

## Extracción de Azúcares Reductores Totales "ART" de "coronta" de *Zea mays* "maíz amarillo duro"

### *Extraction of Sugar Total Reducers "ART" of "coronta" of *Zea mays* "yellow maize lasts"*

LEÓN TORRES, Carlos<sup>1</sup>; FLORIÁN CHAMACHE, Paola<sup>2</sup>; MOSTACERO LEÓN, José<sup>3</sup>; ARELLANO BARRAGÁN, Julio<sup>4</sup>; BARDALES VÁSQUEZ, Cecilia<sup>5</sup>; MARTIN ALVA, Enrique<sup>6</sup>; RODRIGUEZ PEREZ, Luis<sup>7</sup>; VILLANUEVA POLO, Francisco<sup>8</sup>.

No fueron encontrados conflictos de interés en este artículo.

#### RESUMEN

La alternativa de emplear residuos lignocelulósicos en la producción de bioetanol y proteína unicelular, constituye hoy una posibilidad altamente prometedora, por su amplia disponibilidad en el mundo. En este trabajo se evaluó los diferentes métodos de hidrólisis del residuo lignocelulósico de la "coronta" de *Zea mays* "maíz amarillo duro" con la finalidad de determinar el método más adecuado para obtener la máxima extracción de azúcares reductores totales "ART" y poder usarlos como sustrato en procesos fermentativos para la producción de proteína unicelular y bioetanol. Se utilizó la "coronta" seca y fraccionada de un tamaño de partícula < 0,001 m y se evaluó mediante métodos de hidrólisis químicos, físicos y la combinación de ambos, utilizando como soluciones extractantes agua destilada estéril, ácido sulfúrico e hidróxido de sodio al 1,25 %. La relación coronta-solvente utilizada en todos los tratamientos fue de 1:10. La determinación de los azúcares reductores totales se realizó en los filtrados obtenidos de cada uno de los tratamientos empleando el método de Folin-Wu. Los resultados indican que la máxima concentración de azúcares reductores totales correspondiente a 20,220 g/L, se obtiene después de realizar la hidrólisis "Mixta" como resultado de la combinación del método físico y químico.

**Palabras claves:** Azúcares reductores totales, Coronta, *Zea mays*.

#### ABSTRACT

The alternative to use residual lignocelulósicos in the ethanol production and the single cell protein production nowadays constitutes a highly promising possibility by its ample availability in the world. In this work, different hydrolysis methods of the residual lignocelulósico of "coronta" of *Zea mays* "yellow maize lasts" was to evaluate with the purpose of determining the method most appropriate for the extraction the sugar total reducers "ART" and power this to use it like substrate in fermentatives processes for the single cell protein and bioethanol production. "coronta" dry and fractional of a particle size < 0,001 m and chemical, physical hydrolysis methods and the combination were evaluated of both using like extractantes solutions sterile summarizing distilled water, sulfuric acid and hidróxido of sodium to 1,25 %. The relationship coronta-solvent used in all the treatments was of 1:10. The determination sugars total reducers were carried out filtrates obtained of each one of the treatments using the method of Folin-Wu. The results indicate that the maximum concentration of sugar total reducers corresponding to 20,220 g/L is obtained after carrying out the mixed hydrolysis as resulting of the combination of the physical and chemical method.

**Key words:** Extraction, Sugars Total reducers, Coronta, *Zea mays*.

<sup>1</sup>Doctor en Ciencias Biológicas. Docente de bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. La Libertad-Perú. Cartaviolabs@hotmail.com

<sup>2</sup>Bióloga. Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Nacional de Trujillo

<sup>3</sup>Doctor en Ciencias Ambientales. Docente de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Nacional de Trujillo. La Libertad-Perú.

<sup>4</sup>Doctor en Ciencias Biológicas. Docente de bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. La Libertad-Perú

<sup>5</sup>Doctor en Ciencias Biológicas. Docente de bioquímica de la Facultad de medicina. Universidad Privada Antenor Orrego, La Libertad-Perú

<sup>6</sup>Doctor en Ciencias Biológicas. Docente de la escuela de post grado de la Universidad Nacional de Trujillo.

<sup>7</sup>Maestro en Biotecnología. Universidad Nacional de Trujillo. La Libertad-Perú.

