

**Estudio del efecto de tipo, concentración  
de ácido y tiempo de digestión en hidrólisis de  
forraje de camote  
(*Ipomoea batatas*)**

**José Ramón Alonso Marengo**

**Zamorano, Honduras**

Diciembre, 2009

ZAMORANO  
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Estudio del efecto de tipo, concentración  
de ácido y tiempo de digestión en hidrólisis de  
forraje de camote  
(*Ipomoea batatas*)**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el Grado  
Académico de Licenciatura

Presentado por

**José Ramón Alonso Marengo**

**Zamorano, Honduras**

Diciembre, 2009

**Estudio del efecto de tipo, concentración  
de ácido y tiempo de digestión en hidrólisis de  
forraje de camote  
(*Ipomoea batatas*)**

Presentado por:

**José Ramón Alonso Marengo**

Aprobado:

---

Francisco Javier Bueso, Ph.D.  
Asesor principal

---

Luis Fernando Osorio, Ph.D.  
Director  
Carrera de Agroindustria Alimentaria

---

Edgar Edmundo Ugarte, M.Sc.  
Asesor

---

Raúl Espinal, Ph.D.  
Decano Académico

---

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.  
Rector

## RESUMEN

Alonso, J. 2009. Estudio del efecto de tipo, concentración de ácido y tiempo de digestión en hidrólisis de carbohidratos en rastrojo de forraje de camote (*Ipomoea batatas*). Proyecto de graduación del programa de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. 30 p.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de dos ácidos minerales, tres concentraciones de ácido y dos tiempos de digestión a temperatura constante en la hidrólisis de carbohidratos provenientes del rastrojo de forraje de camote. El estudio se realizó a partir del análisis proximal del rastrojo de forraje de camote con el objetivo de determinar el porcentaje de carbohidratos totales pertenecientes en dicho sustrato, luego se realizó un experimento ordenado en un diseño experimental de parcelas subdivididas con arreglo factorial. Los resultados fueron analizados estadísticamente por un análisis de varianza (ANDEVA) y separación de medias por medio de la prueba Tukey con ( $P < 0.05$ ). En la primera etapa se determinó la Humedad, cantidad de Proteína Cruda, Extracto Etéreo, Fibra Cruda, Cenizas y Extracto Libre de Nitrógeno. En la segunda etapa se aplicaron 12 tratamientos variando entre tipos de ácido mineral (ácido sulfúrico y ácido fosfórico), concentraciones de ácido (2, 4 y 6%) y tiempos de digestión (una y dos horas) con tres repeticiones resultando en 36 unidades experimentales. Se determinó que el tratamiento óptimo para la digestión en el rastrojo de forraje de camote fue el ácido fosfórico y sulfúrico al 2% por 1 hora al obtener la máxima degradación de lignina en un 67.21 y 62.29% respecto al contenido inicial, respectivamente. Las condiciones evaluadas fueron más severas de lo necesario respecto al forraje de camote ya que hubo hidrólisis de celulosa.

**Palabras clave:** análisis proximal, azúcares reductores, hemicelulosa, lignina.

## CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas .....	ii
Resumen .....	iii
Contenido .....	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	v
1.INTRODUCCIÓN.....	1
2.REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
3.MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	18
5.CONCLUSIONES.....	27
6.RECOMENDACIONES .....	28
7.LITERATURA CITADA.....	29

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Contenido de humedad y materia seca aparente del rastrojo de camote y contenido de humedad total ajustado con base en el contenido de humedad remanente en la muestra seca. ....	18
2. Resumen de resultados obtenidos del análisis proximal realizado al rastrojo de forraje de camote ( <i>Ipomoea batatas</i> ) en base seca. ....	19
3. Resultados del análisis proximal en base húmeda. ....	20
4. Efecto de la hidrólisis ácida sobre la producción de azúcares reductores en el rastrojo de camote. ....	21
5. Efecto de la hidrólisis ácida sobre la producción de carbohidratos totales en el rastrojo de camote. ....	22
6. Efecto de la hidrólisis ácida sobre el contenido de fibra neutro detergente en el rastrojo de camote tratado. ....	22
7. Efecto de la hidrólisis ácida sobre el contenido de fibra ácido detergente en el rastrojo de camote tratado. ....	23
8. Efecto de la hidrólisis ácida sobre el contenido de hemicelulosa en el rastrojo de camote tratado. ....	24
9. Efecto de la hidrólisis ácida sobre el contenido de lignina en el rastrojo de camote tratado. ....	25
10. Resumen de los tratamientos que mostraron mayor degradación de lignina. ....	26
11. Efecto de la hidrólisis ácida sobre el contenido de celulosa en el rastrojo de camote tratado. ....	26

# **1. INTRODUCCIÓN**

En años recientes ha crecido el interés en cuanto a la transformación de la biomasa a etanol, ya que es considerado como la alternativa de combustible líquido más limpia para sustituir los combustibles fósiles. El rendimiento de los carbohidratos hidrolizados va a depender principalmente de la composición y características de cada sustrato, luego dependerá del tipo de hidrólisis (ácida, enzimática o combinada), del tipo y concentración del ácido, la temperatura, presión, tiempo de digestión y del uso de organismos, enzimas, o combinación de éstas y del control sobre la degradación de los mismos carbohidratos que se hidrolizan durante el proceso.

## **1.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA**

Para la producción de etanol lignocelulósico es necesario hidrolizar los carbohidratos de la estructura celular. Las fuentes a las que se pueden acudir son varias (prácticamente todo tejido vegetal crudo o residual de otras actividades productivas agrícolas o industriales). La hidrólisis de los carbohidratos estructurales de la biomasa depende de una variedad de factores como especie, edad fisiológica, condiciones de cultivo, composición química, cantidad de cenizas y luego dependerá del tratamiento que se aplique al material.

## **1.2 IMPORTANCIA DEL ESTUDIO**

Considerando que las materias primas son tan amplias como la diversidad de tejido vegetal existente, constantemente se estudian distintas fuentes de material lignocelulósico en busca de aquellos que puedan ser adecuados a un procesamiento industrial procurando bajos costos de producción y altos rendimientos. Con el fin de encontrar un método factible, eficiente y rentable para la obtención de carbohidratos a partir de materiales lignocelulósicos es necesario explorar distintos materiales y analizar tanto el material a tratar, como las condiciones más apropiadas para procesarlo.

## **1.3 LIMITE DEL ESTUDIO**

Durante el presente estudio se evaluó el efecto que tuvo el tipo, concentración de ácido y tiempo de digestión en la degradación de la estructura de la célula vegetal en el rastrojo de forraje de camote. Se analizaron los carbohidratos totales y azúcares reductores obtenidos en el hidrolizado, de igual forma se evaluó la Fibra Neutro Detergente (FND), Fibra Ácido Detergente (FAD), Hemicelulosa, Lignina y Celulosa en el residuo del sustrato.

## **1.4 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS**

Hipótesis nula: Los tratamientos evaluados no fueron significativamente distintos en el contenido de lignina del rastrojo de forraje de camote.

Hipótesis alterna: Por lo menos uno de los tratamientos evaluados fue significativamente distinto en el contenido de lignina del rastrojo de forraje de camote.

Hipótesis nula: Los tratamientos evaluados no fueron significativamente distintos en el contenido de azúcares reductores del rastrojo de forraje de camote.

Hipótesis alterna: Por lo menos uno de los tratamientos evaluados fue significativamente distinto en el contenido de azúcares reductores del rastrojo de forraje de camote.

Hipótesis nula: Los tratamientos evaluados no fueron significativamente distintos en el contenido de hemicelulosa del rastrojo de forraje de camote.

Hipótesis alterna: Por lo menos uno de los tratamientos evaluados fue significativamente distinto en el contenido de hemicelulosa del rastrojo de forraje de camote.

## **1.5 OBJETIVOS**

### **1.5.1 Objetivo general**

- Analizar y evaluar el rastrojo de forraje de camote como sustrato para obtención de carbohidratos por medio de hidrólisis ácida.

### **1.5.2 Objetivos específicos**

- Evaluar el efecto de dos ácidos minerales: ácido sulfúrico y fosfórico en la degradación de lignina sobre forraje de camote.
- Evaluar el efecto de concentraciones al 2, 4 y 6% de ácido sulfúrico y fosfórico en la hidrólisis de celulosa del rastrojo de forraje de camote.



## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 BIOMASA COMO FUENTE DE CARBOHIDRATOS**

De acuerdo con Cheng (2004), es posible degradar los carbohidratos estructurales de la biomasa en sus monómeros estructurales de modo que se pueden obtener azúcares fermentables con fines de producción de etanol. La importancia de esta nueva área de investigación recae en la tendencia creciente de la producción de etanol a partir de fuentes de almidón. Ésta tendencia compite con los productos agrícolas ricos en almidón y áreas de cultivo que normalmente estarían destinados a la producción de alimentos. Por ejemplo, Cheng (2004) afirma que cerca de 655 millones de bushels de maíz fueron utilizados en la industria de etanol, lo que corresponde al 92% de la carga de alimentos producida en el 2001. Teniendo esto en cuenta, se explora ampliamente otras fuentes de carbohidratos como por ejemplo: residuos forestales, subproductos de la industria alimentaria y residuos de actividades agrícolas conforme indica Sánchez *et al.* (2003). Tanaka (2005), concuerda que en los últimos años ha crecido el interés hacia la producción de etanol de segunda generación con base en la despolimerización de carbohidratos a partir de materiales lignocelulósicos.

