uva, por diferentes tratamientos.

Esto puede deberse a que el material lignocelulósico es fragmentado, triturado y molido a diferentes tamaños de partícula para aumentar el área de contacto, facilitando el acceso de las celulosas a las fibras de celulosa y aumentando su conversión (Laura Cuervo, 2009)

La grafica 10 muestra que en el caldo de uva hidrolizado la concentración de azúcares reductores fue mayor en el tratamiento 4. (Tiempo 10min, 10psi y tamaño de partícula #10), con una concentración de 1.798 mg/ml, superando en 145.29%

la concentración de azúcares reductores obtenida en el tratamiento 1 (5min, 10psi y tamaño de partícula #8) con una concentración de 0.733 mg/ml.

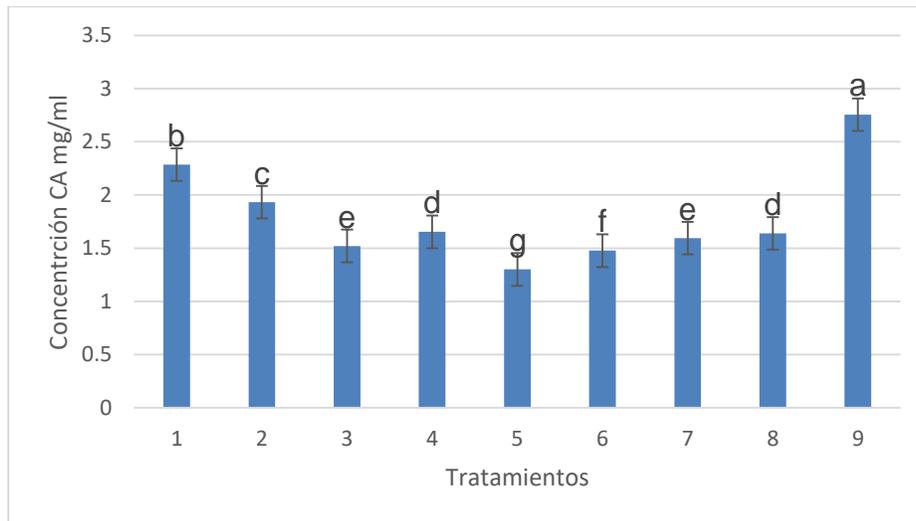


Grafica 10. Concentración de azúcares reductores el caldo hidrolizado de bagazo de uva, por diferentes tratamientos.

