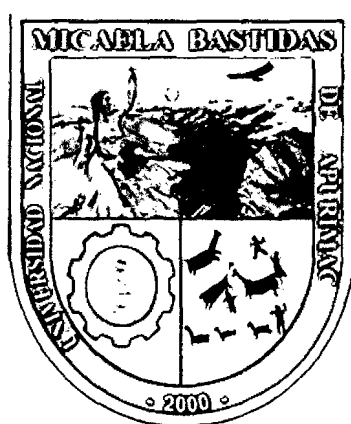


# UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA  
AGROINDUSTRIAL



**OBTENCION DE AZÚCARES REDUCTORES POR HIDROLISIS TERMICA**

**A LA PIÑA DEL *Agave americana L.*, A UTILIZARSE EN**

**LA PRODUCCION DE UNA BEBIDA DESTILADA**

**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**ROGGER JOAQUÍN BARRIOS CABALLERO**

**Abancay, noviembre de 2014**

**Perú**



UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURIMAC	
CÓDIGO	MFN
TIAB B 2014	BIBLIOTECA CENTRAL
FECHA DE INGRESO:	31 MAYO 2016
Nº DE INGRESO:	00459



**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE  
APURÍMAC**

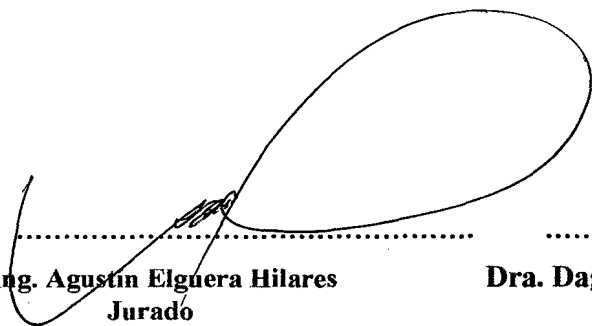
**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA  
AGROINDUSTRIAL**

**Jurado calificador integrado por:**



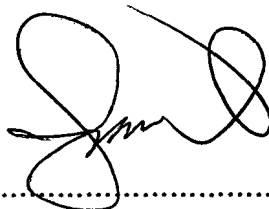
.....  
**Ing.M.Sc. Luis Fernando Pérez Falcón**  
**Presidente**



.....  
**Ing. Agustín Elguera Hilares**  
**Jurado**



.....  
**Dra. Dagnith Liz Béjarano Lujan**  
**Jurado**



.....  
**Ing. M.Sc. Fulgencio Vilcanqui Pérez**  
**Asesor**

**OBTENCION DE AZÚCARES REDUCTORES POR HIDROLISIS TERMICA  
A LA PIÑA DEL *Agave americana L.*, A UTILIZARSE EN  
LA PRODUCCION DE UNA BEBIDA DESTILADA**



## **DEDICATORIA**

*A Dios, por todo lo que me dio en la vida...*

*Con mucho amor y cariño a mis padres Roque Joaquín Barrios Vargas y Gabina Caballero Peña, y a mis queridos hermanos; Milagros, Pablo Bonie, Jordana, Mayumi, Chelsi, Jhaeson y Kimberly, que son la razón de mi existir, de quienes recibí el apoyo moral de manera incondicional y son el motivo de mis logros.  
Espero sigan mi ejemplo.*

*A mi hija Palomita, la dueña de mi corazón, tu sabes que me tienes y que solo basta una sonrisa para que consigas de mi lo que quieras.*

*Finalmente a mis familiares, amigos íntimos, que con su apoyo moral, orientaron mi camino en la conclusión de este reto personal...*

## AGRADECIMIENTOS

No ha sido fácil, sin duda terminar de realizar esta tesis, que personalmente hablando fue un gran reto, y no solo fue posible culminarlo por mi propia voluntad...siempre hubieron percances, desánimos,...y hasta amarguras (que por cierto no sobrellevaba), y ante estos inconvenientes, aparecieron personas que siempre estuvieron allí...chistando de cólera ante mis comentarios desalentadores y con poco compromiso de seguir adelante...a ellos mis más sinceros agradecimientos, a todos mis familiares y amigos, y también a todos aquellos que consideren que se lo debo de alguna manera, empezando por mis amigos del Área de Química del laboratorio SAT SAC, que me enseñaron que trabajar en un laboratorio no solo pasa por seguir los pasos de las normas, sino que el criterio y la concentración mental, son vitales al momento de realizar un determinado ensayo.

A mi tía-abuela Justina Vargas Alata, por su dedicación y justificada tolerancia (a un nieto que no era suyo)... aprendí mucho de ti abuelita durante mi estadía en Lima. Ahora que ya no estás con nosotros quiero también dedicarte este trabajo.

Al Ing. Fulgencio Vilcanqui Pérez, por su iniciativa y sus enseñanzas como mi asesor de este trabajo de investigación, así como a los integrantes del jurado de tesis: Dra. Dagnith Liz Bejarano Lujan, Msc. Luis Fernando Pérez Falcón, Ing. Agustín Elguera Hilares e Ing. Alex Muñoz Cáceres, por sus valiosos aportes durante el transcurso de ejecución del presente trabajo de investigación.

Al ing. Justo Arias, por su apoyo permanente, siempre tengo presente las largas y amenas conversaciones en el laboratorio, a mis amigos Maickold, Moisés, Henry, Jimmy, Wachi, Normita, Wilson, Franklin, Joseantonio, Edison, José, etc., con quienes compartí el laboratorio, las enseñanzas, y demás momentos especiales e inolvidables. Gracias compañeros...

Finalmente, agradecer a mi Alma máter, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, por la grandiosa experiencia de conocer y vivir la vida universitaria.



## ABREVIATURAS

Azúcares Reductores Directos	ARD
Hidroximetilfurfural	HMF
Norma técnica peruana	NTP
Sociedad de Asesoramiento Técnico SAC	SAT SAC
Sociedad de Asesoramiento Técnico –Área Química	SAT AQ
Potencial de hidrógeno	pH
Association of Official Analytical Chemists	AOAC
Grados °Brix	°Brix
Codex Alimentarius	CODEX
Norma oficial mexicana	NOM
Norma mexicana	NMX
Dióxido de carbono	CO <sub>2</sub>



## INDICE

Dedicatoria	iii
Agadecimientos	iv
Abreviaturas	v
Índice de tablas	x
Índice de Figuras	xi
Índice de anexos	xiii
Resumen	xiv
I. Introducción	1
II. Marco teórico	4
2.1 Maguey ( <i>Agave americana L.</i> )	4
2.1.1 Origen e historia	4
2.1.2 Distribución	5
2.1.3 Clasificación	5
2.1.4 Nombres comunes	6
2.1.5 Taxonomía y biosistemática	6
2.1.6 Descripción botánica	7
2.1.7 Cultivo y explotación	11
2.1.8 Usos populares de maguey	12
2.2 Composición química de los <i>agaves</i>	18
2.3 Fructanos	18
2.3.1 Inulina y fructooligosacaridos (FOS)	19
2.3.2 Aplicaciones de la inulina y fructooligosacaridos (FOS) en la industria alimentaria	20
2.3.3 El agave como fuente de inulina	21
2.4 Carbohidratos	22
2.4.1 Clasificación y nomenclatura de los carbohidratos	22
2.4.2 La Fructosa	23
2.5 Azúcares reductores en las piñas de maguey	23
2.5.1 Identificación de azúcares reductores por el ensayo de Fehling	25
2.6 Hidrólisis	25
2.6.1 Hidrólisis de la piña de maguey	25
2.7 Producción de subproductos de degradación (Furanos)	27

2.8	Bebidas destiladas obtenidas del maguey	28
2.8.1	Tequila	29
2.8.2	Mezcal	30
2.8.3	Bacanora	31
2.8.4	Cocuy	32
2.9	Comparaciones entre los <i>agaves</i> de México y el Perú	33
III.	Materiales y metodos	37
3.1	Lugar de ejecución	37
3.2	Reactivos y materiales	37
3.3	Equipos de laboratorio	39
3.4	Método de experimentación	40
3.4.1	Obtención y acondicionamiento de la planta del <i>Agave americana L.</i>	42
3.4.2	Caracterización de la materia prima ( <i>Agave americana L.</i> )	44
3.4.3	Extracción de azúcares reductores por hidrólisis térmica	45
3.4.4	Análisis estadístico	47
3.5	Análisis químico del jugo hidrolizado de la piña del maguey ( <i>Agave americana L.</i> )	48
3.5.1	Determinación de Hidroximetilfurfural (HMF método Carrez)	49
3.5.2	Determinación de azúcares reductores directos	49
3.5.3	Determinación de sólidos solubles (°Brix)	49
3.5.4	Determinación del pH	49
3.6	Fermentación alcohólica del mosto hidrolizado	50
3.6.1	Preparación del inóculo	50
3.6.2	Proceso de fermentación del mosto	51
3.7	Destilación del jugo fermentado	52
IV.	Resultados y discusión	54
4.1	Obtención y acondicionamiento de la materia prima.	54
4.2	Caracterización de la materia prima ( <i>Agave americana L.</i> )	54
4.2.1	Características físicas de la planta del maguey peruano ( <i>Agave americana L.</i> )	54
4.2.2	Características químicas del maguey peruano ( <i>Agave americana L.</i> )	56
4.3	Proceso de hidrólisis térmica de la piña del maguey peruano ( <i>Agave americana L.</i> )	60
4.3.1	Influencia del tiempo y temperatura en la producción de azúcares reductores directos (ARD)	61
4.3.2	Influencia del tiempo y temperatura en la producción de Hidroximetilfurfural (HMF)	65
4.3.3	Influencia del tiempo y temperatura en la variación de°Brix	69



4.3.4	Influencia del tiempo y temperatura en la variación del pH	72
4.4	Proceso de fermentación del mosto hidrolizado de la piña del maguey peruano ( <i>Agave americana L.</i> )	75
4.4.1	Descripción del proceso de fermentación.	77
V.	Conclusiones y recomendaciones	82
5.1	Conclusiones	82
5.2	Recomendaciones	83
VI.	Bibliografía	84
Anexos		100

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01.	Composición de las muestras de <i>A. americana L.</i>	18
Tabla 02.	Clasificación de los hidratos de carbono más importantes en los alimentos	22
Tabla 03.	Diseño factorial de (3x3x3) para la hidrólisis térmica en autoclave	48
Tabla 04.	Características físicas del <i>Agave americana L.</i> y especies mexicanas	55
Tabla 05.	Análisis químico en la base de las hojas y en la piña	56
Tabla 06.	Producción de Azúcares Reductores Totales (ARD)	62
Tabla 07.	Pruebas de los efectos inter-sujetos para ARD	62
Tabla 08.	Producción de HMF en el zumo hidrolizado	65
Tabla 09.	Pruebas de los efectos inter-sujetos para HMF	66
Tabla 10.	Variación del ° Brix en el zumo hidrolizado	69
Tabla 11.	Pruebas de los efectos inter-sujetos para °Brix	70
Tabla 12.	Variación del pH en el zumo hidrolizado	73
Tabla 13.	Pruebas de los efectos inter-sujetos para el pH	73



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01. Principales variedades del <i>Agave americana</i> .	7
Figura 02. Aspectos botánicos del <i>Agave americana</i> .	8
Figura 03. Aspectos botánicos del <i>Agave americana</i> , inflorescencia.	9
Figura 04. Aspectos botánicos del <i>Agave americana</i> , frutos y semilla	9
Figura 05. Morfología de un <i>Agave americana</i> (jurado y sarzosa, 2009).	10
Figura 06: Estructura química de los fructanos tipo inulina y tipo levana.	20
Figura 07: D-fructosa (cadena abierta o acíclica)	23
Figura 08. Piña y/o cabeza del <i>Agave americana</i> L.	24
Figura 09. Hidrólisis de la inulina de los <i>Agaves</i>	26
Figura 10. Formación de subproductos de degradación (furanos)	28
Figura 11. El <i>Agave tequilana</i> weber <i>variedad azul</i> y el tequila.	30
Figura 12. <i>Agaves</i> empleados en la elaboración de mezcal.	31
Figura 13. El <i>Agave angustifolia haw.</i>	32
Figura 14. El <i>Agave cocui</i> trelease.	33
Figura 15. Diagrama de flujo para la obtención de azúcares reductores a partir del <i>Agave americana</i> L.	41
Figura 16. Síntesis del proceso de hidrólisis del maguey peruano ( <i>Agave americana</i> L.)	61
Figura 17. Producción de azúcares reductores directos durante el proceso de hidrólisis térmica de las piñas del maguey peruano ( <i>Agave americana</i> L.)	63
Figura 18. Variación del HMF en el mosto durante la hidrólisis térmica de las piñas del maguey peruano ( <i>Agave americana</i> L.)	66
Figura 19. Variación de °Brixen el mosto durante la hidrólisis térmica de las piñas del maguey peruano ( <i>Agave americana</i> L.)	71
Figura 20. Variación del pH en el mosto durante la hidrólisis térmica de las piñas del maguey peruano ( <i>Agave americana</i> L.)	74
Figura 21. síntesis del proceso de fermentación del mosto hidrolizado ( <i>Agave americana</i> L.)	76
Figura 22. Relación de los ARD con los °Brix durante la fermentación.	77
Figura 23. Comportamiento del pH durante la fermentación	79



Figura 24. Consumo de azúcares vs producción de etanol por <i>sacharomycesalbicans</i> b, en el tratamiento 6 de la hidrólisis (110°C x 10 horas). _____	80
Figura 25. Ejemplar maduro de <i>Agave americana</i> L. variedad americana _____	131
Figura 26. Acondicionamiento de la piña del <i>Agave americana</i> L. variedad americana. _____	131
Figura 27. Obtención del jugo hidrolizado por hidrólisis térmica en autoclave. _____	132
Figura 28. Análisis fisicoquímico del jugo hidrolizado del maguey. _____	133
Figura 29. Repique de levadura y control de la fermentación del jugo de maguey. _____	134
Figura 30. Destilación del mosto fermentado. _____	135

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 01: Determinación de humedad

Anexo 02: Determinación de cenizas

Anexo 03: Determinación de fibra cruda

Anexo 04: Determinación de proteínas

Anexo 05: Determinación de grasas

Anexo 06: Determinación de carbohidratos

Anexo 07: Determinación de azúcares reductores en el zumo hidrolizado del maguey (*Agave americana L.*)

Anexo 7.1: Anova factorial – obtención de azúcares reductores directos por hidrólisis térmica.

Anexo 08: Determinación de hidroximetilfurfural en el zumo

Anexo 08.1: Anova factorial – producción de hidroximetilfurfural por hidrólisis térmica.

Anexo 09: Determinación de grados °Brix en el zumo hidrolizado

Anexo 09.1: Anova factorial – producción de °Brix por hidrólisis térmica.

Anexo 10: Determinación del pH en el zumo hidrolizado

Anexo 10.1: Anova factorial – modificación del pH durante hidrólisis térmica.



## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación, se estudia el proceso de cocción (hidrólisis térmica) de las piñas del maguey predominante en el territorio peruano (*Agave americana* L. variedad *americana*), con el objetivo de obtener azúcares fermentables y/o azúcares reductores directos (ARD) y evaluar su viabilidad como materia prima alternativa, en la producción de una bebida destilada, de igual manera se evaluó las características físicas y químicas de la planta y piña del *Agave americana* L., comparándose con especies representativas mexicanas.

La recolección y selección de la muestra, está basada en la metodología descrita por Jurado y Sarzosa (2009), posteriormente se evaluó las características físicas y químicas de la planta y piña del *Agave americana* L.; finalmente para la hidrólisis térmica de 03 piñas del *Agave americana* L., se usó un autoclave vertical, con la finalidad de acortar el tiempo y temperatura de cocción, siguiendo un proceso similar a la elaboración de los destilados mexicanos como el mezcal, bacanora y el tequila (que utilizan como materias primas alternativas especies de Agave). Como resultado de la experimentación, se obtuvo un rendimiento máximo en azúcares reductores directos de 7.31 g/100g de mosto, para el tratamiento de 110°C x 10 horas, no generándose cambios sustanciales en la coloración del mosto (hidroximetilfurfural); este tratamiento se llevó a fermentar con la levadura *Sacharomyces Albicans tipo B*, del cual se conocían sus condiciones de trabajo (pH de 6.5, °Brix de 10, y temperaturas de fermentación de 25-30°C), donde se evaluó el consumo de azúcares, la producción de CO<sub>2</sub>, variación de °Brix y la producción de etanol, obteniéndose un rendimiento de 2.42 % de alcohol a las 72 horas de fermentación. La investigación permite concluir la viabilidad de la piña del *Agave americana* L., como materia prima fuente de azúcares fermentables en la producción de una bebida destilada.



**Palabras clave:** *Agave americana* L., hidrolisis térmica, azúcares reductores directos, hidroximetilfurfural.



## ABSTRACT

In the present investigation , the cooking process (thermal hydrolysis) of pineapples predominant maguey is studied in Peruvian territory ( *Agave americana* L. American variety ) , in order to obtain fermentable sugars and / or direct reducing sugars ( ARD ) and assess its viability as an alternative raw material in the production of a distilled drink , just as the physical and chemical characteristics of the plant and pineapple *Agave americana* L. , comparing with Mexican representative species was evaluated.