### **2.2 PROCEDIMIENTO PARA HIDRÓLISIS DE BIOMASA**

Cheng (2004), Sánchez *et al.* (2003) y Zacchi *et al.* (2004) son unos cuantos de muchos investigadores que han realizado estudios del efecto de ácidos, concentraciones de ácido, temperaturas y tiempos de digestión. Cada estudio ha demostrado distintas técnicas para la obtención de carbohidratos a partir de material lignocelulósico variando desde fibra de trigo como subproducto de la industria alimentaria, hasta rastrojos de paja de centeno y cultivos de pastos con fines de producción de carbohidratos no provenientes de almidones. Actualmente se habla de etapas de hidrólisis para los carbohidratos, esto se debe a que la biomasa no está conformada de un solo tipo de carbohidrato si no de varios y la estructura, ordenamiento, y función entre los distintos carbohidratos también son factores que se deben tener en consideración.

Rosero (2008) indica que la concentración del ácido y la temperatura son directamente proporcionales a la despolimerización de los carbohidratos. Sin embargo, también es proporcional a la degradación de los carbohidratos hidrolizados y a la generación de inhibidores de fermentación. Por lo tanto, es necesario evaluar y seleccionar el tratamiento que genere una combinación de altos rendimientos de azúcares fermentables con pocos inhibidores de fermentación o poca degradación de los mismos azúcares. Por otro lado Gámez (2008), coincidió en su estudio que a partir de determinada concentración, el

efecto llega a ser contraproducente en cuanto a la obtención de etanol, ya que los azúcares tienden a degradarse y generar inhibidores. Gámez también indica que el contenido de nitrógeno proteico interviene de forma negativa en proceso involucrando los azúcares hidrolizados con los aminoácidos libres en la reacción de Millard.

López *et al.* (2008), habla de concentraciones de 4% de ácido sulfúrico durante 1 hora a 121 °C para un tratamiento posterior al principal con el propósito de degradar la lignocelulosa residual al tratamiento anterior y así aumentar el rendimiento de carbohidratos obtenidos. Cabe recalcar que las concentraciones utilizadas varían ampliamente de acuerdo con cada autor. Fonseca (2006) utilizó concentraciones de 2, 4, 6 y 8% de ácido sulfúrico y tiempos de digestión de 4, 8 y 12 horas a 100 °C. Lo anterior se debe a los diferentes sustratos utilizados. Fonseca utilizó pajas de cereales mientras que López evaluó astillas de eucalipto y tallos de girasol entre otros. El procesamiento a utilizar es distinto de acuerdo con las características de cada sustrato a estudiar.

### **2.2.1 Hidrólisis ácida**

Actualmente el ácido más estudiado es el ácido sulfúrico por ser el que ha demostrado tener los rendimientos en cuanto a carbohidratos hidrolizados, comúnmente se utilizan concentraciones desde 0.5 hasta 8%, estas concentraciones varían de acuerdo con el material y se combinan con rangos de temperatura que varían desde 80 a 210 °C y tiempos de digestión desde 20 minutos a 12 horas. Generalmente no se recomienda que los tiempos de digestión sean mayores a 1 hora, la razón por la que los tiempos no se prolongan más de eso es principalmente a que los carbohidratos que se van hidrolizando quedan expuestos a las altas temperaturas en presencia del ácido, por lo que se degradan y dejan de ser métodos aplicables para la utilización de carbohidratos.

### **2.2.2 Hidrólisis enzimática**

Generalmente se utilizan hongos, bacterias y enzimas como amilasas y celulasas sintéticas o mejoradas. Sin embargo, la hidrólisis enzimática por sí sola es obsoleta ya que sus rendimientos son muy bajos y prácticamente insignificantes debido a que la estructura de la lignocelulosa cumple el propósito de barrera. Sí se utiliza la hidrólisis enzimática en un sistema de hidrólisis por etapas o hidrólisis combinada en la que su efecto es mayor y ayuda a elevar los rendimientos de carbohidratos hidrolizados una vez degradada la lignina con otros tratamientos más severos (Iranmahboob 2002).

### **2.2.3 Hidrólisis por etapas**

Zacchi *et al.* (2004), indica que el pretratamiento es crucial para la utilización de fibra resistentes. Sus estudios demuestran varias etapas en el orden que se presenta a continuación:

**2.2.3.1 Sacarificación:** Utiliza amilasas (p. e.  $\alpha$ -amilasas y amilogucosidasa) a 85 °C por 4 horas a un pH 6 para hidrolizar los remanentes de almidón en el subproducto industrial. Resultando en un hidrolizado rico en glucosa y una fase sólida. Ésta última se lava con agua destilada hasta que el agua escurrida indique un pH entre 5.5 y 6.

**2.2.3.2 Pretratamiento:** Las concentraciones de ácido utilizadas en el proceso que implementó Iranmahboob (2002), variaron desde 0.1% hasta 0.5% con temperaturas entre 110 y 210 °C con tiempos de digestión entre 20 y 60 minutos utilizando una relación del 5% de materia seca sobre solución de ácido.

**2.2.3.3 Hidrólisis enzimática:** Al sustrato obtenido en el pretratamiento se le ajustó el pH a 5 utilizando hidróxido de sodio y se le agregaron enzimas celulolíticas. En su documento, Zacchi (2004) utilizó Celluclast y Ultraflo (enzimas comerciales de SIGMA) a 50 °C y dejando actuar durante 72 horas monitoreando la cantidad de carbohidratos hidrolizados.

Cabe mencionar que el proceso debe ser adecuado de acuerdo con el sustrato a utilizar. Por ejemplo, un residuo agrícola como forraje no requiere de un proceso de sacarificación con amilasas y dependiendo de cuan recalcitrante sea, va a variar en cuanto a la concentración del ácido a utilizar, temperatura y tiempo para su digestión. Sin embargo los procedimientos más utilizados demuestran que el ácido sulfúrico es el que ha rendido mejores resultados en cuanto al propósito de degradar la hemicelulosa. No obstante se afirma repetidamente el hecho que a mayor concentración de ácido también es más probable la degradación de los carbohidratos que se van hidrolizando en el proceso, por lo que se recurre a concentraciones diluidas que van desde 0.1 hasta 6%. Sin embargo, altas concentraciones resultan en degradación de los carbohidratos por lo que se recomienda utilizar concentraciones bajas y temperaturas altas (0.1 a 4% de ácido y temperaturas entre 110 y 210 °C) (Zacchi 2004).

## 2.3 CARBOHIDRATOS ENCONTRADOS EN LA BIOMASA

De acuerdo con Iranmahboob (2002), aproximadamente el 90% del peso seco de la mayoría del tejido vegetativo se encuentra en forma de celulosa, hemicelulosa, pectina y lignina. Como resultado de la hidrólisis en la biomasa se han reconocido varios carbohidratos y se asocian a las estructuras de la pared celular de la biomasa. Los rendimientos específicos de qué tipos de carbohidratos se pueden obtener de las distintas estructuras va a depender de la biomasa a tratar más que del tratamiento a aplicar. De la hidrólisis de las pajuelas de centeno se puede obtener xilosa, junto con glucosa y arabinosa en orden decreciente provenientes de la hemicelulosa degradada (Cheng 2004). Mientras que en la degradación de la lignina se obtiene fenoles ya que está formada por anillos fenólicos. Sánchez (2003), incluso divide sus tratamientos en hidrólisis de hemicelulosa e hidrólisis de celulosa basándose en los carbohidratos resultantes. Esto se debe a que los polímeros de carbohidratos son distintos y variados, algunos son relativamente más fácilmente hidrolizados como la hemicelulosa, mientras que se

requieren tratamientos mucho más severos para hidrolizar la celulosa ya que se encuentra protegida bajo la lignina. A razón de esto se dividen los tratamientos por etapas en las que se extrae el hidrolizado entre tratamientos para aumentar el rendimiento de carbohidratos totales obtenidos a partir de la biomasa.

## **2.4 ANÁLISIS PROXIMAL**

De acuerdo con la FAO (1993), el análisis proximal sirve para determinar el contenido de los macro componentes de un alimento. Estos son el contenido de humedad, grasa, proteína, fibra cruda y cenizas. Para efectos de este estudio, se realizará un análisis proximal basado en el manual de métodos del Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano con el propósito de determinar el contenido de carbohidratos totales del rastrojo de forraje de camote.

## **2.5 LEY DE BEER LAMBERT**

Ésta ley se basa en la relación empírica que relaciona la absorción de luz con las propiedades del material atravesado. En el análisis espectrofotométrico que se realizó en este estudio se implementa esta ley para determinar la concentración. Esta ley establece la relación entre la absorbancia de una determinada sustancia a determinada longitud de onda y la concentración de un componente determinado. El espectrofotómetro indica el porcentaje de tramitancia (% T) de una determinada muestra. Realizando una curva de calibración se puede determinar la regresión lineal que correlacione la concentración con el dato obtenido en el espectrofotómetro, sin embargo no se utiliza el porcentaje de tramitancia si no que se utiliza para determinar la absorbancia por medio de la Ecuación 1:

$$\text{Abs} = 2 - \log_{10} (\% T) \quad [1]$$

Donde:

Abs = Absorbancia

% T= porcentaje de tramitancia

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 UBICACIÓN**

El análisis y el procedimiento de hidrólisis del rastrojo de forraje de camote fueron realizados en las instalaciones de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano en el Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano, departamento de Francisco Morazán, Kilómetro 32 al Este de Tegucigalpa, Honduras.