4.5.3. Cuantificación de la capacidad antioxidante tras la hidrolisis térmica del bagazo de uva en el slurry y el caldo.

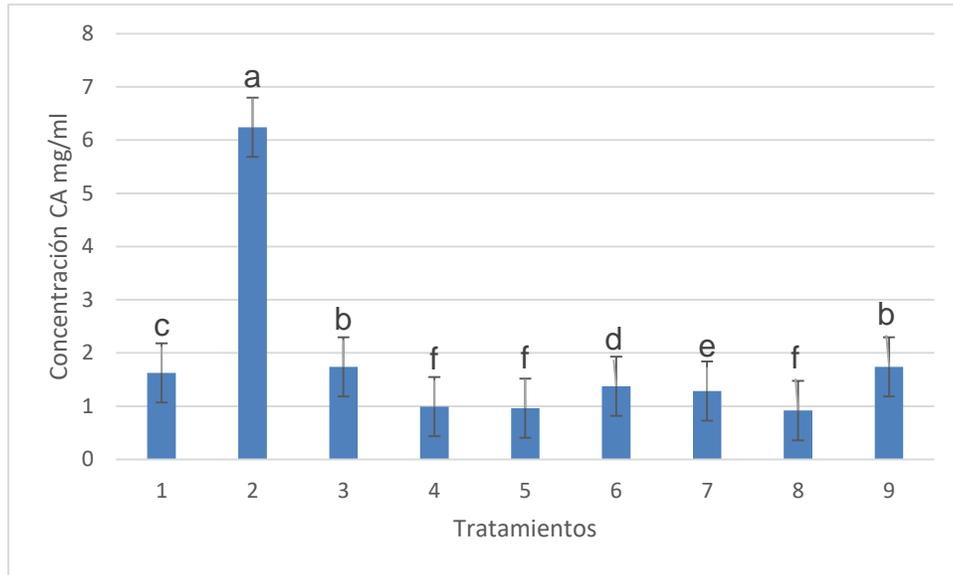
Capítulo V.- Resultados y Discusión

La grafica 11 muestra que en el slurry de uva hidrolizado la capacidad antioxidante que fue mayor en el tratamiento 9. (Tiempo 15 min, 20psi y tamaño de partícula #10), con una concentración de 2.75 mg/ml, superando en 111.53% la concentración de capacidad antioxidante obtenida en el tratamiento 5 (10min, 15psi y tamaño de partícula #12) con una concentración de 1.3 mg/ml.



Grafica 11. Concentración de capacidad antioxidante del slurry hidrolizado de bagazo de uva, por diferentes tratamientos.

La grafica 12 muestra que en el caldo de uva hidrolizado la capacidad antioxidante fue mayor en el tratamiento 2. (Tiempo 5 min, 15 psi y tamaño de partícula #10), con una concentración de 6.24 mg/ml, superando en 585.71% la concentración de capacidad antioxidante obtenida en el tratamiento 8 (15 min, 15 psi y tamaño de partícula #8) con una concentración de 0.91 mg/ml.

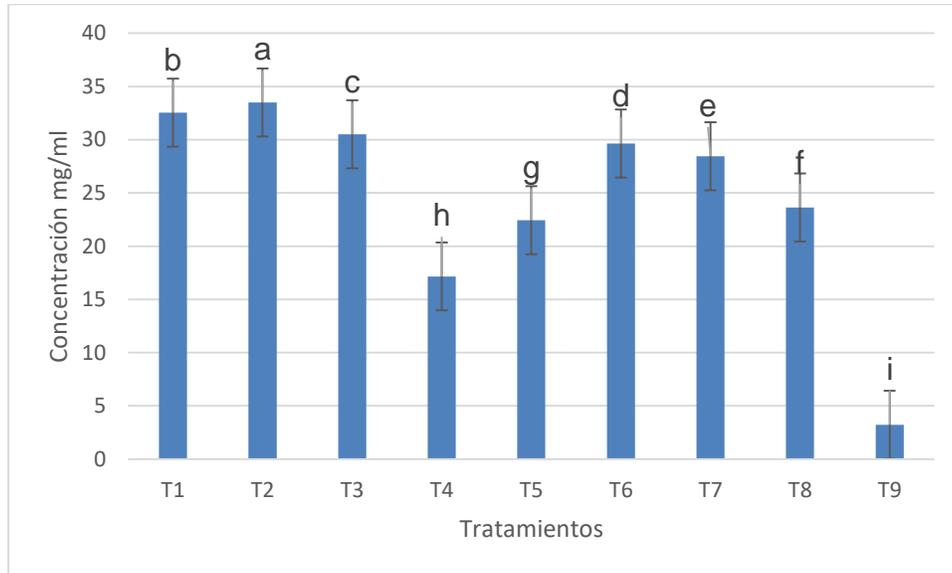


Grafica 12. Concentración de capacidad antioxidante del caldo hidrolizado de bagazo de uva, por diferentes tratamientos.

4.5.4. Cuantificación de azúcares totales de la hidrolisis térmica de cascara de granada en el slurry y el caldo obtenido.