The collection and sample selection is based on the methodology described by Jurado and Sarzosa (2009 ) , the physical and chemical characteristics of the plant and Pineapple *Agave americana* L is then assessed .; finally for thermal hydrolysis of 03 cones of *Agave americana* L., a vertical autoclave was used , in order to shorten the cooking time and temperature , following a similar to the development of Mexican spirits like mezcal, bacanora process and the tequila (which used as alternative raw materials *Agave* species ) . As a result of experimentation , maximum performance in direct reducing sugars 7.31 g / 100g of must, for the treatment of 110 ° C x 10 hours was obtained , without generating substantial changes in the color of the wort ( hydroxymethyl ) ; This treatment was fermented with yeast *Saccharomyces albicans* type B, which their working conditions (pH 6.5 , 10 ° Brix and fermentation temperatures of 25-30 ° C ), where consumption was assessed knew sugars , CO2 production , variation of ° Brix and production of ethanol to obtain a yield of 2.42 % alcohol after 72 hours of fermentation . The research allows to conclude the feasibility Pineapple *Agave* L. americana as a raw material source of fermentable sugars for the production of a distilled drink.



**Key words:** *Agave americana* L., hydrolysis, Direct Reducing Sugars, hydroxymethylfurfural.



## I. INTRODUCCIÓN

El maguey (*Agave americana L.*), conocido comúnmente como “cabuya”, es una de las especies vegetales de mayor abundancia en el Perú, se encuentra por todos los valles interandinos de la sierra, que crece en terrenos baldíos, pendientes pedregosos, constituye parte del paisaje andino, y forma habitualmente cercos perimétricos, para evitar el acceso a terrenos de cultivos e impide la erosión del suelo (Pardo, 2005; Bautista, 2006; Venero, 2006). Las referencias bibliográficas de su utilización agroindustrial en nuestro país son escasas; no obstante, en algunas regiones se obtienen productos derivados del exudado denominado “aguamiel” como son: la chancaca, chicha, miel de maguey, etc. (Pardo, 2007).

Las piñas de los Agaves en general, están compuestos por polímeros de cadena lineal, unidos por enlaces polipeptídicos, parecidos al almidón, conocidos como fructooligosacaridos (FOS), La inulina, es un azúcar complejo, que no puede fermentar en forma natural, por lo que es necesario el desdoblamiento de sus azúcares en formas más simples para que puedan ser consumidos por las levaduras *Sacharomyces cerevisiae* (Cifuentes *et al.*, 2010; Montañez *et al.*, 2011; Ávila *et al.*, 2012).

Este desdoblamiento y/o solubilización de la inulina (fuente de azúcar de las piñas de los Agaves) sólo podrá ser llevada a cabo de manera efectiva en la etapa de cocimiento, conocida también como hidrólisis térmica (etapa clave para la obtención de azúcares simples), siendo su rendimiento dependiente de los siguientes parámetros del proceso: temperatura de cocimiento y tiempo de residencia en los autoclaves (Mancilla-Margalli,

2002; García, 2004; Gutiérrez *et al.*, 2007; Leyba *et al.*, 2010). Una adecuada cocción permite obtener un mosto con un alto contenido de azúcares fermentables, que servirán de sustrato para las levaduras durante el proceso fermentativo y además determina su mejor rendimiento en etanol durante la etapa de la destilación (Franco, 1997 y Gómez *et al.*, 2006).

El adecuado control del tiempo de residencia en los autoclaves, permitirán una conversión total de la inulina en fructuosa – glucosa; por otro lado, la cocción de la piña con un menor tiempo de exposición al calor no permitirá la conversión total de la inulina a fructuosa-glucosa, o caso contrario, se puede presentar el problema de caramelización del jugo, por una excesiva exposición al calor, conllevando a la pérdida de la materia prima (Canizales, 1995; García *et al.*, 2003; García *et al.*, 2004).

Por consiguiente, el presente trabajo de investigación se enmarca dentro de los siguientes objetivos.

#### **Objetivo general**

- Extraer azúcares reductores de la piña del *Agave americana L.*, por hidrólisis térmica y aplicarse en la obtención de una bebida destilada.

#### **Objetivos específicos**

- Determinar las características físicas de la planta y composición química de la piña del maguey (*Agave americana L.*), procedente de la provincia de Abancay - Región Apurímac- Perú.
- Determinar los parámetros del proceso de hidrólisis térmica en la piña (*Agave americana L.*), en la obtención de azúcares reductores directos.



- Determinar la influencia de los parámetros del proceso de hidrólisis térmica en la producción de Hidroximetilfurfural (HMF).

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Maguey (*Agave americana L.*)

#### 2.1.1 Origen e historia

Todas las fuentes revisadas concuerdan en que el maguey es de origen mexicano, aunque algunos consideran que ya había llegado al Perú antes de los españoles. Garcilazo de la Vega (1501), señala que los españoles lo llaman maguey, y los indios “chuchau”. Los españoles no tardaron en llevarla a Europa en siglo XIV, y de donde se extendió por todas las regiones tropicales del continente africano, asiático en forma silvestre (Pardo, 2005).

La especie es nativa de Latinoamérica, específicamente de Méjico, desde donde pasó a Europa, puesto que figura como especie cuyas semillas fueron enviadas a España por Sessé y Mociño entre 1789 y 1793 (Venero, 2006).

Segura (2006), indica que después de la conquista, se introdujo el maguey en el extranjero. Se le encuentra en las Antillas y en California. Al otro lado del golfo mexicano se extiende a Cuba, Jamaica y Santo Domingo. Al norte a la Florida, Georgia y Carolina del Sur.

Se encuentra el maguey en la provincia de Caracas en Venezuela, en Cumaná, y en el Orinoco, en el Perú y en Chile.

El Agave o maguey, como lo llamaron los españoles, no es una palabra de origen mexicano, si no que proviene de las Antillas. En los pueblos mexicanos le llamaban “metl” en náhuatl, “tocamba” en purépecha y “guada” en otomí (Saldivar, 2007).



### 2.1.2 Distribución

El género *Agave* (sensu estricto), es endémico de América, de sus aproximadamente 200 especies, 150 se encuentran en México, lo que representa el 75%, más 36 que pertenecen a categorías infraespecíficas, lo cual constituye un total de 186 taxones. La distribución del género abarca del sur de los Estados Unidos (con dos especies disyuntas en Florida), hasta Colombia y Venezuela. Esta área incluye todas las islas del Caribe, desde las Bahamas a Aruba, Curacao y Trinidad y Tobago.

Los países con el mayor número de taxones son México, Estados Unidos, Cuba y Guatemala; los demás tienen menos de 8 especies, cifra que representa menos del 3% del total (García, 2007).

### 2.1.3 Clasificación

García (2007), establece que no existe ningún trabajo de clasificación que abarque todas las especies del género *Agave*. El sistema de clasificación más reciente, a nivel infragenérico, fue elaborado por Gentry en 1982; sin embargo, su obra sólo incluye los *Agaves* de Norteamérica continental, dejando fuera las especies del Caribe y Sudamérica. Gentry presenta los resultados de un intenso trabajo de campo en el que observó, analizó, colectó y preparó ejemplares de herbario. En la delimitación de las especies emplea caracteres morfológicos, proporcionando descripciones detalladas de las plantas, discute la variación en las poblaciones y menciona los complejos taxonómicos, tipificando, además, cada taxón, con lo cual resuelve numerosos problemas de nomenclatura.



#### 2.1.4 Nombres comunes

Linneo descubrió el *Agave americana* en el siglo XVIII (1753), comúnmente se encuentra en forma silvestre en nuestros valles interandinos y cumpliendo función ornamental en jardines costeros, como cerco de los terrenos de cultivo con diversos nombres vernaculares entre los cuales los más comunes tenemos : Agave, maguey, chuchau, pajpa, penca, pinca, cabuya americana, century plant, Ancash – chanpatra, pita, cocuisa, cocui, cabuyerú, penca azul, México, kellupancarita, chichimeco, maguey meco, ckara, Okce packpa, packpa pappe mare. En España se conoce con los nombres de pita, acibara, azabara, cabuya, cardal, pitera azul, champagra del Perú (Pardo, 2005).

#### 2.1.5 Taxonomía y biosistemática

De acuerdo a C.L.N.B (Código Internacional de Nomenclatura Botánica) el *Agave* tiene la siguiente clasificación:

**División** : Fanerógamas  
**Sub- División** : Angiospermas  
**Clase** : Monocotiledóneas  
**Orden** : Iridíneas  
**Familia** : Amarilidáceas  
**Sub – familia** : Agavoidea  
**Género** : *Agave*  
**Especie** : *Agave americana* L.

El Género *Agave* comprende plantas indígenas de América, de tallo bastante desarrollado y vivaces de raíz fibrosa. Las hojas agudas, carnosas y terminan en una espina.

Las flores tienen un periantio infundibuliforme de 6 salientes e insertados sobre el tubo del periantio; el ovario adherente e inferior; el fruto es una cápsula de 5 celdillas con muchas semillas (Pardo, 2005).



**Figura 01.** Principales variedades del *Agave americana*.

A- variedad *americana*; B- variedad *margarita*; C- variedad *medio picta*  
Fuente: Jurado y Sarzosa (2009).

#### 2.1.6 Descripción botánica

El nombre del género proviene del griego *agavos* que significa magnífico, admirable, hermoso o noble. Son plantas monocotiledóneas de la familia de las Agavaceae. Su historia taxonómica ha presentado problemas y hasta hoy existen discordancias entre los autores sobre los géneros que deben integrar la familia, así como, dificultades para identificar y clasificar algunas especies (Pardo, 2005).

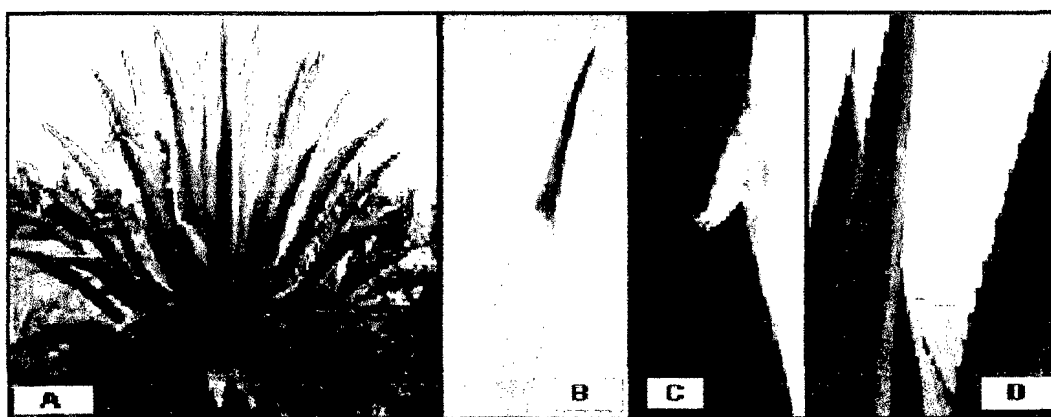
El Maguey es una planta herbácea con un periodo de crecimiento y maduración de 10 a 18 años después de los cuales florece. El tiempo de maduración depende de las condiciones climáticas y de suelos (Pardo, 2005).

Según Cifuentes (2010), el tiempo de maduración del Agave mezcalero o cenizo, es de 4 a 20 años o más, mientras que Arcos *et al.*, (1998), establece que los magueyes en general

alcanzan su madurez fisiológica después de 6 u 8 años, y es posible cosecharlas entre 8 y los 12 años de edad, intervalo que alcanza su completo desarrollo.

La raíz es amplia y robusta. El tallo es único, no ramificado, generalmente oculto por las hojas en su etapa inmadura. Se le descubre cuando las hojas son cortadas, las hojas están dispuestas en forma de roseta alrededor del tallo, son de color verde grisáceo muchas veces azulado, miden 1.20 a 2.00 m, son gruesas, carnosas, lanceoladas y sin pecíolo con un ancho de 30 cm, son ligeramente cóncavas hacia arriba y adentro, de bordes firmes con una hilera de espinas terminando el vértice con una espina de 3 cm de largo. La superficie está cubierta de una membrana resistente y blanquecina. En el espesor de las hojas se encuentra fibras longitudinales muy resistentes y maleables.

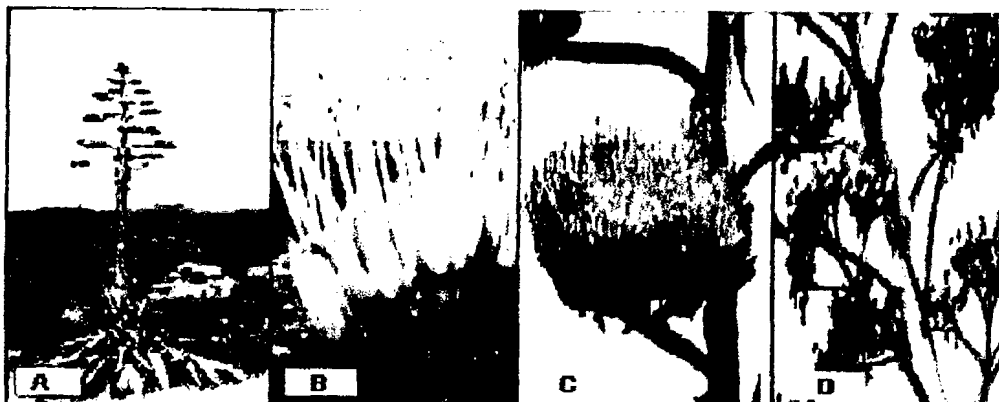
Del vértice del tallo, en el centro de gigantesca roseta, surge verticalmente hacia arriba el tallo floral que llega a medir de 6 a 8m de altura, este se ramifica en candelabro y da origen a panículos de varios centenares de flores.



**Figura 02.** Aspectos Botánicos del *Agave americana*.

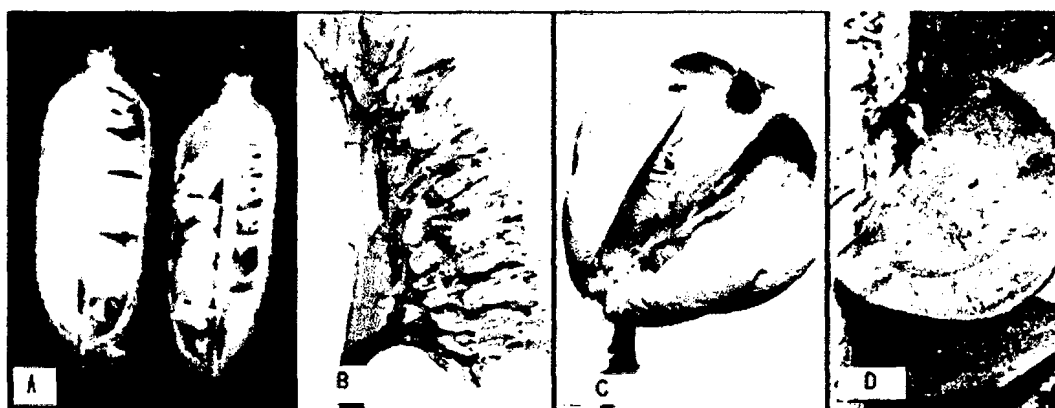
A - *Agave americana*; B- ápice de la hoja; C- diente lateral de una hoja; D- hojas del *Agave*  
Fuente: Jurado y Sarzosa (2009).

Las flores son mixtas tubulares de 5 cm de largo de color amarillo verdoso, formada por 6 pétalos, 6 estambres largos y un ovario tripartido.



**Figura 03.** Aspectos Botánicos del *Agave americana*, Inflorescencia. A Floración, B y C- Flores de Agave; D- Frutos de Agave. Fuente: Jurado y Sarzosa (2009).

El fruto es una cápsula triangular, prismática oblonga, de 4 cm aprox. de largo y lleno de semillas. Las semillas son planas de color negro, miden aproximadamente de 6 a 8 mm, germina en los pedúnculos florales y los frutos rápidamente son reemplazados por los hijuelos (bulbillos), que son plantas en miniatura con unas cuantas hojas, tallo corto y raicillas que caen al suelo y comienza la vida de una planta. Una vez producida los frutos la planta muere.



**Figura 04.** Aspectos Botánicos del *Agave americana*, Frutos y semilla A- Fruto, B- frutos abiertos y secos, C- fruto seco, D- semilla. Fuente: Jurado y Sarzosa (2009).

Los Agaves se pueden propagar mediante bulbillos que son brotes vegetativos que se generan en los pedúnculos florales, en el tallo y entre una hoja y otra (brote axial), sin embargo, para el *Agave americana*, esta práctica no es usual, ya que no es común hallar dichos brotes vegetativos, o son muy escasos. En el *Agave americana* principalmente se utilizan los hijuelos que nacen desde los rizomas de la planta madre, para posteriormente ser trasplantados cuando alcanzan un tamaño de hasta de 50 cm (Jurado y Sarzosa, 2009).