<sup>8</sup>Ing. Químico. Universidad Nacional de Trujillo. La Libertad-Perú.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha dedicado gran atención a la utilización de residuos lignocelulósicos como materia prima para la producción de biocombustibles, alimento animal, biomasa microbiana, entre otras aplicaciones<sup>1</sup>. La biomasa lignocelulósica está compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina. La celulosa polímero lineal de monómeros de glucosa, la cual no es susceptible a la acción de las amilasas utilizadas en hidrólisis de los azúcares monoméricos del almidón. La hemicelulosa polímero ramificado de glucosa y xilosa. La cantidad de hemicelulosa y celulosa, y sus consecuentes azúcares monoméricos, dependen de la naturaleza y la fuente de biomasa lignocelulósica. Sin embargo la hemicelulosa y la celulosa, son una fuente potencial de azúcares estructurales vegetales y están protegidos por una cobertura de lignina<sup>2</sup>.

Los residuos de industrias importadoras de maíz, como la coronta han sido considerados como biomasa de tipo residual y fuente de energía renovable debido a su naturaleza lignocelulósica formada mediante el proceso de fotosíntesis. Sin embargo, el uso de estos residuos agrícolas como materia prima para procesos fermentativos, involucra como etapa fundamental la extracción de azúcares reductores o fermentables a partir de celulosa o hemicelulosa, razón por lo cual se hacen necesarios realizar pretratamientos que permitan modificar y destruir la compleja estructura del material lignocelulósico<sup>3</sup>.

Se han establecidos diferentes métodos de pretratamientos para poder liberar los azúcares presentes en los materiales lignocelulósicos. Estos incluyen métodos físicos, químicos y biológicos, los

que presentan eficiencia variada de acuerdo a la composición de la biomasa. Pero presentan diferentes variables que facilitan los procesos de hidrólisis sin importar el tipo de material que se pretenda hidrolizar, dentro de las cuales se propone como primer paso cortar o moler el material lignocelulósico hasta obtener partículas finas de aproximadamente  $< 0,001$  m de tamaño, lo cual produce no solo rotura de las células, sino también reduce la cristalinidad y el grado de polimerización de la celulosa, facilitando de esta forma su degradación a monómeros<sup>4</sup>. Con respecto a los métodos de hidrólisis química, la hidrólisis ácida es la más empleada en procesos industriales, no obstante presenta un rendimiento relativamente bajo y alta formación de productos tóxicos cuando se trabaja con ácidos concentrados, por lo que es recomendable trabajar con ácidos diluidos para bajar los costos finales del proceso<sup>5</sup>.

La Libertad es considerada como la primera productora de maíz amarillo duro superando a los departamentos de Lima, San Martín, Lambayeque, Ancash, Cajamarca, entre otros<sup>6</sup>. La producción de maíz en este departamento, tiene una tendencia a aumentar en los próximos años debido a las exigencias del mercado internacional, así urge la necesidad de optimizar el proceso de hidrólisis. El trabajo tiene como objetivo evaluar los métodos de hidrólisis de la "coronta" de *Zea mays* "maíz amarillo duro" con la finalidad de determinar el método de hidrólisis más adecuado para la extracción de azúcares reductores totales que podrían utilizarse posteriormente en procesos fermentativos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Obtención del Material Biológico:** La "coronta" de *Zea mays* "maíz amarillo duro" fue proporcionada por la empresa desgranadora de "maíz amarillo duro" Laredo-La Libertad-Perú.

**Acondicionamiento del sustrato:** Se acondicionó la muestra mediante el proceso de secado y fraccionado. Se colocó la "coronta" fresca sobre papel periódico para absorber el exceso de humedad durante 3 días a temperatura ambiente  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ . Una vez seca se fraccionó con ayuda de tijera y cuchillos, para facilitar su acondicionamiento en la estufa la cual fue sometida entre  $80-90^\circ\text{C}$  durante 2 horas. Luego con la ayuda de un molino de acción mecánica la "coronta" fue triturada hasta lograr pasar por un cedazo de  $0.0005$  m a  $0,001$  m de diámetro.