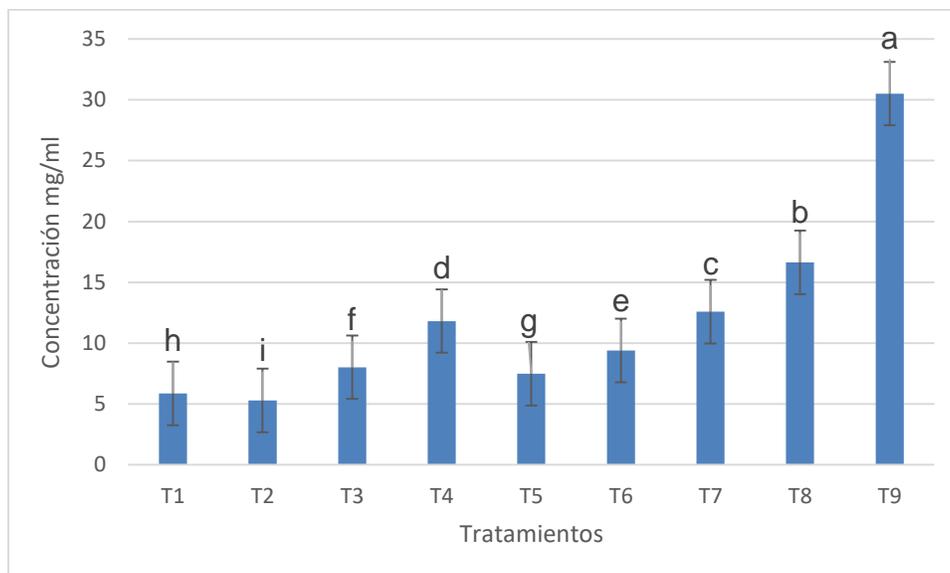
La grafica 13 muestra que en el slurry de cascara de granada hidrolizado el incremento en la concentración de azúcares totales fue mayor en el tratamiento 2 (Tiempo 5 min, 15psi y tamaño de partícula #10), con una concentración de 33.511mg/ml, superando en 943.30% la concentración de los azúcares totales

obtenida en el tratamiento 9 (15 min, 20 psi y tamaño de partícula #10) con una concentración de 3.212 mg/ml.



Grafica 13. Concentración de azúcares totales el slurry hidrolizado de cascara de granada, por diferentes tratamientos.

La grafica 14 muestra que en el caldo de cascara de granada hidrolizado el incremento en la concentración de azucars totales fue mayor en el tratamiento 9 (Tiempo 15 min, 20 psi y tamaño de partícula #10), con una concentración de 30.517 mg/ml, superando en 482.71% la concentración de azúcares totales obtenida en el tratamiento 2 (5 min, 15 psi y tamaño de partícula #10) con una concentración de 5.237 mg/ml.



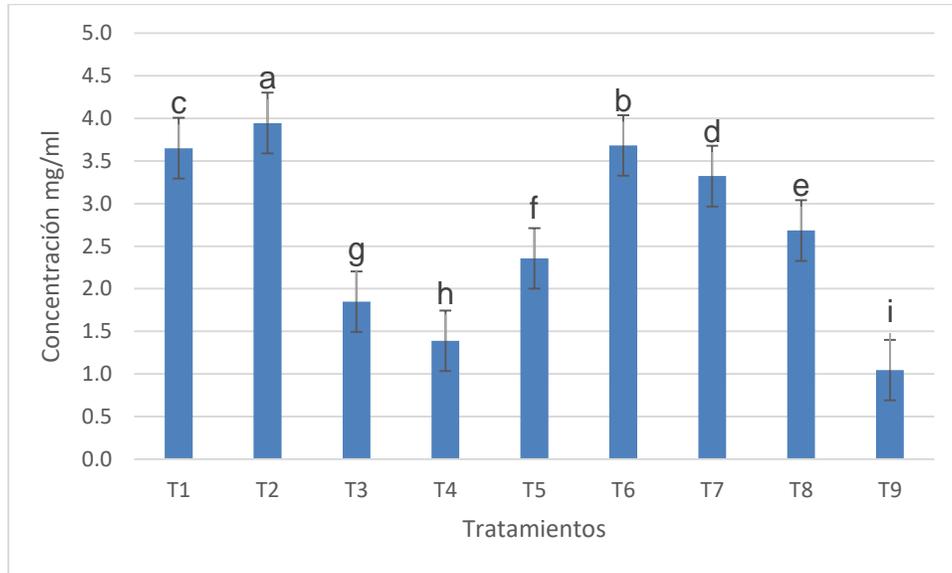
Grafica 14 Concentración de azúcares totales el caldo hidrolizado de cascara de granada, por diferentes tratamientos.