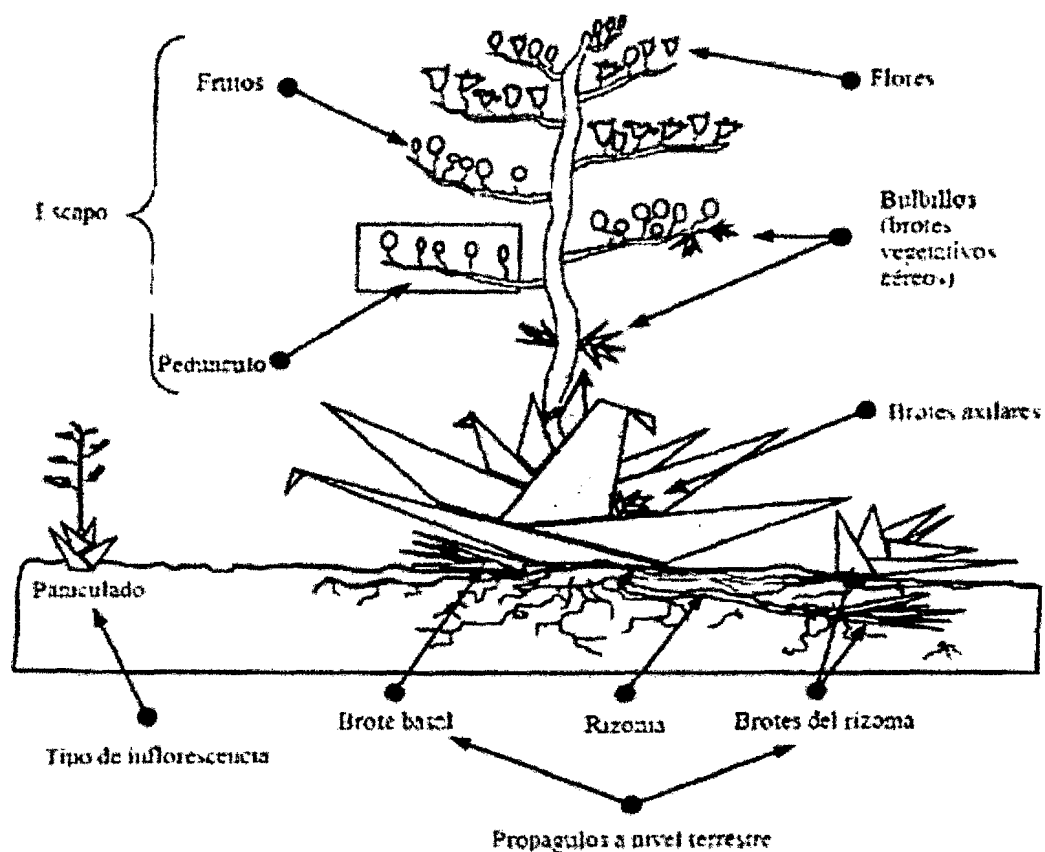


Figura 05. Morfología de un *Agave americana* (Jurado y Sarzosa, 2009).

### 2.1.7 Cultivo y explotación

En el Perú, la especie crece silvestre y cultivada. Para Middendorf (1974) y Cerrate (1998), citados por Pardo (2005), se la encuentra espontánea en la costa y en la sierra entre los 3800 de altitud, aunque a esa altura las rosetas alcanzan apenas 2 m. de diámetro, mientras en la costa y sierras bajas pueden superar los 3 m. Generalmente se la emplea como cercos defensivos en las zonas escarpadas, áridas y rocosas, para rodear terrenos agrícolas y para formar barreras que protejan de la erosión las laderas, caminos o bordes de canales favoreciendo la estabilización del terreno según Middendorf (1974) y Brack (1999) citados por Pardo (2005). Consideraciones que coinciden con Carhuapoma y Portuguez (1996), citados por Pardo (2005) quienes la señalan como especie empleada desde tiempos inmemoriales para estabilizar andenes y circundar las parcelas mencionando además su potencialidad como suplemento en la alimentación de ganado.

Dávila, (2004), sostiene que esta planta es aprovechada por los pueblos en el ande en un sinfín de productos. He aquí un compendio de sus estudios: del jugo de las hojas se elabora chancaca, miel, caramelos, azúcar, toffees, vinagre, bebidas fermentadas (pulque y guarapo), bebidas frescas (chicha de maguey), aguamiel y néctares (Pardo, 2005). Sin embargo, otros países como Brasil producen industrialmente un promedio 250 000 toneladas de fibra de Agave por año y México industrializa al Agave principalmente para la producción de corticoides y hormonas sexuales, producción de bebidas alcohólicas como: Pulque, Mezcal y Tequila (Pardo, 2005).



## 2.1.8 Usos populares de maguey

El maguey es una planta que tiene diversas aplicaciones, que es aprovechada por la población que conoce sus diversos usos, los cuales se describe a continuación:

### 2.1.8.1 Medicinal

En muchos lugares de nuestro país es empleado como enemagogo, ya sea la savia no fermentada o una infusión de sus hojas, así como, antirreumático, diurético, laxante, y antisifilítico (Pardo, 2005).

Venero (2006), cita a Soukup (1970), en el que refiere su uso como planta medicinal y reporta que se usa como: cicatrizante, desinflamatorio, estomacal y ocular, en el tratamiento de la ictericia, de ciertas dolencias hepáticas y de la apendicitis; mientras Brack (2003), menciona su uso medicinal como planta vulneraria, anti-cefaleas, anti-irritante, depurador de la sangre y su uso en el tratamiento de la ictericia, enfermedades hepáticas, apendicitis, hidrofobia, conjuntivitis, quebraduras y luxaciones; Además, Venero (2006) cita a Valera (1597), que menciona su uso en medicina para la curación de llagas canceradas o inflamadas, para extirpar gusanos y para la limpieza de cutis.

También se usa la infusión de las hojas combinada con miel para el lavado de los ojos irritados. Las hojas cocidas se usan como lociones para las enfermedades de los ojos.

Pardo (2002) cita a Juscafresa (1975), quien indica que *Agave americana L.* posee propiedades astringentes y calmantes. La raíz seca en decocción durante 10 minutos a dosis de 20 gramos por litro de agua, purifica la sangre. El zumo obtenido de las hojas mezclado con aceite de oliva y aplicado en fricciones, alivia el dolor de gota y reuma.



Peana *et al.*,(1997), menciona que el *Agave americana L.*, en la medicina popular ha demostrado propiedades diuréticas, laxantes y antiinflamatorias.

Contrario a lo mencionado por todos estos autores, la savia del *Agave americana L.*, causa también reacciones cutáneas al contacto con la piel tal como lo menciona De la Cueva *et al.*,(2005), la savia del interior de sus hojas es el componente más irritante, ya que contiene cristales en forma de aguja de oxalato cálcico (raphides), aceites volátiles, saponinas, goma de Agave y otros componentes, causando reacciones cutáneas por diversos mecanismos: dermatitis irritativa de contacto, dermatitis alérgica de contacto, urticaria de contacto y fotodermatitis, el cuadro clínico clásico comienza a los pocos minutos de la exposición a la savia con una sensación intensamente pruriginosa y, posteriormente, formación de pápulas y vesículas.

#### **2.1.8.2 Alimentación del ganado**

Se usa como planta de forraje en su etapa inmadura, principalmente en las épocas de sequía. Constituye una alternativa para la alimentación del ganado vacuno y caprino principalmente el aguamiel, los primeros brotes de los tres días se usa para alimentación del ganado porcino (Pardo, 2005).

Venero (2006), refiere sobre el uso de su escapo como alimento para el ganado vacuno, y que resulta ser un nuevo tipo de uso para la especie. Se trata de un uso con carácter temporal, es decir, cuando existe la disponibilidad de escapos tiernos, entre los meses de septiembre a noviembre, que coincide con temporada en que también hay escasez de alimento para el ganado.



### 2.1.8.3 Alimentación del hombre

En la alimentación humana en nuestro medio, actualmente se usa la savia denominada dulce de maguey, que se obtiene de forma artesanal en algunos lugares de nuestro país (Pardo, 2005).

Según Pardo (2007), el aguamiel se obtiene cuando la planta alcanza la madurez (cinco a siete años) y las condiciones edáficas y ambientales lo facilitan, se anuncia la presencia del escape floral. La población nativa, atenta a los cambios lo reconoce, corta el ápice (meristema) y con una barreta hace una cavidad donde se acumula la savia, que diariamente recolecta. Tanto la cantidad obtenida como el período de producción son variables según los autores, lo cual está posiblemente influenciado por las condiciones ambientales

En la población peruana según los estudios realizados del conocimiento de la planta y sus derivados, su popularidad es todavía baja (Pardo, 2007). En la actualidad se sabe que la explotación del aguamiel de Agave es en forma artesanal en su mayor parte, todavía no existen formas estandarizadas para su aprovechamiento.

Ahora también ya se obtienen derivados como: chancacas y miel; bajo éstas formas se pueden comercializar, ya que bajo la forma natural no se puede comercializar porque es muy inestable, rápidamente se fermenta (Bautista, 2006).

Pero la comercialización bajo éstas formas de chancaca y miel aún no se ha optimizado porque generalmente se distribuyen en forma de trueques. Si bien es una alternativa para atenuar los problemas económicos de las comunidades más deprimidas, pero aún no se da la debida importancia y tampoco se incentiva su explotación racional de la planta, ya que su



explotación en muchos casos implica la destrucción de la planta si no se explota adecuadamente y es necesaria la reforestación continua (Bautista, 2006).

Bajo la forma de chancaca el producto que se obtiene es de bajo rendimiento en relación de la materia prima original, aún no se ha logrado optimizar la explotación bajo esta forma. Bajo la forma de miel también la comercialización es todavía baja en popularidad, son populares en los lugares de producción (Pardo, 2005).

Del lado mexicano, Cervantes y Pedroza (2007) citado por Pardo (2005), mencionan que la savia azucarada conocida como aguamiel, obtenida a partir de diferentes especies de maguey (*Agave americana*, *A. atrovirens*, *A. ferox*, *A. mapisaga*, *A. salmiana*), es fermentada para obtener la bebida tradicional Mexicana denominada como pulque, que es consumida por poblaciones indígenas y mestizas de muchas regiones del país, caracterizándose por ser una bebida alcohólica, blanca, con olor fuerte y viscosa.

Olvera *et al.*, (2008), describe la amplia gama de aplicaciones potenciales médicas y alimentarias directamente asociadas con las fructanas o con moléculas modificadas con fructosa, los fructósidos, lo que ha dado un impulso a esta nueva actividad básica y aplicada que tiene como eje central a este azúcar. Una de estas fructanas más abundantes en la naturaleza, la inulina está ligada a la industria tequilera, ya que es abundante en las piñas maduras de Agave; mediante la cocción de las piñas la inulina se hidroliza en fructosa para que pueda ser fermentada por las levaduras. Así mismo, los polímeros de fructosa ocupan también un papel preponderante en la nutrición moderna, al haberse reconocido su función tanto de fibra soluble como de prebiótico, término con el que se denomina al “alimento especial” que beneficia a la microflora intestinal.



#### 2.1.8.4 Elaboración de bebidas

La bebida que más destaca en nuestro medio, es conocida como la “chicha de maguey”, que es la bebida fermentada de aguamiel, hecha a partir de *Agave americana* (*var. americana*), bajo esta forma es consumida por la mayoría de la población que conoce el aguamiel (Pardo, 2005).

En México la bebida alcohólica de importancia prehispánica es el pulque, elaborado de la especie *Agave salmiana* ssp. *Salmiana*, llamado por los antiguos “octli”, la cual proviene del centro de México y era utilizada como bebida ritual y alimenticia. El pulque se elabora a partir de la fermentación del aguamiel. El consumo de esta bebida, estaba restringido a mujeres embarazadas, ancianas y condenadas a muerte, siendo que su consumo no estaba permitido ni siquiera para el gobernante o los nobles que le rodeaban (Saldivar, 2007).

El maguey pulquero por excelencia es *Agave salmiana*, tanto por la cantidad de aguamiel que produce como por la calidad en el sabor, superior a los otros magueyes pulqueros (Segura, 2006).

Según Carrillo (2007), México cuenta con 03 bebidas destiladas con denominación de origen; el Mezcal, el Bacanora y el Tequila, diferenciándose unas de otras, por las características particulares de su territorio, las especies de Agave que se utilizan en su elaboración, las formas de su producción y otros aspectos que se encuentran consignados en las denominaciones de origen respectivas. El tequila se elabora a partir de *Agave tequilana* *Weber azul*, el bacanora, se basa únicamente en la cosecha de *Agave angustifolia*, mientras que el Mezcal, se elabora hasta con 25 especies diferentes, ya sean cultivadas o silvestres,

así mismo Gómez *et al.*, (2006), incluye también al *Agave americana L*, como materia prima en la elaboración de mezcal principalmente en el estado de Tamaulipas.

La república de Venezuela cuenta también con una bebida tradicional al cual denominan como cocuy, que es una bebida alcohólica producida artesanalmente de la destilación del mosto fermentado del *Agave cocui* Trelease. La producción del mosto fermentado de cocuy se conoce desde épocas precolombinas y desde el siglo XVII se elabora el producto destilado (Leal *et al.*, 2007).

#### **2.1.8.5 Material de construcción**

Las hojas del maguey constituyen una fuente importante para la obtención de fibras naturales muy resistentes, maleables y muy apreciadas. A partir de las hojas se extraen fibras ya sea en la forma fresca o fibras secas. Estas fibras se usan para la construcción de sogas, hondas de los pastores, para la elaboración de mallas de pesca, mallas de embalaje, mallas de carga, objetos ornamentales y puentes colgantes (Bautista, 2006).

El tallo floral maduro y seco se usa para la construcción de viviendas, puertas, ventanas y los corrales de los animales, así mismo para elaborar los “banquitos” para asiento de maguey (Pardo, 2005).

#### **2.1.8.6 Combustible**

Cuando la planta cumple su ciclo vital, las hojas se secan, estas hojas son usadas como combustible para uso doméstico y principalmente para calentar hornos artesanales por que generan gran cantidad de calor. La desventaja que hace su uso doméstico poco común, es la producción de fuertes sonidos al momento de combustionar, sin embargo en el calentamiento de los hornos es muy usado (Pardo, 2005).



## 2.2 Composición química de los *Agaves*

La composición química de las muestras de *Agave americana* que crece en el estado de Tamaulipas-México, se muestra en el tabla 01. El Agave presentó un alto contenido de sólidos (32.8%). Los fructanos representaron aproximadamente el 70% de los sólidos solubles. Estos compuestos fueron tratados por hidrólisis química para la obtención de jarabes ricos en fructosa (Gómez-Ayala *et al.*, 2007).

Tabla 01. Composición de las muestras de *A. americana* (Hidrólisis ácida cuantitativa).

Componente	%
<b>Humedad (H%)</b>	67.25 ± 0.3
<b>Sustancia seca (SS%)</b>	32.78 ± 0.3
<b>Celulosa (Glucano)</b>	36.20 ± 4.29*
<b>Fructanos</b>	69.75 ± 1.24*
<b>Lignina de Klason</b>	17.02 ± 1.12*

\* Porcentaje en peso de materia seca.

Fuente: Gómez-Ayala *et al.*, 2007

## 2.3 Fructanos

Los fructanos son polímeros de fructosa que constituyen los principales carbohidratos de reserva en algunas familias del reino vegetal (15% de plantas con flores como la achicoria y los Agaves), o bien, comparten esta función con el almidón y son producidas por microorganismos; se almacenan en raíces, tubérculos, rizomas, inflorescencias y frutos inmaduros; son sintetizados a partir de sacarosa y sólo contienen un residuo de glucosa en el extremo reductor de la molécula; presentan diferente grado de polimerización, peso molecular, estructura, y por ende, diferentes propiedades fisicoquímicas y funcionales (Zamora, 2011; Muñoz *et al.*, 2001).

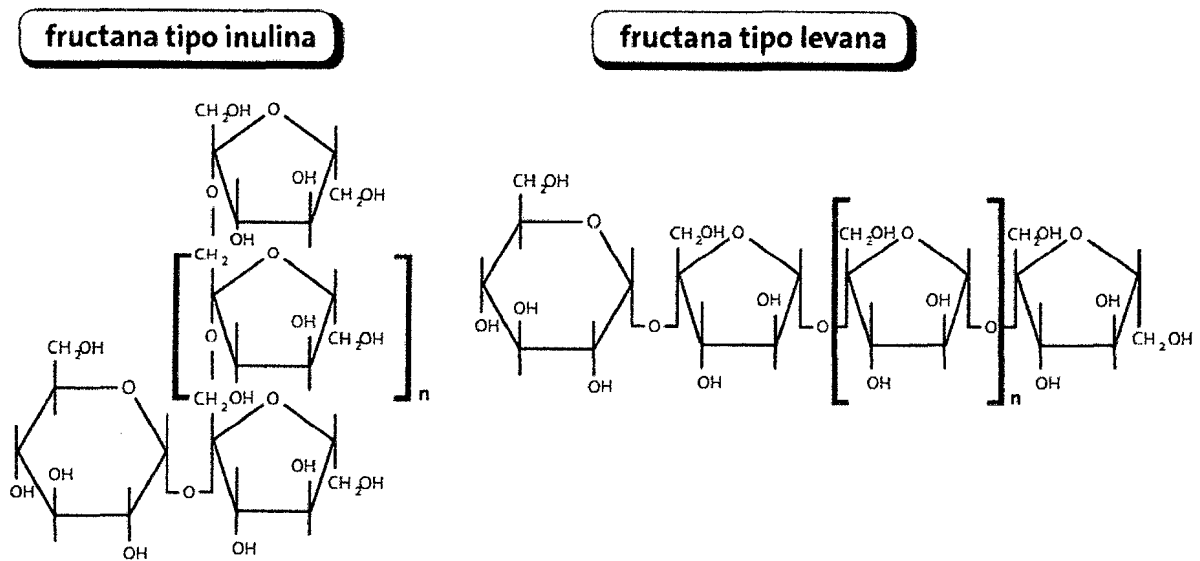
### 2.3.1 Inulina y fructooligosacaridos (FOS)

Los fructanos son considerados como oligo y polisacáridos resistentes, que contienen como unidad manomérica a la fructosa (Englyst *et al.*, 1995 citado por Ramírez, 2009). De acuerdo a su estructura molecular, los fructanos se dividen en dos clases (Van *et al.*, 1995 citado por Ramírez, 2009):

**Levanas:** Son fructanas unidas por enlaces glucosídicos  $\beta$  (2,6), con varios grados de enlaces o ramificaciones  $\beta$  (2,1). Son producidas por una gran variedad de bacterias como: *B. subtilis*, *B. circulans*, *B. polymixa*, *B. amyloliquefaciens*, *Lactobacillus reuteri*, *Zymomonas mobilis*, *Erwinia herbicola*, *Pseudomonas syringae pv glycinea*, *P. syringae pv phaseolicola* y *Acetobacter diazotrophicus*. (Ramírez, 2009; Zamora, 2011).