#### **3.2 MATERIALES**

##### **3.2.1 Materiales**

- Agitadores de vidrio
- D-(+)-Glucosa: Sigma 99.5%
- Balones de digestión Kjeldahl 650 ml
- Bandejas de Aluminio 4 x 10x1 ½ pulgada
- Beaker Berzelius de 600 ml
- Beakers para extracción Goldfish
- Beakers: Pyrex Beakers Griffin
- Buretas: Kimax 50 ml escala 1/100
- Crisoles de porcelana perforados
- Crisoles de porcelana
- Crisoles Gooch
- Dedal de alundum, Goldfish
- Desecador: Cienceware
- Material desecante: sílica gel
- Erlenmeyer: Kimax y Pirex 125 y 300 ml
- Guantes sin polvo: Global Gloves & safety Manufacturing, 5 mills de grosor
- Kim-wipes: Kimtech Science, código 34155, tamaño 4.4" x 8.4"
- Pañuelos de fibra de algodón
- Marcador de tinta indeleble
- Microfibras de vidrio: Supelco
- Papel Aluminio: DIAMOND 60.9m x 30.4 cm
- Papel encerado: Reynolds 76.8m x 302 mm

- Papel filtro: “Student paper” 4” de diámetro
- Parafilm M: PM-992, 2pulgadas x 250 pies
- Perlas de vidrio
- Pinzas de acero
- Pipetas kimax-51: 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml con escala 1/10
- Pizetas de plástico Fisher brand 1000 m
- Platos Petri PYREX
- Rastrojo de Forraje de Camote (*Ipomoea batatas*)
- Tubos de ensayo: Corning Pyrex, 16 x 150mm
- Tubos de ensayo: “Kymble Glass Inc” 25 x 200 mm
- Tubos para espectrofotometría: “Milton Roy Company” 12, ½ pulgadas “test tubes” 33-17-80

### 3.2.2 Equipo

- Balanza analítica: “Ohaus Adventurer”, artículo No. AR2140
- Balanza: “Ohaus heavy duty”, “solution balance”, capacidad de 20 Kg- 45 lb.
- Bomba de vacío: Emerson, modelo SASSNGTE-4870
- Destilador Goldfish: Labconco, serie 203433
- Destilador Macro Kjeldahl: Labconco
- Espectrofotómetro: Spectronic 20 “Milton Roy Company”, artículo No. 333172
- Bombillo: Cetron CEA59RX
- Extractor de éter goldfish
- Hornilla: Termolyne tipo 2,300, modelo No. Hp 2305B
- Hornilla: Corning, modelo pc-620D
- Digestor Kjeldahl: Labconco, catálogo 603000, serie 02198364
- Horno 105 °C: “Precision” serie 2101/5
- Horno 60 °C: Napco, modelo 630, serie 7-82-1733-15
- Molino de Laboratorio: Thomas Wiley modelo 4 serie 105
- Mufla: Syborn Termolyne, modelo FA1730, Serie =8508869
- Pulverizador de muestras: Cyclotec Tecator, modelo 1093, serie 3829
- “Vortex”: Fisher Genie 2, modelo G-560, serie 2281965

### 3.2.3 Reactivos

- Acetato de potasio anhidro: EMD Especificaciones A.C.S.
- Acido Acético: EMD especificaciones A.C.S.
- Ácido Clorhídrico: Fisher certificado A.C.S plus, 37.4%
- Ácido Fosfórico: Sigma Aldrich 98%
- Ácido Oxálico: Fisher Certificado A.C.S 100%

- Ácido Sulfúrico: J.T. Baker 93%
- Borato de Sodio Decahidratado: J.T.Baker reactivo A.C.S.
- Bromuro de cetil trimetil amonio: Sigma-Aldrich 95%
- Butanol terciario: Fisher Certificado, Clase 1B
- EDTA (etildiamida tetraacetato): Fisher certificado A.C.S.
- Etanol: Merck absoluto para análisis.
- Etilen glicol: Fisher 99+%
- Fenol: Fisher Reagents A.C.S 99% min.
- Fosfato de sodio: Fisher Certificado A.C.S.
- Hidróxido de Sodio: J.T. Baker, Pellets, reactivo A.C.S.
- Nitrato de plata: J.T. Baker 100.1%
- Nitrato férrico nonahidratado: Fisher certificado A.C.S.
- Permanganato de potasio: Fisher certificado A.C.S.
- Sulfato de plata: J.T. Baker Certificado A.C.S.
- Sulfato Lauril Sódico Fisher NF/FCC
- Verde de Bromocresol, J.T. Baker reactivo A.C.S.

### 3.3 MÉTODOS

#### 3.3.1 Determinación del análisis proximal del rastrojo de forraje de camote

El propósito de este análisis es determinar la cantidad la Fibra Cruda (% FC) y cuantificar el resto de carbohidratos en la fibra. Se utilizaron los siguientes métodos establecidos por la AOAC adecuados para su aplicación dentro del Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano:

- Humedad AOAC 934.01
- Extracto etéreo AOAC 920.39
- Proteína cruda AOAC 2001.11
- Fibra curda AOAC 962.09
- Cenizas AOAC 945.46
- Fibra ácido detergente (FAD) AOAC 973.18
- Fibra neutro detergente (FND) AOAC 2002.04

Luego por diferencial se estima el porcentaje de Extracto Libre de Nitrógeno (% ELN) que se asocia con la cantidad de carbohidratos digeribles presentes en la materia como se ilustra en la Ecuación 2.

$$\% \text{ ELN} = 100 - (\% \text{ H} + \% \text{ EE} + \% \text{ PC} + \% \text{ Cz} + \% \text{ FC}) \quad [2]$$

**3.3.1.1 Análisis estadístico:** Se analizó la desviación estándar y el coeficiente de variación en los resultados de las pruebas corridas por triplicado como herramientas estadísticas para evaluar el control que se tuvo sobre los análisis.

### 3.3.2 Determinación de humedad del rastrojo de forraje de camote

Se pesaron 2.05 kilogramos de rastrojo de forraje fresco en bandejas de aluminio limpias y secas previamente pesadas. Se cortaron los tallos y hojas en pedazos entre 10 y 15 cm de largo y se colocaron cantidades conocidas dentro de cada bandeja debidamente identificada. Se dejó secar durante 24 horas a 60 °C. Luego se enfriaron a temperatura ambiente y se pesaron las bandejas más las muestras secas en la balanza “Ohaus Heavy duty”. Se determinó la humedad aparente del rastrojo de camote con la Ecuación 3:

$$\% Ha = \left[ 1 - \left( \frac{\text{Peso bandeja} + \text{muestra seca} - \text{Peso bandeja vacía}}{\text{Peso bandeja} + \text{muestra húmeda} - \text{Peso bandeja vacía}} \right) \right] \times 100 \quad [3]$$

Donde:

% Ha = Porcentaje de humedad aparente.

Ya que a 60 °C no se logra extraer la humedad total, se prosiguió a triturar las muestras de tallos y hojas secas utilizando el molino de laboratorio marca “Thomas Wiley” con diámetro de tamiz de 2 mm. Luego se utilizó el pulverizador para muestras marca “Cyclotec Tecator”. Una vez con un tamaño de partícula menor a 1 mm de diámetro se procedió a determinar el contenido de humedad total. Se utilizaron crisoles previamente secados a 105 °C y enfriados en el desecador, se repitió el procedimiento utilizando crisoles de cerámica y la balanza analítica “Ohaus Adventure”. Para ajustar el dato de humedad se realizaron las Ecuaciones 4 y 5:

$$\% Hms = 1 - \left( \frac{\text{Peso crisol} + \text{muestra seca} - \text{Peso crisol}}{\text{Peso muestra}} \right) \times 100 \quad [4]$$

Donde:

% Hms = Porcentaje de humedad de la muestra seca.

$$\% H = \% Ha \left( 1 + \frac{\% Hms}{100} \right) \quad [5]$$

Donde:

% H = Porcentaje de humedad total.

% Ha = Porcentaje de humedad aparente.

% Hms = Porcentaje de humedad de la muestra seca.



### 3.3.3 Cenizas

Se colocaron muestras de 2 g de muestra en un crisol de porcelana y se colocaron por 1 hora dentro del horno a 105 °C, luego se colocaron en la mufla a 530 °C durante 3-4 horas. El resultado se calculó con la Ecuación 6:

$$\% Cz = \frac{(\text{Peso beaker} + \text{cenizas}) - \text{Peso beaker vacío}}{\text{Peso muestra}} \times 100 \quad [6]$$

### 3.3.4 Determinación de la fibra neutro detergente (FND)

Con este método se solubilizaron las proteínas intercelulares liberando la fibra insoluble al detergente relacionada con las paredes celulares. Cabe mencionar que este método puede dar lugar a la formación de una sustancia gelatinosa formada ya sea por almidones o proteínas cuando la muestra a tratar es residuo de procesos de molindas de cereales o tiene un contenido elevado de proteínas. Esta sustancia gelatinosa obstruye el filtro e dificulta el lavado (FAO, 1993). En respuesta a esta obstáculo, ya que la muestra seca de forraje de camote resultó tener un contenido total de 20.53 ±1.57% de Proteína Cruda, se acondicionó un crisol de fondo perforado con microfibras de vidrio de modo que funcionara como un filtro más versátil para efectos de este estudio.

**3.3.4.1 Procedimiento:** Se pesaron aproximadamente 0.5 gramo de muestra y se colocaron en un beaker berzelius de 600 ml. Luego se agregaron 100 ml de la solución detergente neutro y se hirvió durante una hora en aparato de reflujo. Después se filtró en crisoles de cerámica perforados con fondo recubierto con microfibras de vidrio, remojando el interior del beaker berzelius con agua destilada caliente recolectando toda la muestra dentro del crisol. Se filtro el contenido del crisol utilizando succión para facilitar el trabajo. El contenido del crisol se lavó con 20 ml de acetona 2 veces. La muestra lavada se dejó secar a 105 °C durante toda la noche. Posteriormente, se colocó dentro del desecador y se dejó enfriar por una hora para luego pesar el crisol con la FND con la balanza analítica. Seguidamente se colocaron los crisoles en la mufla para incinerar la muestra a 580 °C por 4 a 6 horas para corregir el dato por el contenido de cenizas. Pasado el tiempo de incineración, se retiraron con mucho cuidado los crisoles de la mufla y se colocaron dentro del horno a 105 °C durante una hora hasta que se estabilizó su temperatura, luego se colocaron en el desecador, se enfrió por una hora a temperatura ambiente y se pesó en la balanza analítica como el peso de crisol más cenizas. Una vez recolectados todos los datos, se realizaron los cálculos con las Ecuaciones 7 y 8:

$$\% FND = \frac{(\text{PesoCrisol} + \text{FND}) - (\text{PesoCrisol} + \text{cenizas})}{\text{Peso muestra}} \times 100 \quad [7]$$

$$\% \text{ Contenido Celular} = 100 - \% FND \quad [8]$$

### 3.3.5 Determinación de fibra ácido detergente (FAD)

El propósito de este procedimiento es separar la hemicelulosa de la FND dejando como residuo la lignocelulosa o FAD. Este procedimiento es un paso previo para la determinación de lignina y celulosa.