Tras la hidrólisis térmica los mejores resultados para el slurry y el caldo hidrolizado de cascara de granada corresponden al tratamiento 2 y tratamiento 9 respectivamente, siendo de igual manera determinante el tamaño de partícula #10, con una presión entre los 15 y 20 psi y un tiempo entre los 5 y 15 minutos de exposición. A diferencia de lo que sucede con los residuos de uva, tanto en el slurry como en el caldo hidrolizado, aquí se presentan concentraciones muy similares, de 33.511 mg/ml para el slurry y 30.517 mg/ml para el caldo. Ambas concentraciones por separado son menores que las obtenidas previo a la hidrólisis térmica, sin embargo en un proceso en continuo esto puede volverse un factor importante si se quiere llegar a la optimización del proceso, aprovechando tanto el slurry como el caldo hidrolizado, superando así las concentraciones de referencia que se encuentran en este trabajo.

4.5.5. Cuantificación de azúcares reductores de la hidrólisis térmica de cascara de granada en el slurry y el caldo obtenido.

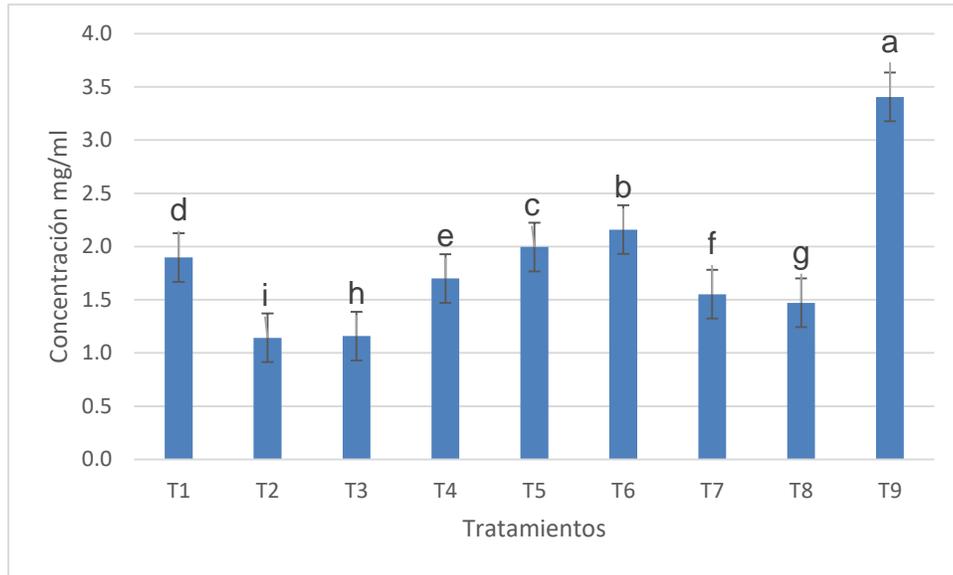
La grafica 15, muestra que en el slurry de cascara de granada hidrolizado el incremento en la concentración de azuceres reductores fue mayor en el tratamiento 2 (Tiempo 5 min, 15 psi y tamaño de partícula #10), con una concentración de 3.946 mg/ml, superando en 277.96% la concentración del azúcares reductores obtenida

en el tratamiento 9 (15 min, 20 psi y tamaño de partícula #10) con una concentración de 1.044 mg/ml.



Grafica 15. Concentración de azúcares reductores del slurry hidrolizado de cascara de granada, por diferentes tratamientos.

La grafica 16 muestra que en el caldo de cascara de granada hidrolizado la concentración de azucars reductores fue mayor en el tratamiento 9 (Tiempo 15min, 20 psi y tamaño de partícula #10), con una concentración de 3.405 mg/ml, superando en 197.90% la concentración de azúcares reductores obtenida en el tratamiento 3 (5 min, 20 psi y tamaño de partícula #12) con una concentración de 1.143 mg/ml.