**Inulina:** Son producidas por la mayoría de las plantas dicotiledóneas como carbohidratos de reserva; se caracterizan porque entre las moléculas de fructosa predominan enlaces glucosídicos  $\beta$  (2,1) (Ramírez, 2009; Zamora, 2011). Es importante mencionar que, se pueden presentar una variedad de estructuras complejas a través de ramificaciones en las posiciones complementarias  $\beta$  (2,6) de la inulina y en las posiciones  $\beta$  (2,1) de las levanas; dichas estructuras reciben el nombre de “fructanos ramificados” (Zamora, 2011; Muñoz *et al.*, 2001; Olvera *et al.*, 2008; Rendón, 2007).

Los FOS se diferencian de los fructo-polisacáridos (inulina), sólo por el grado de polimerización, los FOS poseen de 3-10 unidades monoméricas, mientras que la inulina llega a poseer de 10-60 (Baghurst *et al.*, 1996 citado por Ramírez, 2009).



**Figura06.** Estructura química de los fructanos tipo inulina y tipo levana (Olvera *et al.*, 2008; Ramírez, 2009).

### 2.3.2 Aplicaciones de la inulina y fructooligosacaridos (FOS) en la industria alimentaria

La inulina tiene sabor neutro, por lo que se puede combinar fácilmente con otros ingredientes. Es moderadamente soluble en agua. Contribuye a la textura y palatabilidad de los productos a los cuales se adiciona. Tiene una excelente capacidad para reemplazar las grasas, cuando se mezcla con agua forma un gel, ofreciendo una estructura cremosa, que da palatabilidad similar a la textura de los productos que contienen grasa. Puede emplearse como estabilizador de emulsiones, así como, en sinergismo con otros geles (Van *et al.*, 1995 citado por Ramírez, 2009).

Los FOS, son más solubles en agua y poseen un sabor moderadamente dulce, lo que los hace magníficos, para ser empleados como sustitutos del azúcar. En combinación con otros

azúcares, pueden potenciar el sabor afrutado de ciertos productos. Contribuyen a la textura, muestran propiedades humectantes, reducen la actividad del agua, y los efectos que sufren los productos, al someterse a cambios bruscos de temperaturas, ya sea productos que se escaldan, hierven o congelan. Así mismo, la aplicación de ambos como fibra dietaria, les confiere propiedades organolépticas a los productos, por lo que son altamente empleados en yogures, leches fermentadas, bebidas, postres, alimentos bajos en grasas y como sustitutos de azúcares (Van *et al.*, 1995 citado por Ramírez, 2009).

El común denominador de las bebidas destiladas mexicanas, es que todas ellas se producen a partir de diferentes clases de Agave, siendo las fructanas la fuente principal de azúcares fermentables presentes en estos vegetales. En las agaváceas existen diferencias interesantes en la estructura de sus fructanas que pueden ser, en buena parte, responsables de las diferencias que caracterizan a las bebidas que de ellas se derivan. En *Agave tequilana* y *Agave americana* se había reportado la presencia mayoritaria de fructanas tipo inulina lineal (Olvera *et al.*, 2008)

### **2.3.3 El Agave como fuente de inulina**

Varios estudios indican que las piñas o cabezas de los Agaves son ricos en carbohidratos, entre los que se encuentra la inulina (Arrazola, 1969). Se han realizado análisis en piñas de *Agave tequilana* Weber, que muestran que el contenido de carbohidratos es de 75%, se ha identificado azúcares como glucosa, dextrina, almidón y principalmente inulina, que representa el 24 % de los azúcares totales (Arrazola, 1969) y tienen la característica de que las moléculas que lo componen son más pequeñas que las moléculas de almidón y más solubles en agua (Bautista, 2001; Gómez *et al.*, 2008).



## 2.4 Carbohidratos

Como indica su nombre, los hidratos de carbono o carbohidratos (CHO) son compuestos formados por carbono, hidrógeno y oxígeno, presentan la fórmula general  $C_x(H_2O)_n$ , y tienen estructura de polihidro-xialdehído o de polihidroxiacetona; además, todos los carbohidratos presentan grupos funcionales  $C=O$  o  $-OH$  (Badui, 2006).

### 2.4.1 Clasificación y nomenclatura de los carbohidratos

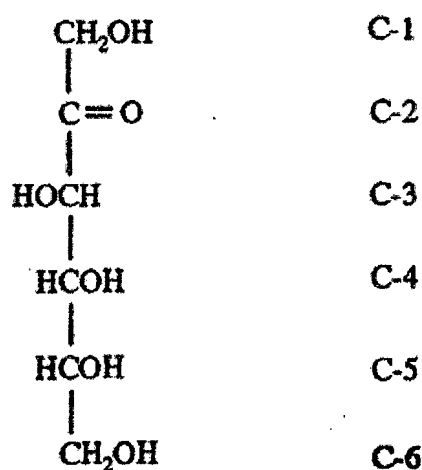
Existen diversas clasificaciones de los carbohidratos, cada una de las cuales se basa en un criterio distinto: estructura química, ubicación del grupo  $C=O$  (en aldosas o cetosas), número de átomos de carbono en la cadena (triosa, tetrosa, pentosa, hexosa), abundancia en la naturaleza, uso en alimentos, poder edulcorante, etc. Por lo general se prefiere el criterio de la estructura química, que hace referencia al tamaño de la molécula o al número de átomos de carbono que ésta contiene, así como a la cantidad de unidades de azúcar que lo conforman. De acuerdo con este principio, los hidratos de carbono pueden ser monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos (Ver tabla 02).

Tabla 02. Clasificación de los hidratos de carbono más importantes en los alimentos.	
<b>a) Monosacáridos (1 unidad de azúcar)</b> Pentosas: xilosa, arabinosa, ribosa, etc. Hexosas: aldohexosas: glucosa, galactosa, manosa, etc. cetohehexosas: fructosa, sorbosa, etc.	<b>b) Oligosacáridos (de 2 a 10 unidades de azúcar)</b> Disacáridos: lactosa, sacarosa, maltosa, etc. Trisacáridos: rafinosa, etc. Tetra y pentasacáridos: estaquirosa, verbascosa, etc.
<b>c) Polisacáridos (más de 10 unidades de azúcar)</b> Homopolisacáridos: almidón, glucógeno, celulosa, etc. Heteropolisacáridos: hemicelulosa, pectinas, etc.	

Fuente: Badui, 2006.

### 2.4.2 La fructosa

La fructosa es un monosacárido que se encuentra principalmente en jugos de diversas frutas y en las mieles; cuando se hidroliza la sacarosa, se produce en cantidades equimoleculares con glucosa. Al igual que la mayoría de los monosacáridos, la fructosa es un azúcar reductor y, dado que es altamente levorrotatorio, se le designa con el nombre de levulosa. Forma parte de algunos polisacáridos, principalmente de la inulina (polisacárido lineal que contiene una glucosa terminal, y cuya unión molecular se da mediante enlaces  $\beta$  (2-1) glicosídicos no digeribles), que se encuentra en plantas como el maguey, el ajo y la alcachofa, entre otras (Bautista, 2001; Badui, 2006; Ávila, 2012; Gonzales *et al.*, 2007).



**Figura07.D-Fructosa** (cadena abierta o acíclica)

**Fuente:** Fennema, (2000).

### 2.5 Azúcares reductores en las piñas de maguey

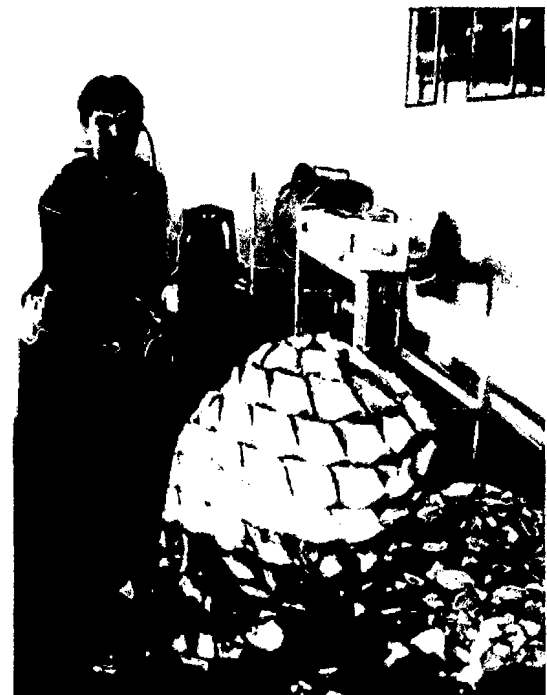
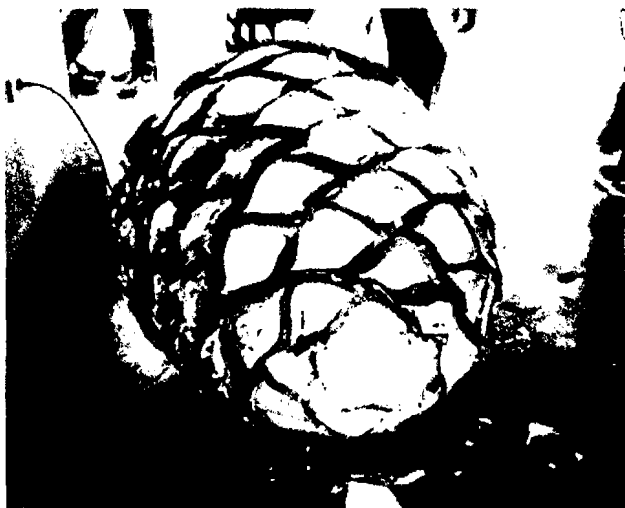
La fructosa y la glucosa presentes en el Agave son dos azúcares reductores que pueden ser utilizados para obtener alcohol con un proceso de fermentación, además que pueden



interactuar con las proteínas dando como resultado la caramelización o reacciones de Maillard (Téllez, 1998, citados por Gonzales *et al.*, 2007 y Bautista, 2001). La hidrólisis total de la inulina produce, además de fructosa, de 5 a 6% de moléculas de glucosa considerada en los extremos de la cadena (Canizales, 1995).

El Agave está constituido por los monómeros fructosa (95%) y glucosa (5%) (Vizcaino *et al.*, 2007; Gómez *et al.*, 2008; Vargas 2009).

La mayor concentración de azúcares reductores se encuentra en la piña (16 a 28%) y la menor en las hojas (3,3 a 16,1%) (Iñiguez *et al.*, 2001 y Montañez S. *et al.*, 2011). La parte comercialmente importante de los Agaves para la producción de las bebidas alcohólicas mexicanas, es el tallo y las bases de las hojas adjuntas, comúnmente denominado "cabeza" o "piña", ya que se asemeja a una piña gigante (Iñiguez *et al.*, 2001; Rongel, 2004 y Ávila, 2010).



**Figura 08.** Piña y/o cabeza del *Agave americana L.*  
Fuente: Adaptación propia.

### **2.5.1 Identificación de azúcares reductores por el ensayo de Fehling**

Los carbohidratos que presentan grupos aldehídicos libres o en forma hemiacetálica (grupos aldehídicos potenciales) no bloqueados (por ejemplo formando parte de un enlace glicosídico) pueden ser oxidados por diferentes reactivos, por lo que se les denomina **azúcares reductores**. Uno de los métodos más utilizados para realizar la determinación cuantitativa y cualitativa de determinación de estos azúcares, es la prueba del Fehling, que se basa en determinar si el azúcar posee poder reductor ya que los azúcares reductores tienen una coloración rojiza debido al óxido cuproso que se forma por oxidación del azúcar por medio del catión  $\text{Cu}^{2+}$  (Abril *et al.*, 2006).

### **2.6 Hidrólisis**

En química el concepto de hidrólisis indica un proceso químico donde una molécula ha sufrido una ruptura de uno o más enlaces químicos, dando lugar a uno o más productos, siendo el solvente o vehículo en este proceso el agua. De allí que el proceso se denomine hidrólisis (hidro = agua y lisis = romper).

#### **2.6.1 Hidrólisis de la piña de maguey**

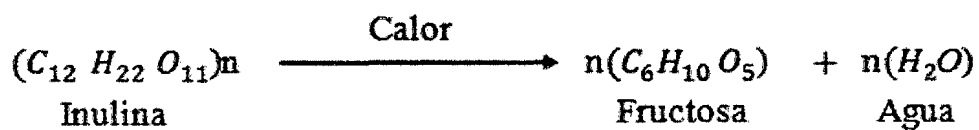
Los propósitos de la operación de cocimiento son hidrolizar las cadenas de inulina en monosacáridos de estructura simple como son la fructosa y la glucosa, así como caramelizar algunos azúcares que contribuyan de manera significativa al sabor y olor final del destilado. Esto se logra al aplicar calor, ya sea por calentamiento directo o por inyección de vapor (Canizales, 1995; NOM-006-SCFI-2005-Tequila; Madrigal, 2000).



Los equipos de cocimiento de los Agaves se lleva a cabo en hornos tradicionales fabricados de ladrillo, piedra y concreto (de mampostería o subterráneos) o en modernos autoclaves de acero a presión, usando como medio de calentamiento la inyección directa de vapor saturado, que tienen la ventaja de acortar el proceso de hidrólisis (Madrigal, 2000 y Rongel, 2004).

Los Agaves contienen carbohidratos complejos que durante el proceso de hidrólisis, se degradan por la acción de la acidez del jugo y del calor en el cocimiento, liberando azúcares simples (fermentables), por lo que puede considerarse una hidrólisis tipo ácido-térmica (Morales, 1997; Madrigal, 2000; Fontana *et al.*, 2007 citado por Leyba *et al.*, 2010; Quiroz y Gómez, 1999 citados por Ávila, 2012). En esta etapa es importante controlar la temperatura, si es más baja que la necesaria, el polisacárido no se degradará y si es muy alta ocurrirá la caramelización de los azúcares, en ambos casos se tendrá menor cantidad de azúcares (Bautista *et al.*, 2001).

La ecuación que nos muestra el desdoblamiento se describe como sigue:



**Figura09.** Hidrólisis de la inulina de los *Agaves*

**Fuente:** Rongel, (2002).

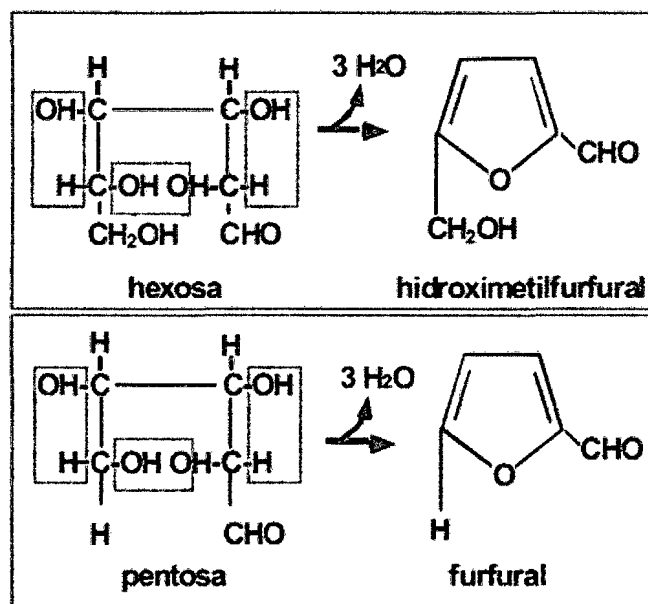


## 2.7 Producción de subproductos de degradación (furanos)

Los autores García (1990) y Gonzales *et al.*,(2007), mencionan que la obtención de jarabes fructosados, a partir del Agave por evaporación y concentración de extractos obtenidos de la cocción (hidrólisis térmica), y prensado de las piñas de Agave, presentan la limitante de obtener jarabes de baja pureza con tóxicos como el hidroximetilfurfural (HMF), debido a la sensibilidad de la fructosa al calor. Para García *et al.*,(2003) y Abril *et al.*,(2006), estos subproductos de degradación se caracterizan por tener un gran potencial de inhibir parcial o totalmente el metabolismo de las levaduras durante la fermentación de los mostos hidrolizados.

Las pentosas y hexosas (tanto aldosas como cetosas) en presencia de ácidos minerales (p.ej., ácido sulfúrico) y a temperaturas elevadas sufren procesos de deshidratación originando **furfural** (derivados de pentosas) o **hidroximetilfurfural** (derivados de hexosas) (Abril *et al.*,2006 y Cortinez, 2010). Cabe señalar que el efecto tóxico de HMF es menor que el furfural, así mismo, la conversión de furfural es mucho más rápido que el HMF (Harmsen *et al.*, 2010), debido a que en el medio ácido la degradación de azúcares manomericas sigue el siguiente orden: xilosa> arabinosa> manosa> galactosa> glucosa (Janga *et al.*, 2012, citado por Altamirano, (2013). A continuación se muestra la formación de estos compuestos:





**Figura10.** Formación de subproductos de degradación (Furanos)

**Fuente:** Abril *et al.*, (2006).

Los monosacáridos, en caliente y medio muy ácido, sufren una deshidratación que conduce a la formación de un anillo pentagonal de furfural o hidroximetilfurfural, según se parta de pentosas o hexosas. Los oligo- y polisacáridos también sufren estas reacciones, ya que el medio ácido favorece la hidrólisis previa del enlace glicosídico. Los furfurales formados se combinan fácilmente con diversos fenoles y aminas, dando reacciones coloreadas (Abril *et al.*, 2006).

## 2.8 Bebidas destiladas obtenidas del maguey

Las bebidas que se extraen de las plantas del maguey tienen fama internacional. En la actualidad tienen mayor consumo las bebidas que una vez fermentadas se destilan, como el tequila, el mezcal, el bacanora y el sotol. Sin embargo, en países de América es común

identificar otras bebidas como el caso de Venezuela, Colombia y Perú, que están empezando a encaminarse en su desarrollo agroindustrial (Saldivar, 2007).