**Proceso de extracción de azúcares reductores totales "ART" de la "coronta" de *Zea mays* "maíz amarillo duro":** La "Coronta" se sometió a la acción de diferentes solventes con la finalidad de realizar la extracción de "ART". Se utilizó la "coronta" previamente tratada y  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , NaOH y

$\text{H}_2\text{O}$  como solventes, en una relación coronta-solvente de 1:10. La concentración de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y NaOH utilizada fue de 1,25 % en todo los tratamientos. Los procesos de extracción se realizaron en un total de 15 tratamientos en los cuales se combinaron métodos químicos y físicos de extracción de la siguiente manera: Tratamientos 1, 2 y 3. Extracción de "ART" mediante hidrólisis "química" usando  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,25 % v/v, NaOH 1,25 % p/v y  $\text{H}_2\text{O}$  respectivamente en un sistema de decocción por 30 minutos. Tratamientos 4, 5 y 6. Extracción de "ART" mediante hidrólisis "química-física" usando  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,25 % v/v, NaOH 1,25 % p/v y  $\text{H}_2\text{O}$  respectivamente en un sistema de autoclave a  $120^\circ\text{C}$  por 30 minutos. Tratamientos 7, 8 y 9. Extracción de "ART" mediante hidrólisis "mixta" (química-física y química) en continuo, usando  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,25 % v/v, NaOH 1,25 % p/v y  $\text{H}_2\text{O}$  respectivamente. Tratamientos 10, 11 y 12. Extracción de "ART" de la fracción no soluble de los tratamientos 4, 5 y 6 "Extracción por agotamiento" mediante hidrólisis "química", usando solamente

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,25 % v/v en cada tratamiento, en un sistema de decocción por 30 minutos. Tratamientos 13, 14 y 15. Combinación de las fracciones solubles de los tratamientos (4, 5 y 6 y 10, 11 y 12).

**Cuantificación de los azúcares reductores totales "ART"** : Los "ART" se cuantificaron utilizando el filtrado que se ha obtenido en los

diferentes tratamientos (químico, químico-físico y "mixta") empleándose el método de Folin -Wu.

**Análisis estadístico:** La determinación de diferencias entre tratamientos se realizó con la prueba "t" de student. La variación dentro de cada tratamiento se determinó mediante ANVA<sup>7</sup>.

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos de la extracción de "ART" de la "coronta" de "maíz amarillo duro" por métodos químicos, físicos y químico-físicos se muestran en las siguientes tablas.

En la tabla 1, se pueden observar los diferentes tratamientos y los respectivos estimadores aritméticos, destacándose el tratamiento 7 o T7 con 20,220 g/L de ART, seguido del tratamiento 13 o T13 con 17,250 g/L de ART; pertenecientes al método de hidrólisis "mixta" y "combinación de

fracciones solubles de los tratamientos" respectivamente. En la tabla 2 se observa el análisis de comparación de medias por el método "t" con una significancia de ( $\alpha/2=0,05$ ) destacándose el tratamiento 7 con 20,220 g/L de ART. Así también en el diagrama 1 muestra la similitud entre los tratamientos donde se destaca al tratamiento T7 ó 7 como el diferente a todos los demás. Encontrándose también similitudes entre algunos de ellos.

**Tabla 1. Valores originales y sus estimadores aritméticos de los Azúcares reductores Totales "ART" extraídos de la "coronta de Zea mays "maíz amarillo duro" mediante hidrólisis Química, Física Y Químico-físico.**