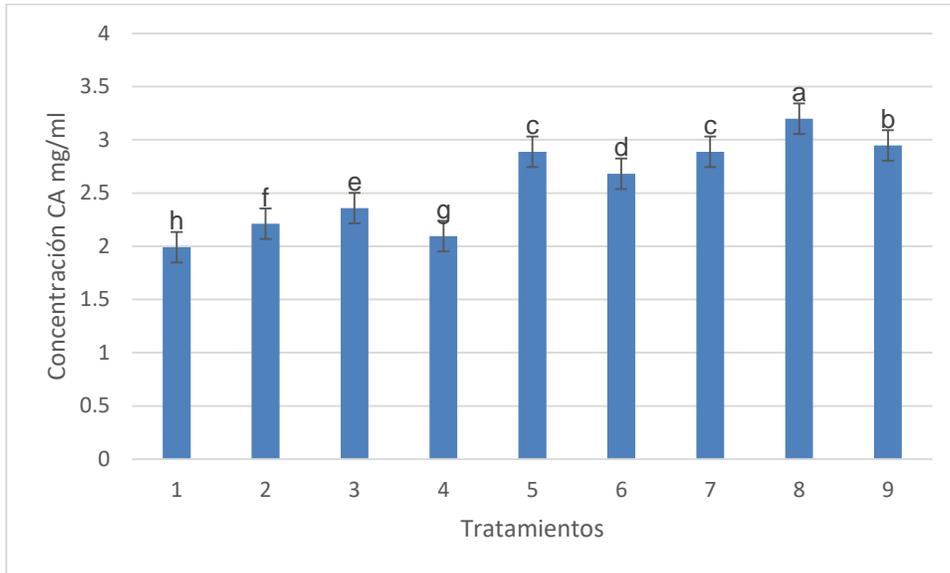


Grafica 16 Concentración de azúcares reductores del caldo hidrolizado de cascara de granada, por diferentes tratamientos.

4.5.6. Cuantificación de la capacidad antioxidante tras la hidrolisis térmica de la cascara de granada en el slurry y el caldo.

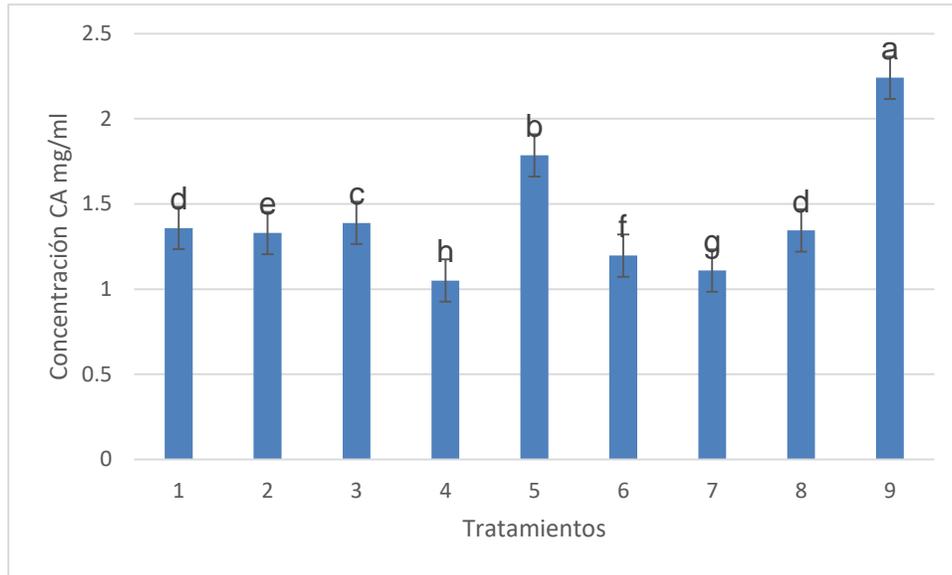
La grafica 17 muestra que en el slurry de cascara de granada hidrolizado la capacidad antioxidante fue mayor en el tratamiento 8 (Tiempo 15 min, 15 psi y

tamaño de partícula #8), con una concentración de 3.19 mg/ml, superando en 60.30% la concentración de capacidad antioxidante obtenida en el tratamiento 1 (5 min, 10 psi y tamaño de partícula #8) con una concentración de 1.99 mg/ml.