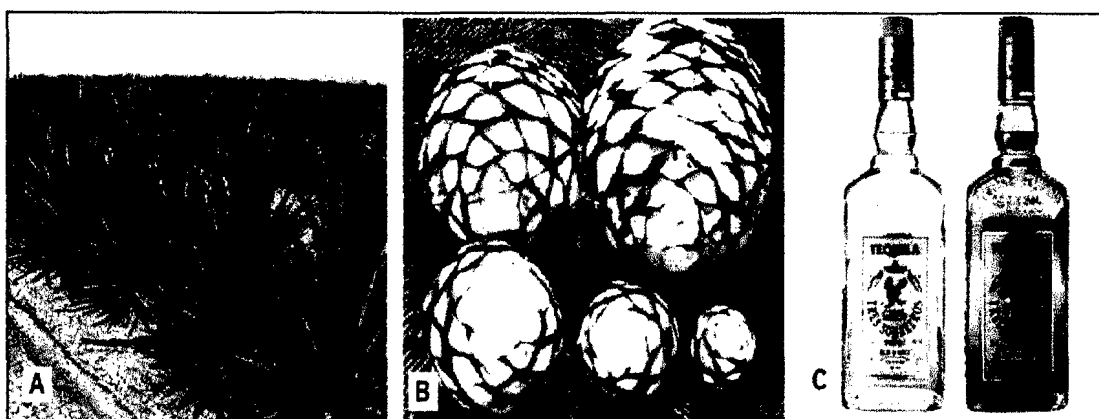
De acuerdo a la definición de las normas oficiales mexicanas, para los destilados provenientes de los Agaves con denominación de origen (Tequila, Sotol, Bacanora y Mezcal), mencionan que son bebidas alcohólicas obtenida por destilación y rectificación de mostos, derivados de la molienda de las cabezas de Agave (las especies varían para cada una de las bebidas),previa o posteriormente hidrolizadas o cocidas, y sometidos a fermentación alcohólica, siendo susceptibles los mostos de ser enriquecidos por otros azúcares hasta en una proporción no mayor de 49% de azúcares reductores totales expresados en unidades de masa, no estando permitidas las mezclas en frío. El destilado de Agave es un líquido que, de acuerdo a su tipo, es incoloro o amarillento cuando es madurado en recipientes de madera de roble o encino, o cuando se aboque sin madurarlo (Carrillo, 2007; Vera *et al.*, 2007).

Las denominaciones de origen se encuentran reguladas por las normas oficiales mexicas (NOM), al Tequila lo rige la NOM-006-SCFI-2005; al Mezcal la NOM-070-SCFI-1994; y al Bacanora la NOM-168-SCFI-2004 (Carrillo, 2007). Mientras que al Sotol lo rige la NOM-159-SCFI-2004.

### **2.8.1 Tequila**

Según la NOM-006-SCFI-2005, el Tequila se define como una bebida alcohólica regional obtenida por destilación de mostos, preparados directa y originalmente del material extraído, en las instalaciones de las fábricas de un productor autorizado la cual debe

estar ubicada en el territorio comprendido en la declaración, derivados de las cabezas de *Agave tequilana* Weber *variedad azul*, previa o posteriormente hidrolizadas o cocidas, sometidos a fermentación alcohólica con levaduras, cultivadas o no, siendo susceptibles los mostos de ser enriquecidos y mezclados conjuntamente en la formulación con otros azúcares hasta en una proporción no mayor de 49% de azúcares reductores totales expresados en unidades de masa, en los términos establecidos por esta norma.



**Figura 11.** El *Agave tequilana* Weber *variedad azul* y el tequila.

Fotos: A-Cultivo *Agave tequilana*, B: Piñas de *Agave tequilana*, C: Tequila blanco y reposado.

**Fuente:** A ([www.hechoxnosotrosmismos.com](http://www.hechoxnosotrosmismos.com)); B ([www.flickr.com](http://www.flickr.com)); C ([www.drinkon.com](http://www.drinkon.com))

### 2.8.2 Mezcal

Según la NOM-070-SCFI-1994, el Mezcal es una bebida alcohólica regional obtenida por destilación y rectificación de mostos preparados directa y originalmente con los azúcares extraídos de las cabezas maduras de los Agaves, previamente hidrolizadas o cocidas, y sometidas a fermentación alcohólica con levaduras, cultivadas o no.

Para elaborar el Mezcal, se utilizan los Agaves de las siguientes especies:

- *Agave angustifolia* Haw (maguey espadín);
- *Agave esperrima* Jacobi, Amarilidáceas (maguey de cerro, bruto o cenizo);
- *Agave weberi* Cela, Amarilidáceas (maguey de mezcal);
- *Agave patatorum* Zucc, Amarilidáceas (maguey de mezcal);
- *Agave salmiana* Otto Ex Salm SSP *Crassispina* (Trel) Gentry (maguey verde o mezcalero); y Otras especies de Agave, siempre y cuando no sean utilizadas como materia prima para otras bebidas con denominaciones de origen dentro del mismo Estado.



**Figura12.** Agaves empleados en la elaboración de Mezcal.

Fotos: A-*Agave potatorum* Zucc y B- *Agave salmiana* Otto.

Fuente: A ([www.cactuspedia.info](http://www.cactuspedia.info)); B ([www.infojardin.com](http://www.infojardin.com))

### 2.8.3 Bacanora

El bacanora, es un destilado hecho 100% de Agave silvestre asado, fermentado y destilado, similar al tequila y mezcal diferenciándose por las características de la planta utilizada, por las condiciones climáticas imperantes en la región serrana de Sonora, el tipo de levaduras silvestres utilizadas y el proceso empleado para su elaboración. Existen varias especies de

Agave, cuyo jugo puede ser fermentado y destilado para la producción de bebidas alcohólicas, sin embargo, el *Agave angustifolia* Haw o *Agave pacifica* Trel, actualmente conocido como *Agave vivipara* L. es el único autorizado para la elaboración de bacanora. El bacanora, es un licor claro y cristalino y ha sido comparado con los mejores destilados del mundo (Jurado y Sarzosa, 2009).



**Figura13.** El *Agave angustifolia* Haw.  
Fuente: (<http://blogdetijuana.blogspot.com>)

#### 2.8.4 Cocuy

Este es una bebida alcohólica que se obtiene a partir del destilado del mosto o jugo elaborado a partir del corno central o cabeza del *Agave cocui* Trelease.

El *Agave cocui* Trelease, es una planta autóctona de Venezuela, típica de las regiones desérticas. Tradicionalmente esta planta ha sido explotada para la elaboración de diversos productos artesanales uno de los cuales es un licor denominado cocuy (Leal y Chirinos, 2003).



**Figura14.** El *Agave cocui* Trelease.  
Fuente: (www.Agavepages.co.uk)

## 2.9 Comparaciones entre los *Agaves* de México y el Perú

Es necesario hacer una comparación entre el maguey predominante en todo el Perú (*Agave americana* L), y las especies mexicanas como son: el *Agave tequilana* Weber *variedad azul*, materia prima para la elaboración de la bebida más famosa de México: el tequila, el *Agave angustifolia* Haw, materia prima para la elaboración del Bacanora, el *Agave dasylirion* Wheeleri, del que se obtiene el Sotol, el Henequén (*Agave fourcroydes* Lem), de la que se extraen azúcares y fibra (Rendon *et al.*, 2007), así como las especies mezcaleras: *Agave Salmiana*, *Agave Angustifolia* Haw (maguey espadín); *Agave Patatorum* Zucc, *Agave weberi* Cela, etc, y además del *Agave cocui* Trelease, que es una especie autóctona de Venezuela y de la que se obtiene el destilado denominado Cocuy (Leal y Chirinos *et al.*, 2003).

Las comparaciones que se detallarán a continuación están relacionadas con las condiciones geográficas de crecimiento de estas especies, que sin duda, influyen en sus características metabólicas, bioquímicas, fisiológicas y morfológicas de la planta, y que hacen posible su gran adaptabilidad y capacidad de subsistir aún en ambientes medioambientales extremos.

Martínez *et al.*,(2007), menciona que “todas las particularidades biológicas de los Agaves, en su conjunto, les permiten sobrevivir en condiciones extremas de salinidad, sequía, altas temperaturas, heladas, radiación solar intensa, suelos escasos y nutricionalmente pobres, etc.; y les han permitido poblar hábitats en los que pocas especies sobreviven como desiertos, escarpadas laderas de montañas, salinas costeras, e incluso en selvas tropicales húmedas, como epífitas”; De igual manera los autores Rzedowski (1981) y Cronquist (1977) citado por Verduzco (2008), señalan que uno de los tipos de vegetación más característico de México es el rosetófilo, representado principalmente por especies de este género, especialmente adaptadas a ambientes áridos y con muy baja precipitación anual, condición que predomina en más de la mitad del territorio mexicano; hecho también afirmado por García (2007), mencionando que los magueyes son plantas xerófitas, adaptadas a vivir en condiciones climáticas desfavorables, con largos periodos de sequía y altas temperaturas.

Para el caso del *Agave tequilana* Weber, Ruiz-Corral *et al* (2002), establece un rango de crecimiento óptimo entre 1600 y 2200 msnm, alegando que es una especie idónea para climas subtropicales, con régimen térmico de templado a semicálido, mientras que García Mendoza (2007), manifiesta que las especies de Agave crecen en un gran número de hábitats de México, desde el nivel del mar hasta 3400 msnm, aunque son más comunes

entre 1000 y 2000 msnm, son abundantes en las planicies y bases de las montañas de las zonas áridas y semiáridas de la península de Baja California, Sonora (donde crece el *Agave angustifolia Haw*), el altiplano mexicano (de chihuahua y Coahuila a Guanajuato y Querétaro), la planicie Tamaulipeña (donde se desarrollan las especies mezcaleras *Agave Salmiana*, *Agave Angustifolia Haw*, *Agave Patatorum zucc*, *Agave weberi cela*), el Valle de Tehuacán-Cuicatlán y la Cuenca de río Balsas.

Para el caso del maguey predominante en el Perú , Pardo (2005), afirma que la especie se promueve y se recomienda para las zonas medias del altiplano andino (3.000 a 3.800 msnm), mientras que Dávila C.V (2003), citado por Bautista (2006), manifiesta que el *Agave americana L*, crece en los valles interandinos de nuestro país, entre los 800 a 3000 msnm, pudiéndose encontrar también a altitudes menores y mayores, encontrándose la mayor población en el callejón de Huaylas, en el Valle del Mantaro, Cajamarca, Cuzco, Ayacucho, Huancavelica y Huánuco.

De esta última afirmación, es necesario aclarar que debería de incluirse a Apurímac, ya que, durante el desarrollo de esta investigación, se confirma que tiene las mismas características y condiciones geográficas de las regiones mencionadas.

Con respecto a los climas predominantes de México y Perú, podemos decir que ambos países cuentan con una gran diversidad de climas, determinados por varios factores, entre los que se encuentran: la altitud sobre el nivel del mar, la latitud geográfica, las diversas condiciones atmosféricas de su territorio, etc. En la sierra peruana, la temperatura varía de acuerdo a las estaciones, siendo el verano para el caso de Apurímac, la estación más lluviosa del año con precipitaciones promedio de entre 700-1000 mm (octubre a abril), con



temperaturas muy variadas desde 8°C en el caso de las mínimas a 28°C las máximas (SENAMHI, 2012); mientras que para el caso de México, la precipitaciones promedio varían desde los 300 hasta 600 mm anuales (aproximadamente el 50% del país), con temperaturas en promedio de 18°C a 26°C en varias regiones (CONAGUA, 2013); estas comparaciones establecen diferencias marcadas entre los climas de ambos países.



### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 Lugar de ejecución

Esta investigación se desarrolló en los laboratorios de Procesamiento de Productos Agroindustriales, Laboratorio de Química, Laboratorio de Biotecnología Agroindustrial, y el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac; así mismo, los análisis de Hidroximetilfurfural (HMF) de los jugos hidrolizados, se realizaron en el laboratorio de Química y Vitaminas de la empresa Sociedad de Asesoramiento Técnico SAC.

#### 3.2 Reactivos y materiales

- Ferrocianuro de potasio (potasio hexacianoferrato (II) trihidrato P.A.
- Acetato de zinc ( $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ ).
- Ácido clorhídrico (1+1) o al 50 %.
- Fenolftaleína (1%).
- Hidróxido de Na (10%).
- Ácido acético ( $CH_3COOH$ ).
- Azul de Metileno (1%).
- Éter de petróleo P.A
- Éter etílico P.A.
- Sacarosa pura P.A.
- Piedra pómez.



- Solución Fehling A: Sulfato de cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) P.A.
- Solución Fehling B: Tartrato de sodio y potasio ( $\text{KNaC}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )<sub>3</sub> P.A. (sal de Seigneste).
- Balones Kjeldahl.
- Buretas de 25 y 50 mL
- Crisoles
- Placas petri
- Tubos de ensayo
- Asa bacteriológica.
- Embudo Buchner
- Embudos de vidrio y plástico
- Fiolas de 25, 50, 100 y 250 mL
- Frascos de vidrio de 300 mL.
- Matraces de 250, 500 y 1000 mL.
- Mechero bunsen.
- Picetas.
- Pipetas volumétricas de 5, 10, 15,50 y 100 mL.
- Pipetas graduadas de 1, 3, 5, 10, 15 mL.
- Micropipeta de 0.1mL.
- Probetas de 50 y 100mL.
- Bisulfito de sodio  $\text{NaHSO}_3$  (Grado técnico).
- Papel whatman # 41 o N°02.



- Papel rápido.
- Papel Parafilm “M”
- Mandiles.
- Mascarilla 3M
- Guantes resiste al calor
- Vortex (Thermolyn Maxi-Mix).
- Ventilador.

### **3.3 Equipos de laboratorio**

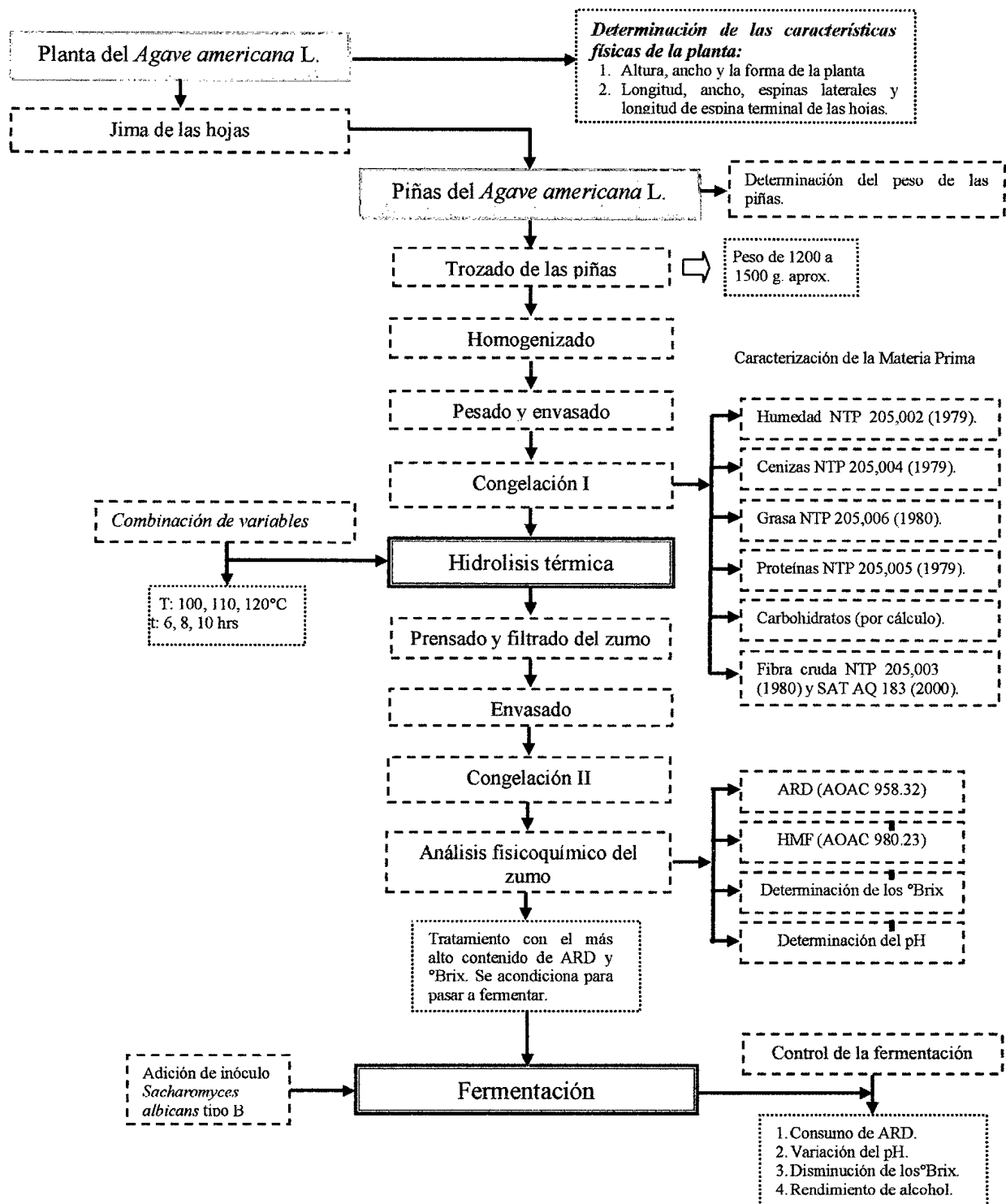
- Extractor de gases.
- Autoclave vertical.
- Refrigeradora.
- Congeladora.
- Balanza analítica y digital.
- Balón de gas.
- Cocinilla eléctrica.
- Equipo de digestión Kjeldahl.
- Sistema extracción Soxhlet.
- Sistema de destilación (serpentín).
- Espectrofotómetro de luz UV-visible (GENESYS 10S UV-Vis)
- Mufla (Thermolyne 1500 Fumare, USA).
- Estufa (Memmert – USA).
- Potenciómetro (HANNA Instruments –Romania).