**3.3.5.1 Procedimiento:** Se pesaron muestras de aproximadamente 1 gramo y se colocaron en un beaker Berzelius de 600 ml adicionando 100 ml de la solución ácido detergente y se hirvió durante una hora en aparato de reflujo. Se filtró en crisoles de fondo perforado con recubrimiento de microfibras de vidrio, una vez obtenida la FAD dentro del crisol, se lavó el interior del beaker Berzelius con agua destilada caliente recolectando toda la muestra dentro del crisol. Se filtró el contenido del crisol utilizando succión para facilitar el trabajo. Se lavó el contenido del crisol con 20 ml de acetona 2 veces y se secó a 105 ° C durante toda la noche. Los crisoles con muestras secas se enfriaron en el desecador por una hora y luego se pesaron los crisoles más la FAD. Una vez recolectados todos los datos se procedió a efectuar los cálculos con las ecuaciones 9 y 10.

$$\% \text{ FAD} = \frac{(\text{PesoCrisol} + \text{FAD}) - \text{PesoCrisol}}{\text{Pesomuestra}} \times 100 \quad [9]$$

$$\% \text{ Hemicelulosa} = \% \text{ FND} - \% \text{ FAD} \quad [10]$$

### 3.3.6 Determinación de lignina y celulosa

La lignina representa la parte del forraje que no es digerible y que afecta negativamente la digestibilidad de la FND. Se determina en el residuo obtenido del análisis de la FAD.

**3.3.6.1 Procedimiento:** Se colocaron los crisoles con FAD sobre platos petri con un cm de altura de agua destilada, se agregaron 25-30 ml de la solución permanganato-buffer y se remojaron minuciosamente las paredes internas del crisol durante 90 min, con una varilla de vidrio se procedió a deshacer los grumos para que se remojaran bien las partículas. Se agregó más solución de permanganato-buffer a medida que se vaciaban los crisoles. Luego se filtraron los crisoles con ayuda de vacío para remover el exceso de la solución y se regresaron a platos petri limpios. Se adicionó la solución desmineralizadora con mucho cuidado ya que hace efervescencia y de este modo se podía desprender del fondo la microfibra de vidrio y perder parte de las muestras. Terminada esta etapa, se filtraron los crisoles y se volvió a añadir la solución desmineralizadora hasta que la fibra blanqueara. Por último se lavó el interior del crisol 2 veces con 20 ml de alcohol al 80% y luego 2 veces con 20 ml de acetona. Las muestras se secaron a 105 °C durante toda la noche y se tomó el peso del crisol frío y seco (crisol + celulosa). Finalmente se incineraron los crisoles a 580 °C durante 6 horas y luego se enfriaron y se obtuvo el peso de crisol más cenizas. Los porcentajes de lignina y celulosa se obtuvieron con las Ecuaciones 11 y 12:

$$\% \text{ Lignina} = \frac{(\text{PesoCrisol} + \text{FAD}) - (\text{PesoCrisol} + \text{celulosa})}{\text{Pesomuestra}} \times 100 \quad [11]$$

$$\% \text{ Celulosa} = \frac{(\text{PesoCrisol} + \text{celulosa}) - (\text{PesoCrisol} + \text{cenizas})}{\text{Pesomuestra}} \times 100 \quad [12]$$

### 3.3.7 Determinación de proteína cruda por Kjeldahl

Se preparó el catalizador a partir de 1 parte de sulfato de cobre más 9 partes de sulfato de potasio. Se preparó una solución de hidróxido de sodio al 40% w/v, ácido bórico al 4% a partir de 40 gramos de ácido bórico en 1 litro con solución indicadora hecha de 1 parte de rojo de metilo al 0.2% en alcohol más 5 partes de verde de bromocresol al 0.2% en alcohol y ácido clorhídrico 0.1 Normal.

Se pesaron muestras por duplicado de alrededor de 0.1 gramo dentro del balón de digestión Kjeldahl de 650 ml junto con un blanco (un balón de digestión Kjeldahl sin muestra). Se agregó 0.4 gramo de catalizador a cada balón de digestión y posteriormente se adicionaron 3 ml de ácido sulfúrico concentrado. Luego se colocaron los balones de digestión en el digestor Kjeldahl a temperatura media durante 15 minutos rotando lentamente el balón cada 5 minutos procurando que toda la muestra entrara en contacto con el ácido, luego se elevó la temperatura y se continuó rotando lentamente el balón hasta que la muestra llegara a un color azul verdoso casi transparente, o también definido como color turquesa llegando a demorar más de 5 horas de digestión. Luego se dejó enfriar el balón de Kjeldahl con la muestra a temperatura ambiente. Se activó la corriente de agua para el condensador Kjeldahl. Se añadieron 20 ml de la solución de ácido bórico al 4% en un erlenmeyer de 300 ml y se colocó al final del tubo condensador de Kjeldahl. Posterior a esto, se colocó el contenido del balón de digestión dentro del balón de destilación agregando 100 ml de agua destilada realizando pequeños lavados al interior del balón de digestión de modo que se extrajera toda la muestra. Seguidamente se agregaron 30 ml de hidróxido de sodio al 40% resbalando por las paredes del balón de destilación con cuidado de no agitarlo. Se llevó a la hornilla de la estación de destilación Kjeldahl donde luego de haber sellado la boquilla del balón con el conducto de destilación Kjeldahl, se agitó el contenido del balón de destilación y se encendió la hornilla a alta temperatura. Se esperó a que el destilado obtenido elevara el volumen del erlenmeyer que contenía la solución de ácido bórico a un volumen final entre 50 ml a 75 ml. Una vez obtenido el destilado se reemplazó el erlenmeyer por otro lleno con agua destilada de modo que por efecto de vacío generado en la reducción del volumen del aire caliente, automáticamente se limpiaran las paredes internas del destilador Kjeldahl.

Las muestras y el blanco destiladas fueron tituladas con ácido clorhídrico al 0.1N previamente estandarizado, una vez obtenido el dato de ml de ácido clorhídrico utilizados, se calculó el porcentaje de nitrógeno contenido en la muestra y seguidamente se calculó el contenido de proteína cruda con las Ecuaciones 13 y 14:

$$\%N = \frac{(\text{ml HCl de muestra} - \text{ml de HCl de blanco}) \times N \text{ HCl} \times \text{Meq} \times 100}{\text{Peso muestra}} \quad [13]$$

Donde:

N HCl es la normalidad HCl 0.1N

Meq = miliequivalentes del N es 0.014

$$\% \text{ PC} = \% \text{ N} \times 6.25 \quad [14]$$

Donde:

% N = el porcentaje de nitrógeno en la muestra

% PC = el porcentaje de Proteína Cruda

6.25 = Relación que existe entre el total de la proteína contra el contenido de nitrógeno.

### 3.3.8 Determinación de extracto etéreo

Se pesaron muestras de 1 gramo por duplicado usando papel filtro corriente, fue doblado y engrapado de modo que entrara dentro del dedal de alundum y retuviera la muestra dentro del sobre. Se pesaron los beakers Goldfish con 3-4 perlitas de vidrio previamente secados a 105 °C y enfriados al desecador. Luego se colocaron los sobres engrapados dentro de los dedales y se dispusieron en los soportes del extractor de grasa Goldfish. Se encendió el extractor de gases y el flujo de agua del condensador antes de agregar 30 ml de éter etílico a cada beaker. Se ajustó el beaker al condensador creando un sello hermético. Se encendió la honrilla determinando la intensidad de calor al observar que la velocidad de goteo del éter fuera de 3-4 gotas por segundo y se dejó lavar la muestra durante 6 horas. Se retiraron las muestras y se recuperó el éter con otro dedal de fondo sellado y los beakers con el extracto etéreo fueron secados a 105 °C durante 6 horas, luego se enfriaron en el desecador y se pesaron. La cantidad de extracto etéreo se calculó con la Ecuación 15:

$$\% \text{ EE} = \frac{(\text{Pesobeaker} + \text{EE}) - (\text{Pesobeaker})}{\text{Peso muestra}} \times 100 \quad [15]$$

### 3.3.9 Determinación de la fibra cruda (FC)

Se colocaron muestras de 1 gramo previamente desgrasada obtenidas del procedimiento de extracto etéreo dentro de los beakers berzelius de 600 ml y se agregaron 200 ml de solución de ácido sulfúrico al 1.25% y se hirvieron por 30 minutos. Luego con ayuda de un embudo y una pañuelo de fibra de algodón se escurrió la muestra y se lavó con 200 ml de agua destilada caliente hasta que el pH del escurrido se neutralizara. Seguidamente, con mucho cuidado y con ayuda de una espátula y una pizeta con solución de hidróxido de sodio al 1.25%, se colocó la muestra nuevamente dentro del beakers berzelius de 600 ml y se completó el volumen de la solución de hidróxido a 200 ml y se prosiguió con la

digestión alcalina. Nuevamente se hirvió durante 30 minutos, se filtró el contenido en los crisoles y se lavó con 200 ml de agua destilada caliente hasta que se neutralizara el pH del escurrido. Finalmente se secaron los crisoles a 105°C durante 12 horas, se enfriaron y se obtuvo el peso del crisol más FC, luego se incineró la muestra a 580 °C por 5 horas, se dejó enfriar y se tomó el peso del crisol más las cenizas.

$$\% \text{ FC} = \frac{(\text{PesoCrisol} + \text{FC}) - (\text{PesoCrisol} + \text{Cz})}{\text{Peso muestra}} \quad [16]$$

### 3.3.10 Hidrólisis de los carbohidratos de la biomasa

**3.3.10.1 Diseño experimental:** Se utilizó un diseño de parcelas subdivididas con arreglo factorial. Las principales parcelas fueron: ácido sulfúrico y ácido fosfórico. Cada parcela se dividió en las concentraciones de 2, 4 y 6% del ácido correspondiente a la parcela principal. Las divisiones de la parcela se subdividieron en los dos tiempos de digestión: una hora y dos horas. Dado lo anterior se tienen 6 unidades experimentales por parcela principal, 12 unidades experimentales por repetición. Se realizaron tres repeticiones por lo que se obtuvo un total de 36 unidades experimentales.