TRATAMIENTOS			REPETICIONES			ESTIMADORES				
Nº	Características		1	2	3	$\mu$	S <sup>2</sup>	S	E.S.	C.V.
	Código	Solución								
01	T1	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	4,05	3,83	4,42	4,1000	0,08890	0,2982	0,1721	7,2722
02	T2	NaOH	0,05	0,03	0,08	0,053	0,00006	0,0025	0,0015	<b>47,1864</b>
03	T3	H <sub>2</sub> O	2,16	1,92	2,27	2,1167	0,00320	0,1790	0,1033	8,4557
04	T4	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	10,01	9,65	10,15	9,9367	0,00665	0,2579	0,1489	2,5958
05	T5	NaOH	3,32	2,84	3,45	3,2033	0,10323	0,3213	0,1855	10,0302
06	T6	H <sub>2</sub> O	5,28	6,01	5,12	5,4700	8,67362	0,4744	0,2739	8,6736
07	T7	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	21,03	19,07	20,56	20,2200	1,04710	1,0233	0,5908	5,0607
08	T8	NaOH	0,86	0,68	0,91	0,8167	0,00146	0,1210	0,0070	14,8124
09	T9	H <sub>2</sub> O	1,86	1,93	1,17	1,6533	0,17643	0,4200	0,2425	<b>25,4056</b>
10	T10	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	7,24	6,86	7,54	7,2133	0,11613	0,3408	0,1968	4,7244
11	T11	NaOH	3,02	3,52	3,04	3,1933	0,00801	0,2831	0,1634	8,8647
12	T12	H <sub>2</sub> O	6,73	6,26	6,86	6,6167	0,00996	0,3156	0,1822	4,7705
13	T13	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	17,29	16,81	17,65	17,2500	0,17760	0,4214	0,2433	2,4431
14	T14	NaOH	6,34	7,01	6,58	6,6433	0,11523	0,3395	0,1960	5,1098
15	T15	H <sub>2</sub> O	12,01	12,06	11,85	11,9733	0,00120	0,1097	0,0063	0,9162

**Leyenda:** Valores en negrita indican heterogeneidad de los datos. Valores de E.S. señalan suficiencia.

**Tabla 2. Comparación de medias por el método "t" de los azúcares reductores totales "ART" extraídos de la "coronta" de *Zea mays* "maíz amarillo duro" mediante métodos Químicos, Físicos y Físico-Químicos**

Tratamientos	Nº	02	08	09	03	11	05	01	06	12	14	10	04	15	13	07	
	Rango	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	
Nº	Rango	Media	0.053	0.8167	1.6533	2.1167	3.1933	3.2033	4.1000	5.4700	6.6167	6.6433	7.2133	9.9367	11.9733	17.2500	20.2200
02	I	0,053	----														
08	II	0,8167	<b>13,401</b>	----													
09	III	1,6533	<b>6,242</b>	2,815	----												
03	IV	2,1167	<b>23,005</b>	<b>37,528</b>	1,401	----											
11	V	3,1933	<b>17,940</b>	<b>10,25</b>	<b>7,458</b>	-4,095	----										
05	VI	3,2033	<b>18,268</b>	<b>20,64</b>	<b>3,894</b>	<b>-13,009</b>	0,029	----									
01	VII	4,1000	<b>25,673</b>	<b>28,82</b>	<b>5,963</b>	<b>23,743</b>	2,879	10,734	----								
06	VIII	5,4700	<b>18,876</b>	<b>13,54</b>	<b>18,91</b>	<b>-8,907</b>	<b>19,188</b>	-4,934	-3,164	----							
12	IX	6,6167	<b>38,802</b>	<b>51,60</b>	<b>12,55</b>	<b>-56,104</b>	<b>-9,977</b>	<b>1024,00</b>	<b>-30,797</b>	-2,514	----						
14	X	6,6433	<b>32,271</b>	<b>22,62</b>	<b>18,33</b>	<b>-15,930</b>	<b>51,815</b>	<b>-9,389</b>	<b>-7,935</b>	-8,127	-0,073	----					
10	XI	7,2133	<b>39,237</b>	<b>49,14</b>	<b>13,07</b>	<b>-53,298</b>	<b>11,503</b>	<b>81,291</b>	<b>-67,231</b>	-3,741	12,151	1,582	----				
04	XII	9,9367	<b>72,971</b>	<b>114,9</b>	<b>22,40</b>	<b>170,646</b>	<b>21,850</b>	<b>175,156</b>	<b>-87,224</b>	<b>10,577</b>	<b>94,536</b>	<b>10,042</b>	<b>47,811</b>	----			
15	XIII	11,9733	<b>153,461</b>	<b>87,81</b>	<b>57,30</b>	<b>60,959</b>	<b>67,142</b>	<b>36,531</b>	<b>-33,508</b>	<b>28,691</b>	<b>-22,607</b>	<b>29,370</b>	<b>-18,524</b>	<b>9,897</b>	----		
13	XIV	17,2500	<b>75,068</b>	<b>93,32</b>	<b>33,23</b>	<b>106,979</b>	<b>35,524</b>	<b>183,217</b>	<b>154,617</b>	<b>22,986</b>	<b>135,653</b>	<b>26,201</b>	<b>215,071</b>	<b>73,46</b>	<b>17,408</b>	----	
07	XV	20,2200	<b>34,679</b>	<b>36,72</b>	<b>25,93</b>	<b>-35,833</b>	<b>22,649</b>	<b>-39,594</b>	<b>-32,086</b>	<b>17,359</b>	<b>31,429</b>	<b>17,283</b>	<b>28,514</b>	<b>22,06</b>	<b>13,199</b>	<b>6,935</b>	----