- Refractómetro manual (de 0-32%, HAND HELD REFRACTOMETER – ATAGO)

### 3.4 Método de experimentación

El diagrama de flujo del proceso experimental para la obtención de azúcares reductores a partir del *Agave americana L.*, se muestra en la **Figura15**.





**Figura15.** Diagrama de flujo para la obtención de azúcares reductores a partir del *Agave americana* L.

**Fuente:** Elaboración propia.



### 3.4.1 Obtención y acondicionamiento de la planta del *Agave americana L.*

Se realizó la recolección y selección al azar de 03 magueyes de una edad aproximada de 8-10 años, y un peso de 75 kg, 85 kg y 90 kg aproximadamente, estos magueyes fueron procedentes del valle de Pachachaca, territorio anexo a la provincia de Abancay, Región Apurímac, que se encuentra a una altura aproximada de 2060 m.s.n.m y a 10 km de distancia, y se encontraban creciendo indistintamente por esta zona sin ser cultivadas. La recolección se realizó en el mes de enero.

Así mismo, para la recolección de las muestras se siguió la metodología descrita por los autores *Jurado y Sarzosa (2009)*, teniéndose en cuenta los siguientes factores:

1. Cuando el Agave se encuentra maduro, el cogollo tiene la peculiaridad de presentar un gran tamaño en la base y en su apical presenta un aspecto delgado, por lo que ya no saldrán más hojas, estando próxima la salida del escapo floral del Agave.
2. Las hojas son gruesas en la base y delgadas en sus terminaciones.
3. Las hojas se encuentran bastante abiertas y separadas unas de otras.
4. Alcanza su mayor tamaño principalmente en ancho pudiendo llegar a diámetros de 4 metros.
5. Desde los 8 años en adelante se espera que brote el tallo, a partir de los meses de julio a octubre.



Una vez identificados y seleccionados los magueyes, se realizó la determinación de las características físicas de la planta como son:

- Distancias de la planta como son: la altura, ancho y la forma, para ello se hizo uso de una wincha.
- Características de las hojas: longitud, ancho, espinas laterales y la longitud de su espina terminal, para ello se hizo uso de una wincha.
- Peso de las piñas con una balanza Henkel de capacidad 600 kg.

Inmediatamente después, fueron acondicionados en su lugar de cosecha (mes de enero). Las hojas fueron separadas y cortadas por su base longitudinal (jimado de las hojas), obteniendo así 02 fracciones: la “cabeza y/o piña” y la base de las hojas; las bases corresponden a la porción de la hoja que va unida a la cabeza o piña de la planta, las cuales fueron descartadas debido a que no constituyen la materia prima para realizar la presente investigación, sin embargo, si se utilizaron para realizar el análisis químico proximal de sus componentes con el objeto de establecer comparaciones de estas dos fracciones.

Enseguida, las 03 piñas fueron sometidas a trozado mecánico en el laboratorio, utilizando inicialmente una motosierra (Marca STHIL) que permitió partir las piñas en 04 partes y posteriormente se hizo uso de herramientas e instrumentos de corte (cuchillos y serruchos), con la intención de obtener trozos de aproximadamente 1200 a 1500 g de peso, a continuación se efectuó el homogenizado de los trozos con el propósito de tener unidades experimentales uniformes, los cuales fueron pesados, envasados e identificados en bolsas de polietileno de alta densidad para finalmente conservarse en congelación para su posterior utilización.

### 3.4.2 Caracterización de la materia prima (*Agave americana L.*)

La caracterización de la materia prima se realizó en los Laboratorios de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac y Laboratorio de química y vitaminas de la empresa Sociedad de Asesoramiento Técnico SAC.

Para conocer la composición Físicoquímica porcentual de las dos fracciones del maguey, se realizaron los siguientes análisis:

#### 3.4.2.1 Determinación de humedad (Sólidos totales)

**Método:** Gravimétrico- NTP 205,002 (1979).

**Fundamento:** El método está basado en la deshidratación de la muestra, por calentamiento en estufa a  $100 \pm 105$  °C hasta un peso constante . Ver anexo 01.

#### 3.4.2.2 Determinación de cenizas

**Método:** Gravimétrico- NTP 205,004 (1979).

**Fundamento:** Calcinación de la muestra a 550°C por 6 horas en horno mufla. Destrucción y volatilización de la materia orgánica como residuos óxidos y sales minerales. Ver anexo 02.

#### 3.4.2.3 Determinación de fibra cruda

**Método:** Gravimétrico- NTP 205,003 (1980) y SAT AQ 183 (2000).

**Fundamento:** Pérdida de masa que corresponde a la incineración del residuo orgánico que queda después de la digestión con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio en condiciones específicas. Ver anexo 03.



#### 3.4.2.4 Determinación de proteínas

**Método:** Volumétrico de Kjeldahl - NTP 205,005 (1979).

**Fundamento:** Digestión de proteínas con ácido sulfúrico Q.P. y catalizadores transformándose el Nitrógeno orgánico en amoniaco que se destila y se titula con una solución ácida normalizada. Ver anexo 04.

#### 3.4.2.5 Determinación de grasa

**Método:** Extracción continua en Soxhlet con éter etílico- NTP 205,006 (1980).

**Fundamento:** Propiedad de la grasa de solubilizarse en solventes orgánicos, generándose una extracción por agotamiento. Ver anexo 05.

#### 3.4.2.6 Determinación de carbohidratos

**Método:** Por cálculo.

**Fundamento:** Se obtiene una diferencia al restar al total 100% la suma de los cinco macro nutrientes restantes (proteínas, fibra cruda, extracto etéreo, cenizas y humedad). Ver anexo 06.

### 3.4.3 Extracción de azúcares reductores por hidrólisis térmica

Es preciso indicar que se ha propuesto realizar la cocción del maguey peruano (*Agave americana L.*), apoyándonos en la información técnica de industrias similares, tales como la del tequila, mezcal, bacanora y otros, provenientes exclusivamente de México.

Estas bebidas tienen un proceso similar de elaboración, diferenciándose cada una por las especies de Agave utilizada y microorganismos fermentadores, siendo la extracción de los azúcares reductores la operación más importante.



La metodología consistió en someter a cocción (hidrólisis térmica) los trozos homogenizados de las 03 piñas del maguey obtenidas, a diferentes temperaturas y tiempos (Ver tabla 03), para conseguir la solubilidad e hidrolizar los azúcares del Agave, ya que la inulina (fuente de azúcar de los Agaves) es poco soluble en agua y no fermentable en forma directa. Se utilizó un autoclave vertical, que genera vapor por medio de resistencias eléctricas, y permite controlar manualmente la presión de vapor por medio de una válvula de desfogue. El objetivo de la hidrólisis es fijar el tiempo y temperatura de cocimiento necesario y determinar el rendimiento de azúcares reductores, por lo que se diseñó el experimento manejando las variables: tiempo y temperatura. Para el caso del tiempo, se estableció tres periodos de trabajo: 6, 8 y 10 horas (variable denominada como tiempo de residencia en el autoclave), y para el caso de la temperatura también se establecieron tres periodos de trabajo: 100, 110 y 120°C. Se consideró como variable respuesta la cantidad de azúcares reductores producidos (fructosa y glucosa) y la producción de compuestos indeseables en el mosto (HMF).

Es importante mencionar que la concentración de azúcares de nuestros 03 Agaves cosechados varía entre sí, debido a que son plantas silvestres y no hay control de su crecimiento que permita determinar con exactitud su grado óptimo de maduración. Para disminuir la variabilidad de esta variable, se prepararon muestras homogéneas; es decir, las 03 cabezas disponibles para el experimento se dividieron en partes aproximadamente iguales y con ellas se formaron las 27 unidades experimentales para reducir al mínimo el error debido a este factor. Se hicieron 03 repeticiones de cada corrida y el lote hidrolizado se dejó enfriar durante la noche para prensarse al día siguiente.



El prensado se realizó manualmente y con ayuda de una extractora y licuadora caseras, separándose primeramente la pulpa de la cáscara, para luego trozarlo en cuadraditos y colocarse en la extractora, después se filtró con una tela fina, para minimizar el desprendimiento de partículas sólidas, el zumo se receptiona en un recipiente de plástico. El zumo obtenido se almacenó en cámara de congelación (Canizales, 1995 y García *et al.*, 2002).

#### **3.4.4 Análisis estadístico**

Para evaluar el efecto de los diferentes tratamientos sobre la producción de Azúcares Reductores Directos (ARD), se sometió a un análisis estadístico con la ayuda del paquete estadístico SPSS versión 19, en la que se analizó el ANOVA y la comparación múltiple de medias (Tukey), a fin de evaluar al mejor tratamiento.

Se realizó un diseño factorial de 3x3x3, donde se ensayaron diferentes temperaturas (100, 110 y 120 °C) y tiempos de residencia en el autoclave (6, 8 y 10 horas), con la finalidad de cuantificar la producción de azúcares reductores por cada tratamiento y la producción de HMF en el zumo.



**Tabla 03.** Diseño factorial de (3x3x3) para la hidrólisis térmica en autoclave.

N° de tratamientos	Factores						N° Repeticiones
	Tiempo de residencia (hr)			Temperatura(°C)			
	6	8	10	100	110	120	
T1	6			100			3
T2	6			110			3
T3	6			120			3
T4	8			100			3
T5	8			110			3
T6	8			120			3
T7	10			100			3
T8	10			110			3
T9	10			120			3
<b>Total de ensayos</b>							<b>27</b>

### 3.5 Análisis químico del jugo hidrolizado de la piña del maguey (*Agave americana* L.)

Después de haber extraído las fructanas presentes en la piña del maguey, dichos extractos fueron analizados por métodos validados por el laboratorio SAT-SAC. Se evaluaron las siguientes variables de respuesta: % de Azúcares Reductores por el método de Fehling AOAC 958.32(2005), pH con un potenciómetro electromagnético, los °Brix utilizando un refractómetro y el contenido de HMF por espectrofotometría UV, método AOAC 980.23(2005), así mismo, cabe mencionar, que se evaluaron estos 04 parámetros con fines de comparación entre los diferentes tratamientos y se evaluaron de acuerdo a la metodología y procedimientos señalados; cada análisis se realizó por duplicado y triplicado. Los cuales se detallan a continuación:



### **3.5.1 Determinación de hidroximetilfurfural (HMF método Carrez)**

La determinación de HMF, se determinó por el método AOAC 980.23 (2005), cuyo método se basa en determinar el contenido de Hidroximetilfurfural mediante espectrofotometría de absorción molecular UV, midiendo la absorbancia a longitudes de onda de 284 nm y 336 nm. Ver anexo 07.

### **3.5.2 Determinación de azúcares reductores directos**

La determinación de ARD, se determinó por el método AOAC 958.32 (2005), cuyo método se basa en determinar el contenido de ARD mediante titulación, midiendo la reacción del sulfato cúprico con azúcar reductor en medio alcalino, formándose oxido cuproso, el cual forma un precipitado rojo ladrillo. Este método utiliza azul de metileno como indicador, el cual es decolorado una vez que todo el cobre ha sido reducido, lo que indica el fin de la titulación. Ver anexo 08.

### **3.5.3 Determinación de sólidos solubles (°Brix)**

Este método se basa en el cambio de dirección que sufren los rayos luminosos en el límite de separación de dos medios en los cuales es distinta la velocidad de propagación. Ver anexo 09.

### **3.5.4 Determinación del pH**

Para determinar el valor del pH, se utilizará el potenciómetro calibrándose antes de cada determinación con las soluciones tampón 4 y 7. Ver anexo 10.



### 3.6 Fermentación alcohólica del mosto hidrolizado

El proceso de fermentación alcohólica se realizó en el tratamiento con mayor contenido de azúcares reductores y °Brix, acondicionándose la muestra para el crecimiento de la levadura *Sacharomyces albicans* tipo B.

#### 3.6.1 Preparación del inóculo

Para el proceso de preparación del inóculo, se trabajó con una cepa específica *Sacharomyces Albicans* tipo B, aislado de la chicha de jora (Otero L, 2011), el cual fue donado por el Ing. Lucio Otero Ortiz, de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, cuyo estudio de identificación estuvo basado en técnicas morfológicas y fisiológicas que permitió identificar la especie a la que corresponden, por lo que el uso de esta levadura se justifica debido a que se conocían sus condiciones óptimas de fermentación con un pH de 6.5, temperaturas de trabajo de 25-30°C, y su nivel de tolerancia al alcohol de 7%.

Dicha cepa se repicó en Agar Saboraud por método de siembra directa (Kunz, 1986), previamente estabilizado en caldo nutritivo, esto con fines de incrementar la población de *Sacharomyces Albicans* tipo B.

El inóculo para la fermentación alcohólica se obtuvo por un proceso de repique en caldo nutritivo de 200ml, su propagación se llevó a cabo en un *shaker* entre 25 -27 °C durante 24 horas. La cantidad de inóculo utilizado para realizar la fermentación fue de 3 % v/v con respecto al volumen de fermentación, para lo cual se siguió la metodología descrito por

(Sedano, 2005), siendo 120 ml la cantidad de inóculo para la muestra de 4 litros de zumo de Agave.

### **3.6.2 Proceso de fermentación del mosto**

#### **Consideraciones previas**

Para llevar a cabo el proceso de fermentación se trabajó en condiciones de esterilización tanto de los materiales, como de la muestra de zumo de Agave, sometiéndose a temperatura de esterilización (121.5°C), por un tiempo de 15 minutos. Dichos parámetros de esterilización se emplean en conservas los cuales fueron tomados como referencia, con la finalidad de eliminar cualquier tipo de microorganismos presentes en el zumo de Agave y además de inactivar enzimas que perjudiquen el proceso de fermentación, precipitar proteínas que causan turbidez y concentración del mosto (Florio, 1998).

#### **Consideraciones posteriores.**

Las muestras de mosto de Agave esterilizadas, fueron ajustadas a pH 6.5, para iniciar la fermentación. Para este proceso, se trabajaron a temperaturas de fermentación entre 25°C y 30°C. Se consideraron estos parámetros puesto que las levaduras se desarrollan a temperaturas de 25 a 30 °C, como menciona Magonova *et al.*, (2007).

La fermentación se realizó en botellas de vidrio de 2000 ml de capacidad, agregándose 600 ml de mosto en 03 botellas acondicionadas para la fermentación (provistos de cuellos de cisne), la fermentación se realizó por triplicado para cada uno de los parámetros.



Esta etapa se llevó a escala de laboratorio, en un proceso anaerobio a temperaturas de 25 y 35 °C, acondicionados en incubadoras. Cada tratamiento fue provisto de una válvula de inyección para posteriormente extraer muestras con fines de evaluación y evitar posibles contaminaciones con otro tipo de microorganismos, trabajándose en todo momento con materiales previamente esterilizados.

Durante este proceso se midió y evaluó: el pH, °Brix, consumo de azúcares reductores, producción de CO<sub>2</sub> y producción de alcohol, las evaluaciones de estas variables, se realizaron en intervalos de 3 horas dentro de las 24 horas y cada 12 horas durante el tiempo de fermentación de los 3 días, Hidalgo (2010).

### **3.7 Destilación del jugo fermentado**

Se realizó la destilación simple del jugo fermentado, acondicionándose para tal fin un equipo de destilación de vidrio de uso en laboratorio, provisto por un matraz donde se colocó el jugo fermentado, un conductor de vapor (tipo cuello de cisne), y que al calentarse tiene la capacidad de conducir el calor con facilidad, canalizando rápidamente los vapores producidos hacia el serpentín, el cual tiene instalada una manguera de plástico en la parte superior, por el que se conduce agua fría y otra en la parte inferior por donde sale el agua.

Se cogió el destilado en un picnómetro de 10 ml, el cual estuvo previamente desecado en estufa de acuerdo a la NTP 212.030 (2009).

Este procedimiento se realizó con la finalidad de determinar el rendimiento de alcohol en volumen, a partir de la muestra con el mayor contenido de azúcares reductores, el cual fue fermentada por la levadura *Sacharomyces Albicans* tipo B; para lo cual se puso a fermentar



tres matraces de 250 ml de capacidad, con dos horas de diferencia entre cada una de las muestras (con la finalidad de dejar secar y enfriar el picnómetro en la estufa) y midiendo el grado alcohólico producido cada 03 horas durante un periodo de 03 días de fermentación, esta medición estuvo sustentado por la NTP 212.030 (2009).



## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se muestran los resultados y discusiones obtenidos en las diferentes etapas de la presente investigación, así mismo, el análisis estadístico se realizó utilizando el programa SPSS \ PASW Statistics18.

### 4.1 Obtención y acondicionamiento de la materia prima.

Los magueyes obtenidos presentaron un peso promedio de 75 kg, 80 kg y 90 kg aproximadamente, estos pesos provienen taxativamente de la parte basal (tallo) de la planta, al que los mexicanos denominan como “piña y/o cabeza”, y la definen como la parte aprovechable para la elaboración de Tequila y el mezcal (NOM-006, 2005).

### 4.2 Caracterización de la materia prima (*Agave americana L.*)

#### 4.2.1 Características físicas de la planta del maguey peruano (*Agave americana L.*).

Los resultados promedios de las plantas estudiadas, se presentan en la tabla 04, incluyéndose además, variedades mexicanas para su comparación y discusión.



Tabla 04. Características físicas del *Agave americana L.* y especies mexicanas.