**3.3.10.2 Hidrólisis de carbohidratos de la biomasa:** Se tomaron 36 tubos de ensayo “Kymble Glass Inc” de 25 x 200 mm. A cada uno se le rotuló y se le agregó aproximadamente 3 gramos de muestra deshidratada y pulverizada de rastrojo de forraje de camote. Las soluciones de ácido diluido se realizaron utilizando beakers de 500 ml, agua destilada y ácido sulfúrico al 93% para cada una de las diluciones en v/v. Para las diluciones del ácido fosfórico se utilizó ácido fosfórico anhidro 98% y se realizaron las diluciones en w/v, de igual forma se llevaron las concentraciones a los tres niveles de 2, 4 y 6% en beakers de 500ml. Con ayuda de una bureta graduada se agregaron 50 ml de cada ácido a cada concentración dentro de los tubos de ensayo de 25 x 200 mm. Se agitaron los tubos de ensayo con ayuda del “vortex” durante 20 segundos y luego con ayuda del agitador de vidrio se limpiaron las paredes del tubo de ensayo de modo que toda la muestra estuviera en contacto con la dilución del ácido y se cubrieron con una doble capa de papel aluminio. Los tubos de ensayo se dejaron reposar por 4 horas de modo que la muestra se impregnara con la dilución de ácido. Una vez reposadas las muestras por cuatro horas, se colocaron a baño maría dentro de beakers de 1 l y se extrajeron los tubos de ensayo después de estar expuesto una hora y dos horas según el tratamiento. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente durante 2 horas para luego filtrar el hidrolizado.

**3.3.10.3 Dilución de las muestras:** El factor de dilución se determinó empíricamente. Se prepararon dos tubos de ensayo “Corning Pyrex” de 16 x150 mm con 9 ml de agua destilada por cada muestra. Al primer tubo de ensayo se le agregó 1 ml del hidrolizado con ayuda de una pipeta graduada de 1 ml con escala 1/10, luego este tubo con la primera dilución fue agitada en el “vortex” para asegurar una mezcla homogénea. Seguidamente

se colocó 1 ml de la muestra diluida y dentro del siguiente tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada dando como resultado un factor de dilución (FD) de  $10^2$ , nuevamente se agitaron las muestras diluidas en el “vortex” por 20 segundos para asegurar una mezcla homogénea.

**3.3.10.4 Determinación de carbohidratos totales por el método de fenol-ácido sulfúrico:** Esta etapa es necesario realizarla dentro de una cámara de gases y guantes por precaución ya que los reactivos son altamente corrosivos y dañinos. Se utilizó ácido sulfúrico concentrado y una solución de 5% fenol w/v utilizando fenol 99% y agua destilada.

Se realizó la curva de calibración para luego determinar la cantidad de carbohidratos obtenidos por medio de la Ley de Beer Lambert. Para realizar la curva de calibración se pesó 0.1 gramo de D - (+) - glucosa al 99.5% dentro de un matraz aforado de 1 litro para obtener una concentración de 100 ppm. Seguidamente se agregó 1, 2, 4, 6 y 8 ml de esta solución en tubos de ensayo y se llevó a un volumen final de 10 ml con agua destilada para tener concentraciones correspondientes a 10, 20, 40, 60 y 80 ppm. Se colocaron 2 ml de cada muestra junto con dos blancos (2 ml de agua destilada) en otro tubo de ensayo vacío junto con 1 ml de solución de fenol al 5%, se agitó y luego se adicionaron 10 ml de ácido sulfúrico concentrado, se agitó nuevamente en el “vortex” y se colocó a baño maría por 2 minutos, luego se dejó reposar y enfriar. Seguidamente se colocó un tubo de ensayo vacío por cada muestra a evaluar. Se colocaron 2 ml de la muestra diluida dentro del tubo de ensayo vacío y se le agregó 1 ml de solución de fenol al 5%, posterior a esto se agitaron los tubos de ensayo en el “vortex” durante 10 segundos. Se adicionaron 10 ml de ácido sulfúrico concentrado, los tubos de ensayo se agitaron por 30 segundos en el “vortex” y se colocaron a baño maría por 2 minutos. Finalmente se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

La cuantificación de carbohidratos se realizó con el espectrofotómetro “Spectronic 20” con bombillo tipo CEA59RX a una longitud de onda de 485 nm utilizando tubos para muestra “Milton Roy Company” 12 x ½ pulgada.

Se graduó el espectrofotómetro en 0% transmitancia con la intensidad de luz sin muestra, luego con el blanco se graduó a 100% transmitancia y a partir de este punto se empezó a leer el resto de las muestras de la curva de calibración anotando los valores de porcentaje de transmitancia obtenidos. Luego con ayuda de la ecuación 1 se transformaron a valores de absorbancia. Luego con los datos de absorbancia y concentración en ppm, se realizó una gráfica de puntos de dispersión en el programa Microsoft Excel® y se determinó la ecuación de la curva teniendo en el eje “x” la concentración y en el eje “y” la absorbancia. Una vez obtenida la regresión lineal, se despejó para “x”. A partir del valor de la absorbancia de las muestras se determinó la concentración de carbohidratos totales hidrolizados en unidades de ppm. A partir de este valor de concentración, se determinó el porcentaje de carbohidratos totales que se obtuvieron con la Ecuación 17:

$$\% \text{ CHO} = \frac{(\text{ppm} \times \text{FD} \times 100)}{\text{Peso muestra} \times 10^6} \quad [17]$$

Donde:

% CHO = Porcentaje de carbohidratos totales.

ppm = concentración expresada como partes por millón.

FD = Factor de dilución.

### 3.3.10.5 Determinación de azúcares reductores por el método de Somogyi Nelson:

Azúcares reductores, se refiere a los mono y disacáridos que tienen la capacidad de reducir otras sustancias debido a la presencia de su grupo aldehído libre. Hay varios métodos pero Somogyi-Nelson es exacto y sencillo. La cuantificación se basa en la reducción de cobre divalente a monovalente por los azúcares presentes. El cobre se cuantifica colorimétricamente al reducir el arsenomolibdato a un complejo coloreado que absorbe luz a 540 nm.

Se realizó una curva estándar con concentraciones conocidas de 10, 20, 40, 60 y 80 ppm como se indica en la sección 3.3.12.3. Luego se colocó 1 ml de cada estándar en un tubo por separado, se agregó 1 ml de reactivo alcalino, se agitó en el “vortex” por 10 segundos. Luego se calentó en baño maría por 22 minutos, posterior a esto se agregó 1 ml del reactivo de Nelson y se volvió a agitar por 10 segundos. Finalmente se agregaron siete ml de agua destilada y se agitó en el “vortex” por 10 segundos.

La cuantificación de carbohidratos se realizó con el espectrofotómetro “Spectronic 20” con bombillo tipo CEA59RX a una longitud de onda de 540 nm utilizando tubos para muestra “Milton Roy Company” 12 x ½ pulgada. Se graduó el espectrofotómetro en 0% transmitancia con la intensidad de luz sin muestra, luego con el blanco se graduó a 100% transmitancia y a partir de este punto se empezó a leer el resto de las muestras de la curva de calibración anotando los valores de porcentaje de transmitancia obtenidos. Luego con los datos de absorbancia y concentración en ppm, se realizó una gráfica de puntos de dispersión en el programa Microsoft Excel<sup>®</sup> y se determinó la ecuación de la curva teniendo en el eje “x” la concentración y en el eje “y” la absorbancia. Una vez obtenida la regresión lineal, se despejó para “x”. A partir del valor de la absorbancia de las muestras se determinó la concentración de carbohidratos totales hidrolizados en valor de ppm. A partir de este valor de concentración, se determinó el porcentaje de carbohidratos totales que se obtuvieron con la Ecuación 17.

### 3.3.11 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) con los análisis obtenidos y se aplicó una separación de medias mediante la prueba Tukey con nivel de significancia  $P \leq 0.05$ . Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa “Statistical Analysis System” (SAS<sup>®</sup> Versión 9.1).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 ANÁLISIS PROXIMAL DEL RASTROJO DE FORRAJE DE CAMOTE

Para dar comienzo al análisis fue necesario determinar el contenido de humedad del rastrojo de camote. De este procedimiento se obtuvieron los datos de humedad aparente tras secar el rastrojo de forraje fresco en el horno a 60 °C y se realizó un ajuste del contenido de humedad de la muestra previamente secada en el horno a 105 °C.

En el Cuadro 1 se observa que los valores de la desviación estándar al igual que el coeficiente de variación reflejan que los datos son constantes a lo largo de las repeticiones. Para la prueba de humedad aparente se utilizaron 2.05 Kg de rastrojo de camote fresco recolectados en las instalaciones de la Escuela Agrícola Panamericana, Zona 1 donada por parte del módulo de Aprender Haciendo Control Biológico.