**Leyenda:** Valores en rojo indican diferencias significativas ( $\alpha/2 = 0.05$ ).

**Diagrama 1. Resultados del test de comparación de promedios (método "t")**

Nº	02	08	09	03	11	05	01	06	12	14	10	04	15	13	07
Rango	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
Media	0,053	0,8167	1,6533	2,1167	3,1933	3,2033	4,1000	5,4700	6,6167	6,6433	7,2133	9,9367	11,9733	17,2500	20,2200
Homogeneidad y Heterogeneidad	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

**Leyenda:** Las líneas continuas indican homogeneidad de los tratamientos.

## DISCUSIÓN

La "coronta" del maíz es un residuo de origen lignocelulósico que es obtenida de las empresas desgranadoras de maíz durante el envasado del mismo. El cultivo de maíz genera una gran cantidad de biomasa aérea, de la cual el 50,0 % es cosechada en forma de grano, correspondiendo el resto a diversas estructuras de la planta<sup>8</sup>. Estos residuos pueden ser procesados para obtener fibra altamente digerible para alimentación animal, carbohidratos para la producción de bioetanol o alimentos y proteínas para consumo humano<sup>9</sup>. Sin embargo en este proyecto se utilizó la coronta del maíz que es un recurso renovable potencial para la obtención de azúcares reductores destinados a procesos fermentativos. Pero lo más importante es encontrar el método más adecuado a utilizar para lograr la hidrólisis de la celulosa.

La biomasa lignocelulósica presenta una estructura compleja, cuya fracción mayoritaria es la celulosa. Este polisacárido está formado por largas cadenas de glucosa unidas entre sí por enlaces  $\beta$  (1-4) que a su vez se agrupan en estructuras superiores de gran cristalinidad, lo cual dificulta el proceso de hidrólisis enzimática por lo que es necesario realizar pretratamientos de la biomasa<sup>10</sup>.

En este trabajo se utilizaron métodos de hidrólisis ácida y básica con  $H_2SO_4$  y NaOH respectivamente. Afirman que la hidrólisis básica

es recomendable cuando se precisa hacer un pretratamiento del material lignocelulósico como paso previo a una hidrólisis enzimática puesto que la acción del NaOH es lograr solubilizar parcialmente la lignina produciendo hinchamiento de la biomasa lo que conduce a un aumento del área superficial interna y descenso de la cristalinidad dejando así más accesible la celulosa a la acción enzimática; razón por la cual su actividad extractante de azúcares reductores como la glucosa es mucho menor que la de los ácidos<sup>11</sup>, hecho que ha sido corroborado por los resultados obtenidos en el presente trabajo, los mismos que indican que el  $H_2SO_4$  logra realizar una mejor extracción de azúcares reductores de la "coronta" de maíz que el NaOH.

La hidrólisis ácida transforma las cadenas de polisacáridos que forman la biomasa en sus monómeros elementales y puede utilizarse ácidos concentrados con los cuáles se puede obtener alto rendimiento de hidrólisis pero tiene la desventaja de un costo elevado y la demanda de una etapa de neutralización de la fracción líquida obtenida lo cual aumenta aún mas el costo del proceso. Es posible emplear ácidos diluidos como se realizó en este trabajo, lo cual disminuye el costo del proceso, pero se requieren altas temperaturas para alcanzar rendimientos aceptables de conversión de celulosa a glucosa, por lo que se realizó la hidrólisis "mixta"

es decir la hidrólisis química seguida de la hidrólisis física, utilizando  $H_2SO_4$  y colocando la muestra al autoclave respectivamente.