Especie	Planta			Hoja				Tiempo de maduración (años)	Peso de la piña (kg)
	Altura (cm)	Ancho (cm)	forma	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Espinas laterales (m)	Longitud de espina terminal (cm)		
<i>Agave americana L.</i> (Peruana) *	210	180	Redonda	110	18	Presente	1.5	8 a 10 aprox.	81.66
<i>Agave karwinskii</i> Zucc (cirial) **	163.7	88.2	Lineal	62	5.2	Presente	2.9	6-7	11.62
<i>Agave potatorum</i> Zucc (tobalá) **	55.7	99.5	Ovada	34	13.1	Presente	3.9	6-7	10.62
<i>Agave tequilana weber</i> variedad azul ***	154	243	Redonda	125	10	Presente	2	7-8	50.00

Fuente: \* Resultados propios, recogidos en campo.

\*\* Velasco *et al.*, (2009).

\*\*\* Saldaña *et al.*, (2012) y Bautista *et al.*, (2001).

De las tres plantas estudiadas, se realizó la medición de la altura total de la planta, obteniéndose un valor medio de 210 cm (2.1m), y un diámetro o ancho de la roseta de 180 cm (1.8 m), con forma redondeada, así también, se realizó la medición de las hojas, obteniéndose un valor medio de 110 cm de longitud, y un ancho de 18 cm; Además de ello, se realizó el pesado de las pifias, obteniéndose un valor medio de 81.66 kg; desconociéndose la edad exacta de la plantas cosechadas, considerándose una edad probable de 8 a 10 años.

Para las especies mexicanas mezcaleras de *Agave karwinskii* Zucc y *Agave potatorum* Zucc, estudiados por Velasco B, E. *et al.*, (2009), la tabla 04, muestra resultados que difieren considerablemente del maguey peruano (*Agave americana L.*), con respecto a la altura, ancho y forma de la planta y las hojas, donde se ve claramente que éste alcanza una mayor altura (210 cm), frente a 163.7 y 55.7 cm para los Agaves mezcaleros respectivamente y 154 cm para los resultados obtenidos por Saldaña B.E. *et al.*, (2009); para el *Agave tequilana weber*; que a su vez posee el mayor ancho de roseta (243 cm),

seguido por el maguey peruano (*Agave americana L.*), con 180 cm y 163.7 y 55.7 cm para los Agaves mezcaleros respectivamente.

#### 4.2.2 Características químicas del maguey peruano (*Agave americana L.*)

El análisis químico de la materia prima (*Agave americana L.*), se realizó en las dos fracciones más representativas de la planta, con la finalidad de realizar una discusión comparativa con respecto a la distribución sus componentes, tanto en las bases de las hojas como en la piña y/o cabeza del maguey peruano. La tabla 05, muestra los siguientes resultados:

Tabla 05. Análisis químico en la base de las hojas y en la piña (*Agave americana L.*)

COMPONENTES	FRACCIÓN DE LA PLANTA	
	BASE DE LAS HOJAS **	CABEZA O PIÑA **
Sólidos totales (%)	14.76 ± 0.91	18.69 ± 1.12
Humedad (%)	85.24 ± 0.91	81.31 ± 1.12
Cenizas (%)*	1.31 ± 0.12	1.14 ± 0.06
Grasas (%)*	0.36 ± 0.05	0.26 ± 0.07
Proteínas (%)*	0.59 ± 0.09	0.52 ± 0.06
Fibra Cruda (%)*	6.14 ± 0.25	5.46 ± 0.51
Carbohidratos (%)*	6.36 ± 1.08	11.32 ± 1.28

\* = Cálculo en base seca.

\*\* = Media ± Desviación estándar; n = 3

La tabla 05, muestra claramente una diferencia mínima en cuanto al contenido de humedad de las dos fracciones, con mayor cantidad en la base de las hojas, debido a la cercanía y proximidad a las hojas, que por su naturaleza misma, tienen la función de efectuar las reacciones bioquímicas y la apertura de estomas para la asimilación de carbono, por lo que



es indispensable la presencia de agua en su estructura (García, 2007), además que está protegida de una cutícula gruesa en la epidermis de la hoja, que le permite evitar una excesiva transpiración durante los periodos de sequía (García, 2007), caso contrario ocurre en la cabeza o piña de la planta, que tiene una función de almacenamiento de carbohidratos y agua; es por ello que los sólidos totales se encuentran en mayor cantidad en esta parte de la planta.

En referencia a esta variable, Franco (1997), establece un 65 % de agua para los Agaves mezcaleros mexicanos (no especifica las variedades), mientras que Gómez-Ayala *et al.*, (2006), relata un  $67.25 \pm 0.3$  % para el *Agave americana L.* mexicano, que crece en el estado de Tamaulipas, valor que también es cercano al presentado por Ramírez (2009), con un  $70.40 \pm 1.446$  % para el *Agave salmiana*, y Montañez *et al.*, (2010), 71.10 % para la piña y 79.41 % para la base de las hojas para el *Agave tequilana weber*; este mismo autor en otra investigación (Montañez *et al.*, 2011), muestra un resultado de  $72.50 \pm 1.25$  % y  $78.65 \pm 1.55$  % para ambas fracciones; estos valores difieren con nuestros resultados para las muestras del *Agave americana L.*, (Ver tabla 05), lo que estaría probablemente influenciado por las precipitaciones y humedad del territorio apurimeño, lo que determinaría además que el *Agave americana L.*, alcance tamaños mayores (altura y diámetro) en nuestro país, debido a estos factores climáticos (Ver tabla 05).

Por otro lado, es importante referirse también a la época de recolección de las muestras de maguey para la presente investigación (cosechadas en el mes de enero), dado que, se realizó dentro de la estación lluviosa para nuestro país (que va de octubre hasta abril), y por ende, tiene una influencia importante sobre el contenido de humedad de nuestra materia prima;



Al respecto, la experiencia mexicana mencionada por Herrera *et al.*, (2001 y Rascon (1992), citado por Canizales (1995), indica que la mayoría de los vinateros aseguran que el mejor bacanora (destilado obtenidos de Agaves específicos), es el que se elabora en los meses de abril a mayo, durante la temporada de sequía, y si es que se elaborase durante la época de lluvias, el Agave absorbe agua diluyendo los azúcares y en consecuencia disminuye su rendimiento; del mismo modo Franco (1997), recomienda para el caso del mezcal, no efectuar la jima (corte de las hojas del Agave) en época de lluvias, porque la planta retiene mayor cantidad de agua y afecta los rendimientos por encontrarse más diluidas las sustancias que más tarde al hidrolizarse produce los monosacáridos; y para el caso del aguamiel, Aserca (2000), citado por Pardo (2005), menciona que en México la obtención de este exudado se realiza en los meses de primavera y verano, cuando florece el maguey y hay buen tiempo, ya que en periodo de lluvias se reduce el contenido de azúcares, mientras en verano se concentra. Para el caso del aguamiel extraído en el Perú, Pardo (2005), señala que la cosecha se hace en época seca (abril a octubre), argumentando que es necesario evitar que penetre agua de lluvia a la cavidad porque se malograría el líquido, impidiendo producir chancaca.

Otro de los factores que influyeron en la composición química del maguey, y que a su vez, constituyó una debilidad en la presente investigación, fue el desconocimiento de la edad exacta y madurez de las muestras de maguey peruano, debido a que en nuestro país, esta planta tiene pocos usos industriales, por lo que su sembrío se realiza sólo con fines de extraer fibras, material de construcción, soporte de terrenos (cercos vivos contra la erosión), como combustible y planta de forraje o como planta ornamental (Bautista, 2006); caso contrario ocurre en México, donde normalmente el campesino lleva un calendario de



sembrío y maduración o determina el estado de madurez por la presencia de los siguientes indicios: El adelgazamiento de la penca, ligero color amarillento de la base de la planta o la característica más evidente, cuando crece la inflorescencia (brota el escape floral).

Para Michel (2007), el estado de madurez de la planta determina el grado de acumulación de carbohidratos de reserva, estando poco relacionada con el tamaño de la planta; para Vizcaíno (2012), los mayores rendimientos en la producción de fructanos a partir del *Agave tequilana Weber*, se reportan en plantas de 6 a 8 años de edad con una longitud de cadena o Grado de Polimerización (GP) promedio de 10 a 13. Este perfil por GP depende del tipo de planta, la edad de cosecha y también de los procesos de extracción de los fructanos (Castellanos *et al.*, 2012), sabiendo que el contenido de fructosa en estos polímeros varía de acuerdo a su grado de polimerización promedio-GPP (Montañez, 2010).

Para nuestro caso, la cosecha e identificación del grado de madurez de las muestras de maguey obtenidos, se realizó guiándonos por la metodología cualitativa planteada por Jurado y Sarzosa (2009).

Otro de los componentes químicos evaluados, es el contenido de carbohidratos totales, que de acuerdo a la tabla 05, tiene una presencia considerable, después de la humedad es el componente con mayor presencia en las dos fracciones de la planta; Vargas (2009), obtiene para el *Agave salmiana* un 10.81 % y 22.34 % para la base de la hoja y para la piña respectivamente, mientras que Montañez *et al.*, (2011), muestra valores similares para el *Agave tequilana weber*, con un 11.83 % y 23.02 % para ambas fracciones, así mismo los autores Ramírez (2009) y Franco (1997), obtienen un 23.42 % y 23 % de carbohidratos respectivamente para la cabeza del *Agave salmiana*, y estos resultados difieren



ampliamente del maguey peruano (*Agave americana L.*), de acuerdo a lo mostrado en la tabla 05, se obtiene un resultado bajo, 6.36 % y 11.32 % para ambas fracciones de la planta, lo que indica probablemente, que su variación está vinculada a factores propios de nuestro país. También es importante mencionar los resultados obtenidos por Gómez-Ayala *et al.*, (2006), para el *Agave americana L.* que crece en México, con relación a su contenido de sólidos totales (32.8 %), frente al maguey peruano (*Agave americana L.*) con 14.76 % y 18.69 % de sólidos totales en la base de las hojas y la piña.

Después de los carbohidratos, la fibra cruda representó el tercer constituyente mayoritario en las dos fracciones de la planta de Agave, con mayor cantidad en la base de las hojas (6.14 %) y disminuyo en la piña (5.46 %); seguidamente, los otros componentes (Cenizas, grasas y proteínas) son mayores en la base de las hojas y disminuyen en la piña del maguey.

#### **4.3 Proceso de hidrólisis térmica de la piña del maguey peruano (*Agave americana L.*)**

El comportamiento general del proceso de hidrólisis del maguey se muestra a continuación:



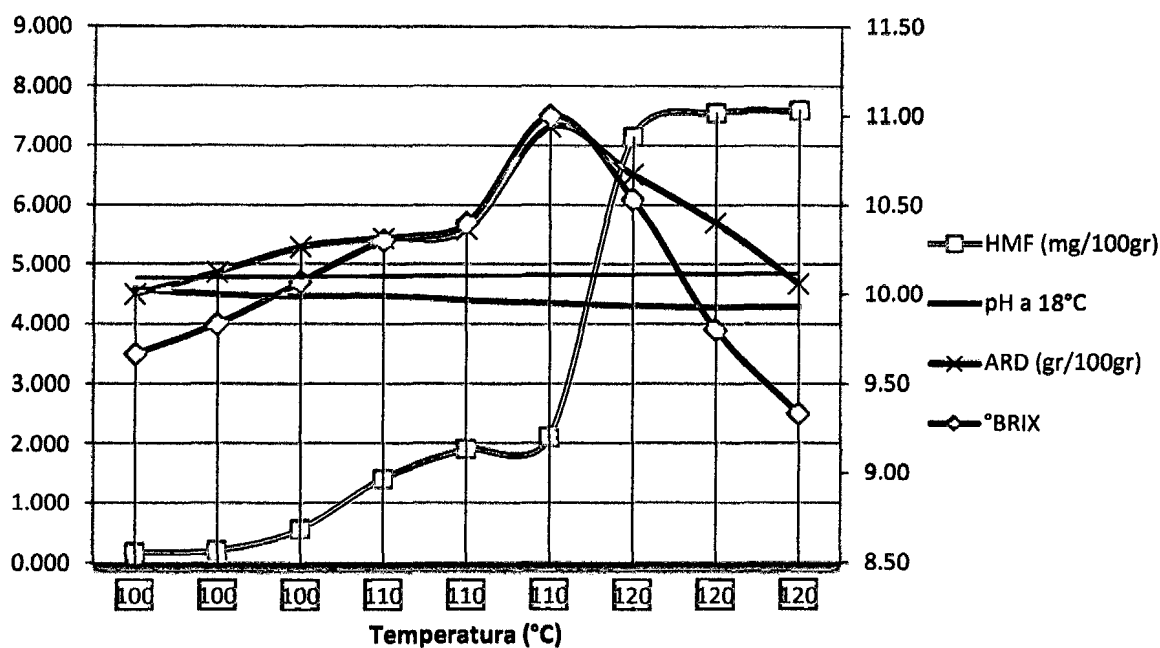


Figura 16. Síntesis del proceso de hidrólisis del maguey peruano (*Agave americana L.*)

En la Figura 16, se muestra el comportamiento de todas y cada una de las variables de respuesta durante proceso de hidrólisis en autoclave, donde se observa la influencia de los 09 tratamientos en la producción de ARD, la producción de HMF en el zumo, aumento de °Brix y disminución del pH; por lo que, para efectos de discusión, se comparará en forma individual la influencia de estos tratamientos sobre cada una de las variables de respuesta.

#### 4.3.1 Influencia del tiempo y temperatura en la producción de azúcares reductores directos (ARD)

Los resultados promedios de los 09 tratamientos se muestran a continuación:

**Tabla 06. Producción de Azúcares Reductores Directos (ARD)**

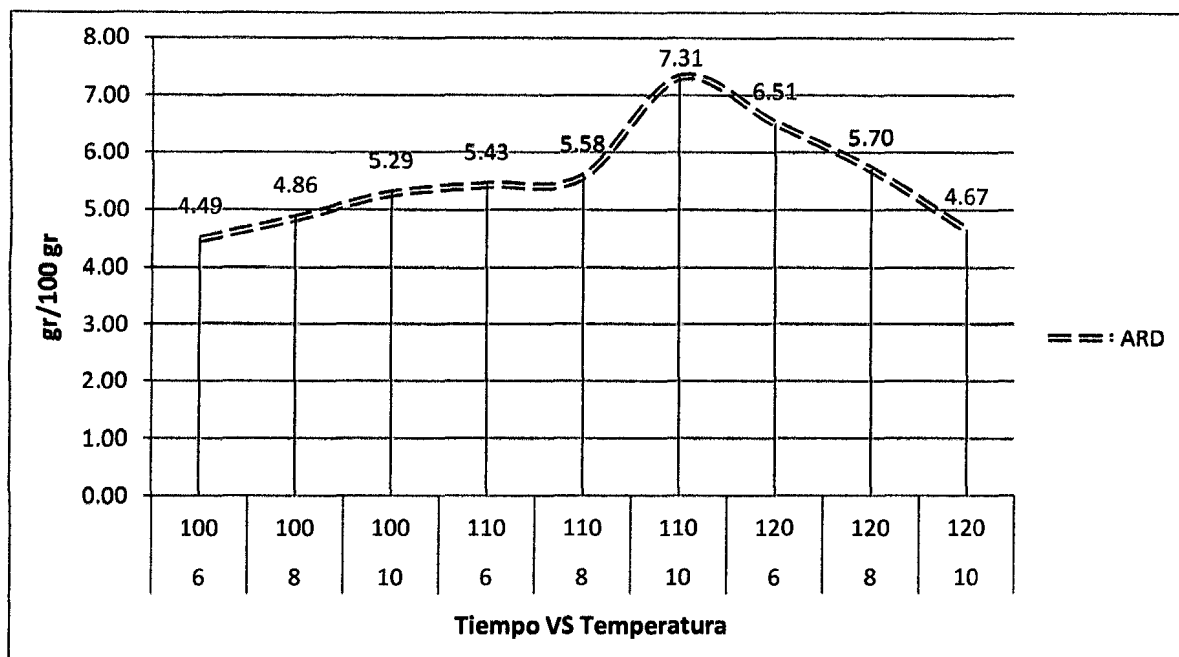
<i>Tratamiento</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Tiempo(hr)</i>	<i>ARD (g/100g)*</i>
T1	100	6	4.49 ± 0.06 d
T2		8	4.86 ± 0.02 d
T3		10	5.29 ± 0.17 c
T4	110	6	5.43 ± 0.25 c
T5		8	5.58 ± 0.17 c
T6		10	7.31 ± 0.05 a
T7	120	6	6.51 ± 0.09 b
T8		8	5.70 ± 0.10 c
T9		10	4.67 ± 0.23 d

\*Media ± Desviación estándar; n = 3, P ≤ 0.05, T = tratamiento

Estos resultados se compararon estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA), con la finalidad de determinar la influencia de los tratamientos sobre la producción de Azúcares Reductores Directos (ARD), por lo que se realizó la prueba de rangos múltiples (método de Tukey), con un nivel de significancia de 0.05%, los resultados establecen estadísticamente que los factores de hidrólisis: Tiempo, Temperatura y la interacción Tiempo \* Temperatura, tienen una influencia altamente significativa sobre las medias de ARD ( $p < 0.01$ ); las que se observan en la tabla 07.