Cuadro 1. Contenido de humedad y materia seca aparente del rastrojo de camote y contenido de humedad total ajustado con base en el contenido de humedad remanente en la muestra seca.

Componente	Valor promedio (%)	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)
Humedad aparente	88.21	0.6161	0.6984
Materia seca aparente	11.78	0.6161	5.2282
Humedad en MSA*	4.65	0.1730	0.3719
Humedad total	92.31	0.0153	0.0021

\*MSA: Materia Seca Aparente

Se realizó un ajuste al contenido de humedad ya que debido al tamaño de partícula era relativamente grueso además que es necesario un tratamiento de secado inicial a tempera de 60°C para no alterar la composición química de la muestra. La humedad total se determinó secando la muestra a 105 °C.

Cabe mencionar que luego del tratamiento de secado a 60°C, toda la muestra fue triturada por medio del molino de laboratorio Thomas Wiley a un tamaño de partícula con tamiz de 2 mm de diámetro, posteriormente se pulverizó en el pulverizador de muestras Cyclotec Tecator ya que el resto de las pruebas requeridas requieren un diámetro de partícula menor a 1mm.



Observando el Cuadro 2 y analizando los valores de desviación estándar y los coeficientes de variación se concluye que los experimentos y sus respectivas repeticiones fueron llevados a cabo bajo control y los resultados obtenidos son constantes. Es importante tener en cuenta que las características de estos componentes varían de acuerdo con la edad fisiológica de la planta y conforme las condiciones en las que creció (tipo de suelo, frecuencia de riego, incidencia de plagas etc.). Cabe recalcar que el valor obtenido de proteína es superior a los observados normalmente en el Laboratorio de Análisis de Alimentos, sin embargo, Lindenberg *et al.*, (2002), indica que las hojas del forraje de camote varían entre 25.5 y 29.8% en base seca tras evaluar 15 variedades de camote.

Cuadro 2. Resumen de resultados obtenidos del análisis proximal realizado al rastrojo de forraje de camote (*Ipomoea batatas*) en base seca.

Componente	Contenido promedio* ± Desviación Estándar
Fibra Cruda	15.35±1.73
Proteína Cruda	20.53±1.57
Extracto Etéreo	4.83±0.25
Extracto Libre de Nitrógeno	58.43±0.35
Fibra Neutro Detergente	31.96±1.95
Fibra Acido Detergente	25.98±0.29
Lignina	7.93±1.07
Celulosa	17.21±0.91

\*Contenido promedio expresado en porcentaje (%).

De acuerdo con el manual de Métodos de Análisis Químicos del Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano, el Extracto Libre de Nitrógeno (ELN) se obtiene por restarle a 100 la suma de los valores porcentuales de Humedad (% H), Cenizas (% Cz), Proteína Cruda (% PC), Extracto Etéreo (% EE) y Fibra Cruda (% FC). Para esto es necesario determinar el porcentaje de los valores obtenidos con base en materia seca a base húmeda con la Ecuación 18:

$$\% \text{ Componente "X" en base húmeda} = \frac{\% \text{ Componente "X" en base seca} \times \% \text{ Materia Seca}}{100} \quad [18]$$

Esta misma ecuación se aplicó al resto de componentes obtenidos del rastrojo de forraje ya que los resultados se deben expresar como gramos de componente sobre 100 gramos de materia húmeda como se muestra en el resumen los resultados en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Resultados del análisis proximal en base húmeda.

Componente	Porcentaje en base húmeda ± Desviación estándar
Humedad	92.31±0.04
Ceniza	0.06±0.06
Proteína cruda	1.57±0.36
Extracto etéreo	0.37±0.08
Fibra cruda	1.18±0.27
ELN	4.49±1.02
FAD	1.99±0.45
FND	2.45±0.56
Lignina	0.61±0.14
Celulosa	1.32±0.30
Hemicelulosa	0.46±0.08
Materia seca	7.68±0.23

#### 4.2 HIDRÓLISIS DE LOS CARBOHIDRATOS DE LA BIOMASA

Los resultados de azúcares reductores y carbohidratos totales obtenidos a partir del experimento fueron cuantificados por espectrofotometría obteniendo valores de transmitancia (%T) que luego se convirtieron a valores de absorbancia por medio de la ecuación 1. Luego, con base en la regresión lineal, se despejó para la variable concentración (ppm) siendo absorbancia la variable explicativa y de esa forma se determinó la concentración de determinado componente según correspondía. Obtenidos los resultados de las concentraciones con valores de ppm se utilizó la siguiente ecuación para determinar el valor en porcentaje de carbohidratos totales en la muestra:

$$\% \text{ Azúcares reductores} = \frac{\text{ppm} \times \text{FD}}{\text{Peso muestra} \times 10^6} \times 100 \quad [19]$$

Donde;

ppm = partes por millón

FD = factor de dilución

De acuerdo con el Cuadro 4, el tratamiento con ácido fosfórico al 6% por una hora es el que tiene el mayor valor promedio con  $0.00103 \pm 0.00041$  gramos de azúcares reductores por cada 100 gramos de materia húmeda. El único tratamiento significativamente distinto es en el que se aplicó ácido fosfórico a 6% por dos horas mostrando el rendimiento más bajo con  $0.00063 \pm 0.00251$  gramos de azúcares reductores por cada 100 gramos de materia húmeda. Cabe mencionar que los valores obtenidos en el coeficiente de variación indican que hubo factores que no se controlaron dentro del experimento referentes a la extracción de azúcares reductores, también es relevante el hecho que estudios anteriores como el de Gámez (2008), indican que la presencia de aminoácidos intervienen en el proceso de obtención de azúcares fermentables.

Cuadro 4. Efecto de la hidrólisis ácida sobre la producción de azúcares reductores en el rastrojo de camote.

Tratamiento	g de azúcares reductores/ 100 g materia húmeda*	Coefficiente de variación (%)
Ác. fosfórico 6% por 1 hr.	0.00103±0.00041 <sup>A</sup>	40.29
Ác. sulfúrico 2% por 1 hr.	0.00096±0.00021 <sup>A</sup>	21.53
Ác. sulfúrico 6% por 1 hr.	0.00096±0.00030 <sup>A</sup>	39.16
Ác. fosfórico 2% por 2 hrs	0.00093±0.00030 <sup>A</sup>	31.73
Ác. fosfórico 2% por 1 hr.	0.00090±0.00017 <sup>AB</sup>	19.24
Ác. fosfórico 4% por 2 hrs.	0.00090±0.00010 <sup>AB</sup>	11.11
Ác. sulfúrico 4% por 2 hrs.	0.00090±0.00026 <sup>AB</sup>	29.39
Ác. fosfórico 4% por 1 hr.	0.00086±0.00045 <sup>AB</sup>	52.02
Ác. sulfúrico 6% por 2 hrs.	0.00086±0.00015 <sup>AB</sup>	25.20
Ác. sulfúrico 4% por 1 hr.	0.00083±0.00015 <sup>AB</sup>	18.33
Ác. sulfúrico 2% por 2 hrs.	0.00076±0.00020 <sup>AB</sup>	27.15
Ác. fosfórico 6% por 2 hrs.	0.00063±0.00251 <sup>B</sup>	39.73

\*Medias con distinta letra fueron significativamente diferentes  $P < 0.05$ .

Para la cuantificación de carbohidratos totales se utilizó el mismo procedimiento empleado para la determinación de azúcares reductores.

$$\% \text{ Carbohidratos totales} = \frac{\text{ppm} \times \text{FD}}{\text{Peso muestra} \times 10^6} \times 100 \quad [20]$$

En el Cuadro 5 se observa que los tratamientos en los que se utilizó una concentración de 2% por una hora, indistintamente del tipo de ácido, tuvieron rendimientos de  $0.0156 \pm 0.0026$  y  $0.0155 \pm 0.0006$  gramos de carbohidratos totales por cada 100 gramos de materia húmeda para los ácidos sulfúrico y fosfórico respectivamente. Éstos fueron los únicos significativamente distintos a aquellos en los que se utilizó ácido sulfúrico al 4% por una y dos horas junto con el tratamiento con ácido fosfórico al 4% por una hora siendo los rendimientos de estos de  $0.0121 \pm 0.0015$ ,  $0.0121 \pm 0.0033$  y  $0.0107 \pm 0.0021$  gramos de carbohidratos totales por cada 100 gramos de materia húmeda respectivamente.

Se observa que los rendimientos más altos se obtuvieron con los tratamientos que utilizaron 2% de ácido, independientemente del tipo de ácido y del tiempo de digestión. Lo anterior podría deberse a que para efectos de este experimento, las condiciones evaluadas resultaron ser más severas de lo necesario respecto al sustrato evaluado. Según la literatura, concentraciones elevadas de ácido, altas temperaturas, tiempos prolongados de digestión y la presencia de proteínas y aminoácidos, son condiciones en las que se propicia la degradación de los carbohidratos. Estas condiciones son relativas de acuerdo a las propiedades del sustrato ya que cada material presenta diferentes características, lo que implica la modificación de las condiciones hasta encontrar la combinación de factores de digestión más apropiadas para cada tejido vegetal.

Cuadro 5. Efecto de la hidrólisis ácida sobre la producción de carbohidratos totales en el rastrojo de camote.