Grafica 17 . Concentración de capacidad antioxidante del slurry hidrolizado de cascara de granada, por diferentes tratamientos.

La grafica 18 muestra que en el caldo de cascara de granada hidrolizado la capacidad antioxidante fue mayor en el tratamiento 9 (Tiempo 15 min, 20 psi y tamaño de partícula #10), con una concentración de 2.24 mg/ml, superando en 113.33% la concentración de capacidad antioxidante obtenida en el tratamiento 4 (10 min, 10 psi y tamaño de partícula #10) con una concentración de 1.05 mg/ml.



Grafica 18 .Concentración de capacidad antioxidante del caldo hidrolizado de cascara de granada, por diferentes tratamientos.

Tras la hidrolisis térmica, la concentración de agentes antioxidantes obtenida tanto de la uva como de la cascara de granada no superan por mucho a las de referencia de las gráficas 3 y 6, sin embargo se observa en las gráficas 11, 12 y 18 que las concentraciones más elevadas siguen mostrando la contante relacionada con el tamaño de partícula #10.

5. CONCLUSION

En general, para llevar a cabo estos procesos, la materia prima a utilizar tendrá que pasar por un proceso de transformación física, como lo es la adecuación del tamaño

Capítulo V.- Resultados y Discusión

de partícula y en algunos casos métodos de conservación, especialmente si se desea realizarse en un sistema continuo.

El incremento en la concentración de azúcares tras los diferentes tratamientos, se logró efectivamente con los residuos de uva y granada, tomando en cuenta los resultados previos a la hidrólisis térmica plasmadas en este trabajo. Sin embargo, queda claro que el tiempo de exposición es una variante a considerar en el futuro, sobre todo si se desea llegar a mayores concentraciones en la extracción de azúcares de residuos agroindustriales.

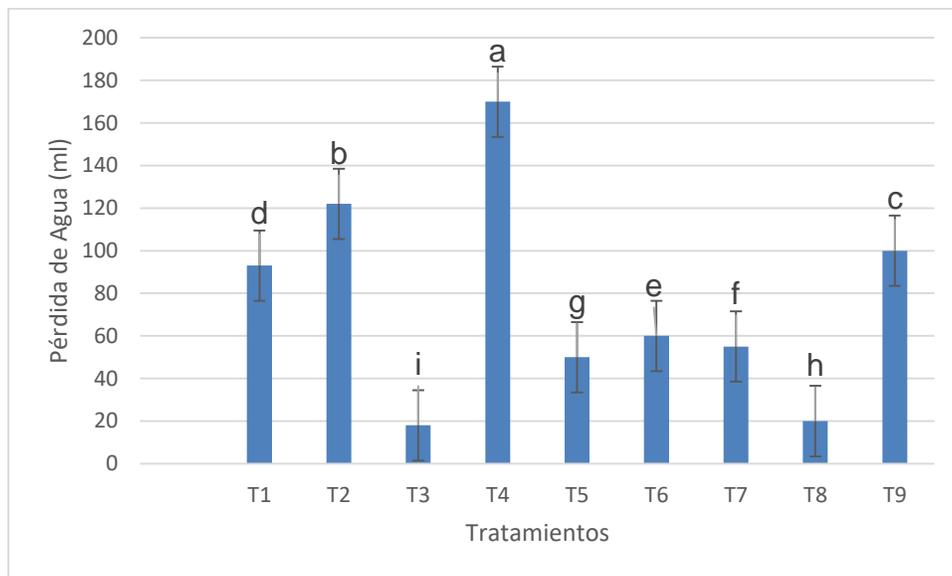
De acuerdo a los resultados obtenidos, existe una relación de eficiencia en la extracción de azúcares monoméricos y el tamaño de partícula empleado, siendo un factor determinante el tamaño intermedio empleado en esta investigación.