El efecto de la temperatura produce la alteración física de las fibras lignocelulósicas, ocasionando separación y ruptura de las mismas, mientras que los ácidos pueden despolimerizar y lograr la ruptura de enlaces liberando así los monómeros que los constituyen.

El efecto mecánico está causado por la rápida despresurización que provoca evaporación del agua interna, creando fuerzas de cizalladura que producen la separación de las fibras, principalmente de las regiones más débiles (celulosa amorfa)<sup>12</sup>. Esto puede explicar los

resultados los cuáles indican que al realizar la hidrólisis "mixta" (métodos físicos y químicos) se obtuvo mayor concentración de azúcares reductores correspondientes a 20,220 g/L. Estos resultados son muy aceptables al ser comparados con los estudios realizados por<sup>13</sup>, que reportan entre 5,200 y 8,600 g/L al hidrolizar la pulpa del café, en la hidrólisis de la paja de trigo con  $H_2SO_4$  al 2,0 % con lo cual se obtuvieron 2,000 g/L de azúcares reductores en equivalentes de glucosa<sup>5</sup> y a los estudios realizados por<sup>14</sup> al realizar diferentes métodos de hidrólisis de la "peladilla" de espárrago lo cual se obtuvo 7,000 g/L de azúcares reductores totales.

## CONCLUSIONES

La coronta de *Zea mays* "maíz amarillo duro" sometida a hidrólisis "mixta" (métodos físico-químico) presenta buena cantidad de ART la que puede utilizarse como fuente de energía renovable

en procesos fermentativos para la producción de bioetanol y biomasa microbiana.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Fernández, J. 1995. La biomasa como fuente de energía y productos no alimentarios. En: La biomasa como fuente de energía y productos para la agricultura y la industria. Serie de ponencias. Editorial CIEMAT. Madrid.
- Duff, S., W. Murray. 1996. Bioconversion of forest products industry waste cellulosic to fuel ethanol. *Bioresour. Technol.* 55: 1-33.
- Ballesteros, I. 2000. Obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica mediante un proceso de sacarificación y fermentación simultánea (SFS). Tesis doctoral. Universidad de Alcalá de Henares. España.
- Doelle, H. W., Mitchell, D.A. y Rolz C. 1992. Solid substrate cultivation. Elsevier science publisher Ltd. Great Britain.
- González, G.; J., López Santón, G. Caminal y C. Sola. 1986. Dilute acid hydrolysis of wheat straw hemicellulose at moderate temperatura: A simplified kinetic model. *Biotechnology and bioengineering.* 28:288-293.
- Portal Informativo de La Libertad. 2009. La Libertad lidera producción de espárragos, maíz y trigo. La Libertad-Perú.
- Freese, F. 1988. Métodos estadísticos elementales para técnicas forestales. Edit.
- Departamento de Agricultura de U.S.A. U.S.A
- Cardona, A. C., Sánchez, T. O., Rodríguez M. M. y Suárez Q. J. 2009. Producción de etanol carburante: material lignocelulósico una nueva alternativa.
- Fabelo, J. 1998. Determinación de los costos de producción de la etapa de fermentación alcohólica con utilización de diferentes sustratos. *Rev. Centro Azúcar.* 3,12-15
- Bardales, C., León, J. Mostacero, J. Arellano, C. Nomberto, O. Pretel, y M. Salazar, 2009. Extracción de azúcares reductores totales "ART" de "peladilla" de *Asparagus officinalis* "espárrago". *Revista "Arnaldoa"*. Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo-Perú.
- Larsson, S. 2000. Ethanol from lignocellulose-Fermentation inhibitors, detoxification and genetic engineering of *saccharomyces cerevisiae* for enhanced resistente. Tesis doctoral. Lund. Suecia.
- Sun Y Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresour. Technol.* 83: 1-11.
- Urbaneja, G., J. Ferrer, G. Páez, L. Arenas de Moreno, G. Coloina y L. Sandoval. 1997. Hidrólisis ácida y caracterización de carbohidratos de la pulpa de café revista de la facultad de Agronomía (LUZ). Universidad de Zulia. Maracaibo. Venezuela. 14: 265-275

Recibido: 16 agosto 2011 | Aceptado: 03 diciembre 2011