Tratamiento	g carbohidratos totales/ 100 g de materia húmeda*	Coefficiente de variación (%)
Ác. sulfúrico 2% por 1 hr.	0.0156±0.0026 <sup>A</sup>	17.28
Ác. fosfórico 2% por 1 hr.	0.0155±0.0006 <sup>A</sup>	4.38
Ác. fosfórico 2% por 2 hrs.	0.0152±0.0003 <sup>AB</sup>	2.00
Ác. sulfúrico 2% por 2 hrs.	0.0142±0.0024 <sup>AB</sup>	17.51
Ác. fosfórico 4% por 2 hrs.	0.0137±0.0015 <sup>AB</sup>	11.12
Ác. sulfúrico 6% por 2 hrs.	0.0134±0.0036 <sup>AB</sup>	27.43
Ác. fosfórico 6% por 1 hr.	0.0134±0.0019 <sup>AB</sup>	14.59
Ác. fosfórico 6% por 2 hrs.	0.0129±0.0037 <sup>AB</sup>	28.77
Ác. sulfúrico 6% por 1 hr.	0.0123±0.0021 <sup>AB</sup>	17.32
Ác. sulfúrico 4% por 2 hrs.	0.0121±0.0015 <sup>B</sup>	12.84
Ác. sulfúrico 4% por 1 hr.	0.0121±0.0033 <sup>B</sup>	27.73
Ác. fosfórico 4% por 1hr.	0.0107±0.0021 <sup>B</sup>	19.62

\*Medias con distinta letra fueron significativamente diferentes  $P < 0.05$ .

En el Cuadro 6 se observa que no existieron diferencias en la cantidad de FND en los residuo del rastrojo de camote hidrolizado. El ácido sulfúrico al 6% por dos horas demostró la mayor degradación de FND equivalente al 47.76% del contenido inicial (Cuadro 3). El tratamiento más severo causó la mayor degradación tal como se esperaba. Los coeficientes de variación fueron altos por lo que no se identificó diferencia.

Cuadro 6. Efecto de la hidrólisis ácida sobre el contenido de fibra neutro detergente en el rastrojo de camote tratado.

Tratamiento	g FND/ 100 g de materia húmeda*	Coefficiente de variación (%)
Ác. fosfórico 2% por 2 hrs.	1.63±0.16 <sup>A</sup>	9.60
Ác. fosfórico 6% por 1 hr.	1.60±0.07 <sup>A</sup>	4.21
Ác. fosfórico 2% por 1 hr.	1.51±0.43 <sup>A</sup>	28.17
Ác. fosfórico 6% por 2 hrs.	1.50±0.27 <sup>A</sup>	17.91
Ác. sulfúrico 2% por 1 hr.	1.44±0.02 <sup>A</sup>	1.79
Ác. sulfúrico 6% por 1 hr.	1.44±0.04 <sup>A</sup>	2.72
Ác. sulfúrico 4% por 1 hr.	1.43±0.06 <sup>A</sup>	4.04
Ác. fosfórico 4% por 1 hr.	1.41±0.29 <sup>A</sup>	20.60
Ác. fosfórico 4% por 2 hrs.	1.38±0.57 <sup>A</sup>	41.23
Ác. sulfúrico 2% por 2 hrs.	1.32±0.21 <sup>A</sup>	15.75
Ác. sulfúrico 4% por 2 hrs.	1.30±0.14 <sup>A</sup>	11.10
Ác. sulfúrico 6% por 2 hrs.	1.28±0.24 <sup>A</sup>	19.26

\*Medias con distinta letra fueron significativamente diferentes  $P < 0.05$ .

En el Cuadro 7 se observa que no hubo diferencia significativa en el contenido final de fibra ácido detergente en el residuo del rastrojo de camote hidrolizado. Se observó que el tratamiento de ácido fosfórico al 6% por dos horas causó la mayor degradación equivalente al 53.27% respecto al contenido inicial de FAD (Cuadro 3). Los coeficientes de variación obtenidos muestran irregularidad, por lo que no se identificó diferencia entre los resultados de FAD.

Cuadro 7. Efecto de la hidrólisis ácida sobre el contenido de fibra ácido detergente en el rastrojo de camote tratado.

Tratamiento	g FAD/ 100 g de materia húmeda*	Coefficiente de variación (%)
Ác. fosfórico 6% por 1 hr.	1.61±0.67 <sup>A</sup>	41.72
Ác. sulfúrico 4% por 1 hr.	1.54±0.39 <sup>A</sup>	25.44
Ác. sulfúrico 2% por 1 hr.	1.51±0.71 <sup>A</sup>	47.14
Ác. fosfórico 2% por 2 hrs.	1.39±0.30 <sup>A</sup>	21.40
Ác. sulfúrico 2% por 2 hrs.	1.31±0.73 <sup>A</sup>	55.71
Ác. sulfúrico 6% por 2 hrs.	1.24±0.59 <sup>A</sup>	47.54
Ác. sulfúrico 6% por 1 hr.	1.23±0.51 <sup>A</sup>	41.63
Ác. fosfórico 4% por 2 hrs.	1.18±0.28 <sup>A</sup>	23.59
Ác. fosfórico 2% por 1 hr.	1.11±0.58 <sup>A</sup>	52.41
Ác. sulfúrico 4% por 2 hrs.	1.07±0.33 <sup>A</sup>	30.76
Ác. fosfórico 4% por 1 hr.	0.94±0.23 <sup>A</sup>	24.22
Ác. fosfórico 6% por 2 hrs.	0.93±0.18 <sup>A</sup>	19.29

\*Medias con letra igual son significativamente iguales  $P > 0.05$ .

De acuerdo con el Cuadro 8, los dos tratamientos más efectivos en la degradación de hemicelulosa fueron aquellos en los que se utilizó ácido sulfúrico a 2 y 4% por una hora resultando en  $0.28 \pm 0.09$  y  $0.08 \pm 0.07$  gramos de hemicelulosa por cada 100 gramos de materia húmeda correspondiente a una degradación del 39.13 y 82.60% del contenido inicial de hemicelulosa respectivamente (Cuadro 3). Lo anterior debido a la degradación en el contenido de FND proveniente de la hemicelulosa. Cabe mencionar que en los tratamientos con ácido fosfórico al 2% por dos horas y ácido sulfúrico al 6% por 1 hora, la degradación fue mínima con un valor de 2.17% de degradación respecto al contenido inicial de hemicelulosa en ambos tratamientos (Cuadro 3), probablemente se deba a que la FND y FAD se degradaron proporcionalmente. Además, existió inconcordancia en algunos resultados obtenidos ya que en los tratamientos en los que se utilizó ácido fosfórico al 2 y 4% durante una hora y ácido fosfórico al 6 y 4% durante 2 horas indican valores mayores de hemicelulosa a los valores iniciales. Considerando que el valor de hemicelulosa se obtiene por diferencia entre los valores de FND y FAD, una explicación podría ser que durante estos tratamientos, el forraje de camote estuvo expuesto a sustancias ácidas por temperaturas inferiores a ebullición, por lo que puede ser que no se haya degradado cierta parte de la FAD, pero sí se haya deteriorado en cierta medida y por ende se haya vuelto más susceptible, de modo que al realizar el procedimiento para calcular la FAD, ésta se degradara en mayor medida.

Observando los resultados del Cuadro 7, la FAD se redujo en un 44.22, 46.23, 52.76 y 53.26% para los tratamientos con ácido fosfórico al 2 y 4% durante una hora y ácido fosfórico al 6 y 4% durante 2 horas respectivamente. Estos tratamientos coinciden en ambos cuadros (Cuadro 7 y 8) en cuanto a ser los estos mismos tratamientos los que degradaron en mayor medida la FAD y mostrar la mayor diferencia entre FND y FAD, lo que no necesariamente indica un incremento en el contenido de hemicelulosa respecto al contenido inicial.

Cuadro 8. Efecto de la hidrólisis ácida sobre el contenido de hemicelulosa en el rastrojo de camote tratado.

Tratamiento	g hemicelulosa/ 100 g de materia húmeda*	Coefficiente de variación (%)
Ác. fosfórico 2% por 1 hr.	0.67±0.54 <sup>A</sup>	79.43
Ác. fosfórico 4% por 1 hr.	0.63±0.31 <sup>A</sup>	49.5
Ác. fosfórico 6% por 2 hrs.	0.62±0.12 <sup>A</sup>	19.56
Ác. fosfórico 4% por 2 hrs.	0.54±0.25 <sup>A</sup>	46.68
Ác. fosfórico 2% por 2 hrs.	0.45±0.21 <sup>A</sup>	47.46
Ác. sulfúrico 6% por 1 hr.	0.45±0.16 <sup>AB</sup>	35.67
Ác. fosfórico 6% por 1 hr.	0.42±0.07 <sup>AB</sup>	16.53
Ác. sulfúrico 2% por 2 hrs.	0.33±0.27 <sup>AB</sup>	80.51
Ác. sulfúrico 4% por 2 hrs.	0.32±0.24 <sup>AB</sup>	72.77
Ác. sulfúrico 6% por 2 hrs.	0.31±0.25 <sup>AB</sup>	86.65
Ác. sulfúrico 2% por 1 hr.	0.28±0.09 <sup>AB</sup>	30.75
Ác. sulfúrico 4% por 1 hr.	0.08±0.07 <sup>B</sup>	90.42

\*Medias con distinta letra fueron significativamente diferentes  $P < 0.05$ .