Por lo tanto, el tiempo de exposición en un proceso de hidrólisis térmica y el tamaño de partícula de la materia prima, son factores importantes a considerar que afectan la liberación de glucosas de la materia lignocelulósica, a partir de residuos de uva y granada.

6. Anexos.

6.1. Cuantificación de pérdida de agua en la hidrolisis por explosión de vapor de bagazo de uva.

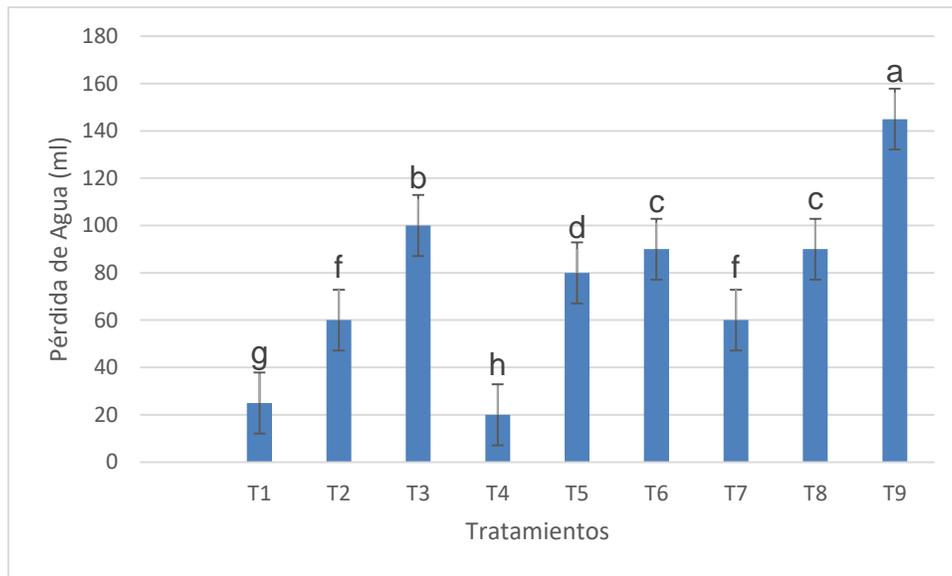
La grafica 19, muestra que la perdida de agua en la hidrolisis por explosión de vapor en el bagazo de uva fue mayor en el tratamiento 4 (Tiempo 10min, 10Psi y tamaño de partícula #10), con una pérdida de 170 ml/500ml, superando en 844.4% la pérdida del tratamiento 3 (5 min, 20 psi y tamaño de partícula #12) con una pérdida de 18 ml/500ml.



Grafica 19. Perdida de agua en la hidrólisis térmica en bagazo de uva, por diferentes tratamientos.

6.2. Cuantificación de pérdida de agua en la hidrólisis por explosión de vapor en cascara de granada.

La grafica 20, muestra que la perdida de agua en la hidrólisis por explosión de vapor en la cascara de granada fue mayor en el tratamiento 9 (Tiempo 15 min, 20 psi y tamaño de partícula #10), con una pérdida de 145 ml/500ml, superando en 625% la pérdida del tratamiento 4 (10 min, 10 psi y tamaño de partícula #10) con una pérdida de 20 ml/500ml.



Grafica 20. Perdida de agua en la hidrólisis por explosión de vapor en cascara de granada, por diferentes tratamientos.