A pesar de que la hemicelulosa es el carbohidrato estructural relativamente más disponible y que la degradación de este material debería reflejar el mismo patrón de degradación mostrado en la fibra neutro detergente, no sucede así en este caso de acuerdo con los resultados. El contenido de hemicelulosa remanente muestra alteraciones similares a la de la fibra ácido detergente, mientras que la fibra neutro detergente varió en menor medida. Observando los coeficientes de variación se concluye que el método utilizado no fue el más apropiado ya que los resultados obtenidos son inconsistentes

Cabe mencionar que durante el proceso de digestión y filtrado de la fibra ácido detergente y fibra neutro detergente, se experimentaron dificultades debido a la constante saturación de los filtros. De acuerdo con Novoa (1993), cuando se realiza estos análisis a sustratos ricos en almidones y proteínas es usual tener dichas dificultades ya que se genera un material gelatinoso a partir de estos componentes que satura los poros del filtro y los resultados tienden a variar y a ser inconsistentes. De igual forma, considerando que el forraje de camote es el forraje con mayor contenido proteico evaluado en las instalaciones del Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano, no se contaba con un método alternativo establecido y estandarizado para la manipulación de las muestras con éste

grado de contenido de proteína. Considerando que los crisoles gooch resultaron obsoletos para efectos de este estudio, se adecuó un crisol de porcelana de fondo perforado con recubrimiento de microfibras de vidrio. Éste a pesar de ser considerado un material inerte, se observó cierto deterioro de las microfibras de vidrio durante los repetidos procesos de secado e incinerado, lo cual es otra fuente de variación dentro de los análisis de FAD, FND, hemicelulosa, lignina y celulosa, ya que todos estos análisis se realizaron utilizando estos filtros.

Analizando el Cuadro 9 se puede observar que sólo tres tratamientos fueron distintos (ácido sulfúrico al 4% por una y dos horas junto con el ácido fosfórico al 2% por dos horas), resultando ser los menos efectivos en la degradación de la lignina, la cual se redujo entre un 27.87 y 45.9% respecto al contenido inicial (Cuadro 3). Los tratamientos óptimos observados fueron aquellos en los que se utilizó ácido fosfórico y sulfúrico al 2% durante una hora degradando la lignina en un 67.21 y 62.29% respecto al contenido inicial respectivamente (Cuadro 3).

Observando los coeficientes de variación, no es posible identificar diferencias estadísticas en el resto de tratamientos. El grado de degradación de la lignina varió desde 62.29 a 81.97% respecto al contenido inicial de lignina (Cuadro 3), comparado con el contenido de lignina en el forraje de camote hidrolizado.

Cuadro 9. Efecto de la hidrólisis ácida sobre el contenido de lignina en el rastrojo de camote tratado.

Tratamiento	g lignina/ 100 g de materia húmeda*	Coefficiente de variación (%)
Ác. sulfúrico 4% por 2 hrs.	0.44±0.14 <sup>A</sup>	31.57
Ác. fosfórico 2% por 2 hrs.	0.33±0.05 <sup>AB</sup>	16.87
Ác. sulfúrico 4% por 1 hr.	0.33±0.07 <sup>AB</sup>	21.50
Ác. fosfórico 2% por 1 hr.	0.23±0.01 <sup>BC</sup>	6.74
Ác. sulfúrico 2% por 2 hrs.	0.22±0.09 <sup>BC</sup>	40.40
Ác. sulfúrico 2% por 1 hr.	0.20±0.11 <sup>BC</sup>	57.82
Ác. fosfórico 4% por 2 hrs.	0.16±0.10 <sup>C</sup>	64.25
Ác. sulfúrico 6% por 1 hr.	0.15±0.06 <sup>C</sup>	41.09
Ác. fosfórico 4% por 1 hr.	0.14±0.05 <sup>C</sup>	37.55
Ác. sulfúrico 6% por 2 hrs.	0.13±0.15 <sup>C</sup>	118.77
Ác. fosfórico 6% por 1 hr.	0.11±0.11 <sup>C</sup>	102.44
Ác. fosfórico 6% por 2 hrs.	0.11±0.12 <sup>C</sup>	110.22

\*Medias con distinta letra fueron significativamente diferentes  $P < 0.05$ .

En el Cuadro 10 se resumen los tratamientos similares que presentaron mayor degradación de la lignina. Cabe mencionar que los coeficientes de variación obtenidos indican irregularidad entre los resultados y por ende la inconsistencia entre la severidad del tratamiento y el grado de degradación de la lignina en el rastrojo de forraje de camote.

Cuadro 10. Resumen de los tratamientos que mostraron mayor degradación de lignina.

Tratamiento	g lignina/ 100 g de materia húmeda*	Porcentaje de degradación (%)
Ác. fosfórico 6% por 2 hrs.	0.11	81.97
Ác. fosfórico 6% por 1 hr.	0.11	81.97
Ác. sulfúrico 6% por 2 hrs.	0.13	78.69
Ác. sulfúrico 4% por 1 hr.	0.14	77.04
Ác. sulfúrico 6% por 1 hr.	0.15	75.40
Ác. fosfórico 4% por 2 hrs.	0.16	73.77
Ác. sulfúrico 2% por 1 hr.	0.20	67.21
Ác. sulfúrico 2% por 2 hrs.	0.22	63.93
Ác. fosfórico 2% por 1 hr.	0.23	62.29

Conforme los resultados del Cuadro 11, los tratamientos con ácido fosfórico al 4 y 6% por dos horas, ácido sulfúrico al 2 y 6% por dos horas y ácido fosfórico al 2 y 4% por una hora fueron similares y degradaron la celulosa en mayor medida con valores entre 53.03 y 68.18% de reducción respecto al contenido inicial (Cuadro 3). Se concluye que las condiciones bajo las que se realizó el experimento no fueron adecuadas, ya que de acuerdo con la literatura, la celulosa es el último elemento en ser afectado por la hidrólisis ácida.

Cuadro 11. Efecto de la hidrólisis ácida sobre el contenido de celulosa en el rastrojo de camote tratado.

Tratamiento	g celulosa/ 100 g de materia húmeda*	Coefficiente de variación (%)
Ác. sulfúrico 4% por 2 hrs.	0.93±0.14 <sup>A</sup>	15.05
Ác. sulfúrico 6% por 1 hr.	0.73±0.06 <sup>AB</sup>	8.06
Ác. fosfórico 6% por 1 hr.	0.71±0.05 <sup>AB</sup>	6.98
Ác. sulfúrico 2% por 1 hr.	0.71±0.12 <sup>AB</sup>	18.02
Ác. fosfórico 2% por 2 hrs.	0.70±0.41 <sup>AB</sup>	5.97
Ác. sulfúrico 4% por 1 hr.	0.70±0.38 <sup>AB</sup>	54.95
Ác. fosfórico 4% por 2 hrs.	0.62±0.15 <sup>BC</sup>	24.34
Ác. fosfórico 6% por 2 hrs.	0.59±0.09 <sup>BC</sup>	16.16
Ác. sulfúrico 2% por 2 hrs.	0.56±0.33 <sup>BC</sup>	59.20
Ác. sulfúrico 6% por 2 hrs.	0.54±0.17 <sup>BC</sup>	31.59
Ác. fosfórico 2% por 1 hr.	0.51±0.13 <sup>BC</sup>	26.50
Ác. fosfórico 4% por 1 hr.	0.42±0.07 <sup>C</sup>	17.97

\*Medias con distinta letra fueron significativamente diferentes  $P < 0.05$ .



## **5. CONCLUSIONES**

- El tratamiento óptimo para la digestión en el rastrojo de forraje de camote fue el ácido fosfórico y sulfúrico al 2% por 1 hora
- Las condiciones evaluadas de hidrólisis ácida fueron más severas de lo necesario ya que hubo hidrólisis de celulosa.

## **6. RECOMENDACIONES**

- Desarrollar un método de cuantificación de carbohidratos por medio de HPLC en la Escuela Agrícola Panamericana con el fin de poder profundizar más en estudios relacionados.
- Evaluar condiciones menos severas de hidrólisis que se adecúen mejor al sustrato evaluado.

## 7. LITERATURA CITADA

Fonseca, E; Oviedo, A; Vargas, I. 2006. Hidrólisis ácida de sustratos residuales agroindustriales colombianos. Umbral Científico, Fundación Universitaria Manuela Beltrán (en línea). Consultado el 22 de octubre de 2009. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/304/30400802.pdf>.

Gámez, C. 2008. Efecto de la temperatura y la concentración de ácido sulfúrico en el pretratamiento para la producción de bioetanol a partir de estiércol de ganado lechero. Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria. Honduras. 24p.

Iranmahboob, J; Farhad, N; Sharareh, M. 2001. Optimizing acid-hydrolysis: a critical step for production of ethanol from mixed wood chips. *Biomass and Bioenergy*. Elsevier Science. 22 5, 404 p.

Lin, Y; Tanaka, S. 2005. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Journal. 69 6, 642 p.

Lindberg, J; Bodil, L; Lindberg, F. 2002. Effect of harvesting interval and defoliation on yield and chemical composition of leaves, stems and tubers of sweet potato (*Ipomoea batatas* L. (Lam.)) plant parts. *Field Crops Research*. Elsevier Science. 82 1, 58 p.

López, F; Alfaro, A; Caparrós, S; García, M; Pérez, A; Garrote, G. 2008. Aprovechamiento energético e integrado por fraccionamiento de biomasa lignocelulósica forestal y agroindustrial. Caracterización de hemicelulosas, celulosas y otros productos del fraccionamiento (en línea). Consultado el 20 de octubre de 2009. Disponible en <http://www.uhu.es/cideu/Boletin/Boletin5/BolInf5CIDEU7-19.pdf>

Novoa, O. 1993. Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos (en línea). Regin de la agricultura para América Latina. Consultado el 18 de Octubre de 2009. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab489s/AB489S04.htm>

Rosero, A. 2008. Pretratamiento y fermentación de la fibra del palmito *Bactris gasipaes* para la producción de etanol lignocelulósico. Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria. Honduras. 61p.

Sanchez, G; Pilcher, L; Roslander, C; Modig, T; Galbe, M; Liden, G. 2003. Dilute-acid hydrolysis for fermentation of the Bolivian Straw material Paja Brava. *Biosource Technology*. 93 3, 256 p.

Sun, Y; Cheng, J. 2005. Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production. *Bioresource and Technology*. 96 14, 1606 p.

Zacchi, G; Palmarola, B; Chotěborská, P; Galbe, M. 2004. Ethanol Production from non-starch carbohydrates of wheat bran. *Bioresource and Technology*. 96 7, 850 p.