7. Bibliografía

- Cristancho Cruz, y col. (2014). Manual de métodos generales para la determinación de carbohidratos. *UPCT*.
- ALICIA B., H. (2015). LA METODOLOGÍA DE TAGUCHI EN EL CONTROL ESTADÍSTICO DE LA CALIDAD. *INVESTIGACION OPERATIVA, Universidad Tecnológica Nacional - Facultad Regional Bahía Blanca.*, 69.
- BADUI DERGAL, S. (2006). *Química de los Alimentos*. Ciudad de México: PEARSON EDUCACIÓN México.
- BIOENAREA. (2011). Biorrefinerías: una oportunidad de negocio para las zonas rurales y las industrias. *Guía de actuación en las regiones participantes en el Proyecto BIOREF*, 4-8.
- Casco, J. M. (2008). *Compostaje*. Madrid: Mundi-Prensa.
- Chávez-Sifontes, M. (2013). LIGNINA, ESTRUCTURA Y APLICACIONES: MÉTODOS DE. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 16-17.
- Escorza, M. A. (2019). LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL. BASES Y APLICACIONES. *Revista de Educación Bioquímica*.
- FAO. (2014). *Residuos Agrícolas y Residuos Ganaderos*. Obtenido de www.fao.org/publication: <http://www.fao.org/3/a-bp843s.pdf>
- FLÓREZ MONTES, C. (2018). APROVECHAMIENTO POTENCIAL DE RESIDUOS DE LA. *Facultad de Ciencias Basicas*, 2.
- HRS, E. (2019). <https://www.hrs-heatexchangers.com>. Recuperado el 28 de Marzo de 2019, de TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES: <https://www.hrs-heatexchangers.com/es/medioambiental/tratamiento-de-aguas-residuales/>
- INVIMA, G. T. (2016). Programa de bebidas alcohólicas, manual de inspección con enfoque en el riesgo. *Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos*, 15.
- Jiménez Islas, y col. (2012). OBTENCIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES MEDIANTE HIDRÓLISIS ÁCIDA DE *Beta vulgaris* L. *Rev. Int. Contam. Ambie.*, 151-158.
- Kavanaugh, C. (2002). LOS DISEÑOS DE TAGUCHI CONTRA LOS DISEÑOS CLÁSICOS DE EXPERIMENTOS. *Conciencia Tecnológica, Departamento de Ingeniería Industrial, Instituto Tecnológico de Aguascalientes.*, 5.

- Laura Cuervo, J. L. (2009). Lignocelulosa Como Fuente de Azúcares Para la Producción de Etanol. *BioTecnología*, 16.
- López, F. (2010). *BIORREFINERÍA DEMATERIALES LIGNOCELULÓSICOS*. Huelva: Boletín del CIDEU 8-9: 75-82.
- López-Legarda, y col. (2017). Comparación de métodos que utilizan ácido sulfúrico para la determinación de azúcares totales. *REVISTA CUBANA DE QUIMICA*, 180-198.
- María Jesús Riveros, A. P. (2014). Consumo de fructosa y sus implicaciones para la salud; malabsorción de fructosa e hígado graso no alcohólico. *Nutricion Hospitalaria*, 493.
- Moldes, A. B. (2002). Production of a cellulosic substrate susceptible to enzymatic hydrolysis from. *Agr. Food Sci. Finland*, 51-58.
- Najera, P. (2013). EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE LA CÁSCARA DE LIMA (*Citrus limetta* Risso) Y DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE. *Biotecnia*.
- Pacheco, J. (4 de Octubre de 2017). *HEFLO*. Recuperado el 29 de Marzo de 2019, de <https://www.heflo.com>: <https://www.heflo.com/es/blog/optimizacion-procesos/optimizacion-procesos-industriales/>
- Prakasham, R. S. (2005). Alkaline Protease Production by an Isolated *Bacillus circulans* under Solid-State Fermentation Using Agroindustrial Waste: Process Parameters Optimization. *Biotechnology progress*, 1380-1388.
- RAE, R. A. (2005). *Diccionario panhispánico de dudas* ©.
- Sacramento Rivero, J. (2010). DIAGNOSTICO DEL DESARROLLO DE BIORREFINERIAS EN MEXICO. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*.
- SAGARPA. (2015). *Plan de manejo de residuos*. Zacatecas.
- SAGARPA. (2018). Plan Rector 2018. *Consejo Mexicano Vitivinícola*, 29-30.
- SIB, S. d. (2016). *Sector Azucarero*. Guatemala: Departamento de Análisis Mscropudencial y Estándares de Supervicion. .
- Susana, S. B. (2012). Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, presente y futuro. *Revista de la Sociedad Mexicana de la Biotecnología y Bioingrniería A.C.* , 14-46.