**Tabla 07. Pruebas de los efectos inter-sujetos para ARD.**

Fuente	Sig.
Modelo corregido	,000
Intersección	,000
Tiempo	,000
Temperatura	,000
Tiempo * Temperatura	,000
Error	
Total	
Total corregida	



**Figura 17.** Producción de azúcares reductores directos durante el proceso de hidrólisis térmica de las piñas del maguey peruano (*Agave americana L.*)

De la **Figura 17**, se puede decir que la hidrólisis de la inulina del maguey peruano (*Agave americana L.*), ha ido aumentando gradualmente a medida que los factores del proceso aumentaban (tiempo y temperatura), alcanzando una conversión máxima promedio en ARD de  $7.31 \pm 0.05$  g/100g de mosto (evaluados por el método de Fheling AOAC 958.32), a una temperatura de 110°C en 10 horas de autoclavado (Tratamiento 6), sin embargo, a partir de este tratamiento hasta el 9 (120°C por 6, 8 y 10 horas respectivamente), la conversión de Inulina a ARD, ha sido negativa, ya que ha disminuido, debido al aumento de la temperatura y el tiempo de exposición al calor. Esta disminución de ARD en el zumo, se debe a que los azúcares han iniciado un proceso de carbonización (adquisición de color negro en el zumo) y posterior desintegración total del azúcar, transformando el sabor dulce

inicial en amargo, por lo que se les denominan "mieles amargas"(Cabrera, 2003). La **Figura 27**, muestra claramente este cambio en el color del zumo (Ver Capítulo III: Materiales y Métodos).

Los mismos parámetros fueron evaluados por Canizales (1995), durante la producción de Bacanora, estableciendo que un tiempo de 6 horas es el más adecuado, a un presión constante de  $1.02 \text{ kg/cm}^2$  (15 psi), equivalente a  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  de temperatura aproximadamente, obteniendo un promedio de 19 % de ART; por otro lado García S. (2003), realizó un estudio sobre el cocimiento de *Agave Salmiana* para elaboración de mezcal, utilizando un autoclave, y establece como rango de operación las temperatura de  $106 - 116 \text{ }^\circ\text{C}$  y tiempos que van desde 8-16 hrs, para hidrolizar hasta un 85 % de fructanos, y obtener mostos con  $110 \pm 10 \text{ g/L}$ ; este mismo autor García S.*et al.*, (2004), obtiene extractos con un contenido de 18 % de azúcares en 6 horas de cocción a  $125^\circ\text{C}$ , también para el *Agave var. Salmiana*, durante la obtención de Mezcal. En tanto que Franco (1997), señala que un tiempo de 6 hrs y una temperatura de  $120^\circ\text{C}$ , resulta el más óptimo durante la elaboración de Mezcal, obteniéndose 19.5 % de azúcares reductores; valores cercanos a los reportado por Rongel (2004), durante la elaboración del destilado Bacanora, estableciendo un tiempo de 7 horas a  $121^\circ\text{C}$  manifestando que, a estas condiciones se asegura un menor consumo de energía y además una hidrólisis menos brusca. Esta diferencia de tiempo de cocimiento, con respecto a nuestro resultado, estaría relacionada al peso y volumen de materia prima introducida en el autoclave, debido a que, el tiempo de cocimiento es proporcional al volumen de materia prima procesada, según lo afirma Canizales (1995), mientras que la temperatura de cocción, estaría relacionado directamente con el contenido de sólidos totales de los magueyes mexicanos, dado que tienen un promedio de hasta 35 % en la piña del *Agave* (Franco,

1997), lo que asegura una mayor temperatura de cocción para ablandar su estructura, mientras que para el maguey peruano, que alcanza un promedio de 18 % de sólidos totales en la piña, con mayor presencia de agua (ver tabla 05 ), es necesario una menor temperatura de cocción. La alta actividad de agua en el maguey, hace que la textura sea mucho más jugosa y tierna y por consiguiente más susceptible a las altas temperaturas (Gimferrer, 2012).

#### 4.3.2 Influencia del tiempo y temperatura en la producción de hidroximetilfurfural (HMF)

Los resultados promedios de los 09 tratamientos se muestran a continuación:

Tabla 08. Producción de HMF en el zumo hidrolizado

<i>Tratamiento</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Tiempo (hr)</i>	<i>Prom. HMF(mg/kg) *</i>
T1	100	6	1.70 ± 0.09 c
T2		8	2.04 ± 0.09 c
T3		10	5.54 ± 0.91 c
T4	110	6	14.06 ± 0.15 b
T5		8	19.05 ± 0.38 b
T6		10	21.05 ± 0.45 b
T7	120	6	71.49 ± 5.41 a
T8		8	75.52 ± 4.69 a
T9		10	75.92 ± 3.79 a

\*Media ± Desviación estándar; n = 3, P ≤ 0.05, T = tratamiento

La comparación de los resultados obtenidos por análisis de varianza ANOVA, demuestran estadísticamente que, los factores de hidrólisis (Temperatura y Tiempo), tienen una influencia altamente significativa ( $p < 0.01$ ) sobre la producción de HMF en el zumo.



Así mismo, la interacción Tiempo\*Temperatura no tiene una influencia significativa ( $p>0.05$ ) sobre las medias de HMF; las que se observan en la tabla 09.

Tabla 09. Pruebas de los efectos inter-sujetos para HMF

Origen	Sig.
Modelo corregido	,000
Intersección	,000
Tiempo	,003
Temperatura	,000
Tiempo * Temperatura	,568
Error	
Total	
Total corregida	

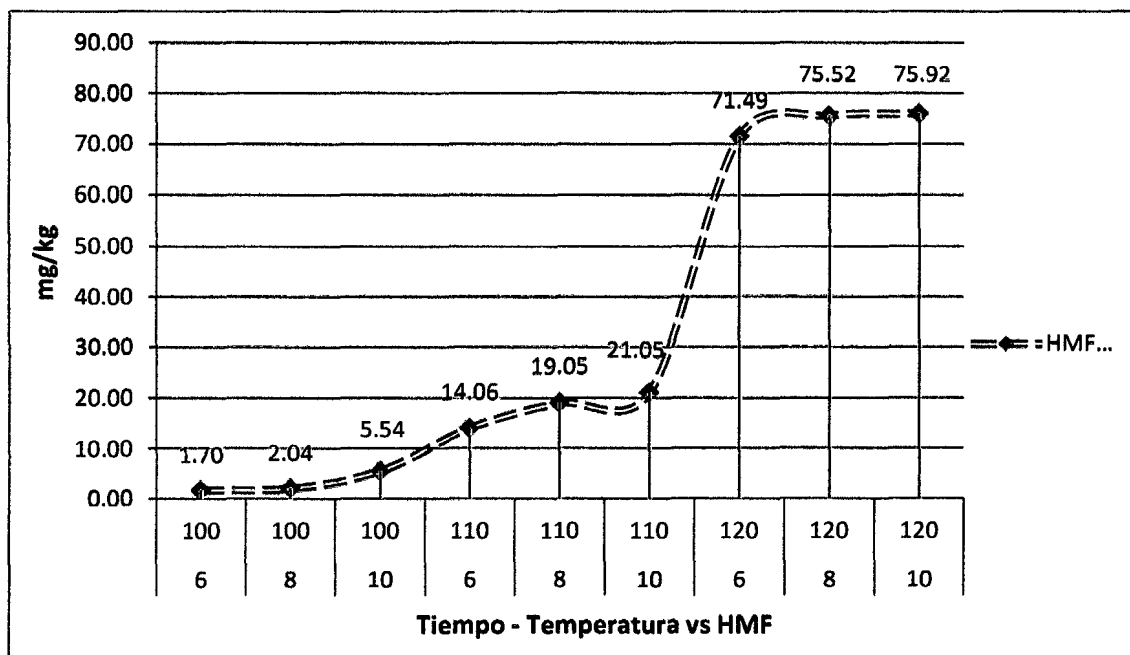


Figura 18. Variación del HMF en el mosto durante la hidrólisis térmica de las piñas del maguey peruano (*Agave americana L.*)

En la Figura 18, se muestra la variación de la producción de HMF (Hidroximetilfurfural) en los 09 tratamientos durante el proceso de hidrólisis. Donde podemos observar que existe

un aumento gradual y proporcionado hasta el tratamiento 6 (110 °C por 10 horas), sin embargo, a partir del tratamiento 7 (120 °C por 6, 8 y 10 horas), la producción de HMF aumenta hasta alcanzar un nivel alto, producto de la aplicación de altas temperaturas y tiempos prolongados de residencia en autoclave.

Las especificaciones fisicoquímicas de jarabes mexicanos al 100 % obtenidos del *Agave Salmiana.spp*, establecen una concentración máxima de 10 mg/kg de HMF, mientras que para el *Agave Tequilana Weber variedad azul*, establece un máximo de 40 mg/kg de HMF, obtenidos ambos por hidrólisis térmica, de acuerdo a la Norma Mexicana (NMX-FF-110-SCFI-2008). De esta manera, haciendo una comparación con nuestros resultados, son los tres primeros tratamientos, lo que se encuentran dentro del límite máximo establecido para el jarabe obtenido a partir del *Agave Salmiana.spp*, de manera semejante los tratamientos 4, 5 y 6, se encuentran dentro del límite máximo para el jarabe obtenido a partir del *Agave Tequilana*, mientras que, los tratamientos 7, 8 y 9, exceden considerablemente dichos límites.

Con respecto a estas comparaciones, es importante señalar que, estos jarabes mexicanos son obtenidos por concentración del zumo (evaporación del agua), es más, la norma citada establece para ambos jarabes, un mínimo de 74 °Brix y una humedad de 24-26 %, mientras que nuestros tratamientos alcanzan en promedio 10 °Brix, por lo que, realizar una comparación con estos resultados resulta inviable, ya que, a diferencia de nuestros zumos, estos jarabes mexicanos pasan por un segundo tratamiento térmico con la finalidad de eliminar el agua.

De igual manera, la norma de CODEX para la miel de abeja (CODEX STAN 12-1981), establece que “el contenido de hidroximetilfurfural de la miel después de su elaboración y/o

mezcla no debe ser superior a 40 mg/kg. Sin embargo, en el caso de la miel de origen declarado procedente de países o regiones de temperatura ambiente tropical, así como de las mezclas de estas mieles, el contenido de HMF no deberá exceder de 80 mg/kg”, lo que indica que la cantidad de hidroximetilfurfural (HMF) aumenta según aumenta la temperatura y el tiempo a la que esté la miel expuesta a calentamiento o almacenamiento prolongado, criterio que, se aplica también a nuestro caso (ver **Figura 18**), debido a que, la composición del maguey está conformada mayoritariamente por inulina y derivados (polímeros de fructuosa), y la miel de abeja por fructuosa y glucosa (como monosacárido). Así mismo, es importante señalar que, durante la cocción en autoclave de los trozos de la cabeza del maguey (hidrólisis térmica), los zumos obtenidos, han ido adquiriendo tonalidades que van desde el amarillo claro hasta el café muy oscuro (ver **Figura 27**). La formación del color en el zumo, se toma como resultado positivo e indica la presencia cualitativa de los azúcares reductores, mientras que la no formación de color es indicativo de su ausencia (Abril *et al.*, 2006). Por otro lado Canizales (1995), explica este fenómeno, indicando que el color ligeramente diferente que se puede apreciar en los jugos de las cabezas cocidas, se debe a que los azúcares se caramelizan por una larga exposición al calor y le confieren una coloración café oscuro a los jugos, mencionando también, que las levaduras no pueden fermentar los azúcares caramelizados ocasionando pérdidas de materia prima; coincidiendo con Cabrera *et al.*, (2003), que menciona que los azúcares reductores, fácilmente se degradan formando compuestos no fermentables, lo que redundaría en detrimento de los rendimientos globales y García S *et al.*, (1995), indicando que, los subproductos de degradación (furanos) generados durante la cocción de los magueyes, tienen un gran potencial de inhibir parcial o totalmente el metabolismo de las levaduras



durante la fermentación; limitando su productividad de etanol y, en consecuencia, el rendimiento global del proceso, mientras que Escalante *et al.*, (2012) refiere que, el sobrecalentamiento de los azúcares incrementa la concentración de furfural dando un sabor a ahumado y el exceso de caramelización reduce el rendimiento de etanol.

Finalmente, es importante señalar que, en esta etapa se debe controlar las variables del proceso, ya que temperaturas y tiempos bajos, conllevan a la no degradación de la inulina, por lo que, no se producirían los azúcares suficientes para una posterior fermentación, en caso contrario, si hay un exceso, se presenta la reacción de Maillard o caramelización, lo que representa una pérdida de azúcares reductores, perjudicando el rendimiento del proceso e induciendo a la formación de compuestos de degradación como el HMF, que en cantidades considerables, disminuye o inhibe el crecimiento de las levaduras durante la fermentación y por ende, influyen en la producción de etanol.

#### **4.3.3 Influencia del tiempo y temperatura en la variación de °Brix**

Los resultados promedios de los 09 tratamientos se muestran a continuación:

**Tabla 10. Variación de °Brix en el zumo hidrolizado**



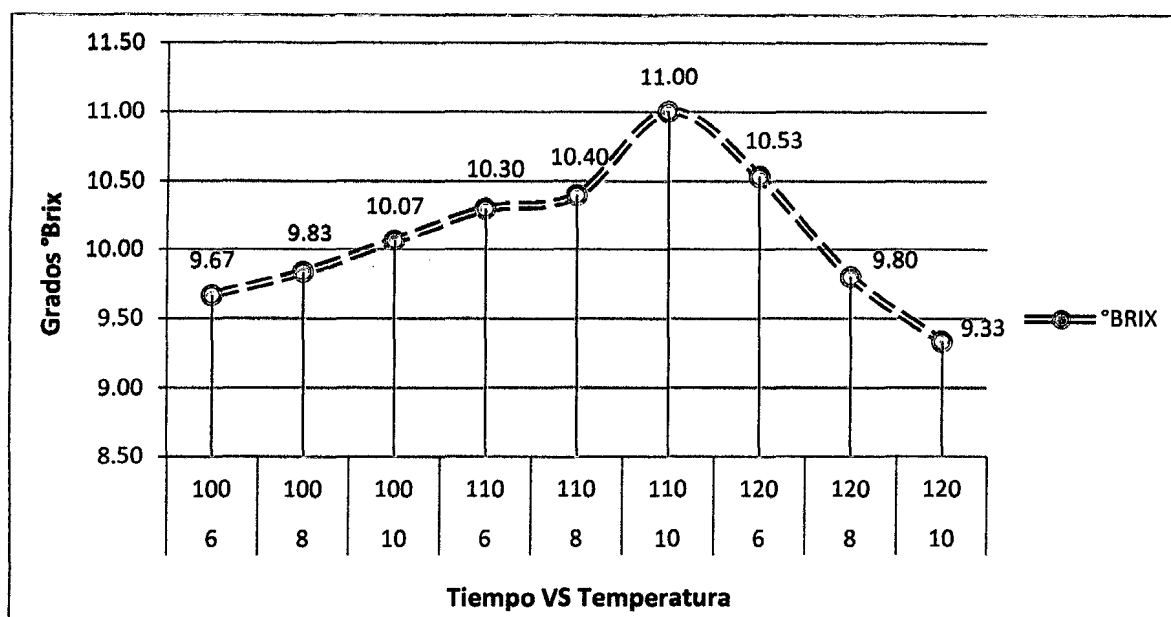
<i>Tratamiento</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Tiempo (hr)</i>	<i>Prom. °Brix*</i>
T1	100	6	9.67 ± 0.29 de
T2		8	9.83 ± 0.29 cde
T3		10	10.07 ± 0.06 bcd
T4	110	6	10.30 ± 0.20 bcd
T5		8	10.40 ± 0.17 abc
T6		10	11.00 ± 0.10 a
T7	120	6	10.53 ± 0.35 ab
T8		8	9.80 ± 0.26 cde
T9		10	9.33 ± 0.29 e

\*Media ± Desviación estándar; n = 3, P ≤ 0.05, T = tratamiento

La comparación de los resultados obtenidos por análisis de varianza ANOVA, demuestran estadísticamente que, los factores de hidrólisis (Temperatura y Tiempo), tienen una influencia altamente significativa ( $p < 0.01$ ) sobre los sólidos solubles (°Brix) en el zumo. Así mismo, la Temperatura y la interacción Tiempo\*Temperatura tienen una influencia altamente significativa ( $p < 0.01$ ) sobre las medias de °Brix, sin embargo, el factor Tiempo no tiene influencia significativa ( $p > 0.05$ ) sobre las medias de los °Brix; las que se observan en la tabla 11.

Tabla 11. Pruebas de los efectos inter-sujetos para °Brix

Origen	Sig.
Modelo corregido	,000
Intersección	,000
Tiempo	,377
Temperatura	,000
Tiempo * Temperatura	,000
Error	
Total	
Total corregida	



**Figura 19.** Variación de °Brix en el mosto durante la hidrólisis térmica de las piñas del maguey peruano (*Agave americana L.*)

Como se puede observar en la **Figura 19**, ha habido un aumento de los °Brix a medida que el tiempo y la temperatura de proceso aumentan, hasta alcanzar su pico máximo de 11.00 °Brix (tratamiento 6), sin embargo, a partir del tratamiento 7, la cantidad de grados °Brix va disminuyendo conforme el periodo y temperatura de cocción aumenta, esta disminución de los °Brix y ARD, está relacionada directamente con el fenómeno de la caramelización producto del calor del sistema, obteniéndose subproductos denominados mieles de cocimiento (Franco, 1997).

Existe similitud con la **Figura 17**, con respecto a la producción de azúcares reductores durante el proceso de hidrólisis térmica, la cual se fundamenta en que los °Brix son una medida aproximada de los azúcares, mientras que el análisis de ARD (realizado por el

método de Fheling), directamente identifica los azúcares reductores que se producen en el mosto. ABRIL *et al.*, (2006), define a los grados °Brix como el contenido de azúcar de una solución acuosa. Un °Brix es 1 gramo de sacarosa en 100 gramos de solución y representa la fuerza de la solución como porcentaje en peso. Si la solución contiene sólidos disueltos distintos de sacarosa pura (como en nuestro caso), a continuación, el °Brix sólo se aproxima al contenido de sólidos disueltos.

Durante el proceso de hidrólisis, es importante señalar que se ha realizado la medición de los grados °Brix de los diferentes tratamientos y de diferentes partes del *agave* hidrolizado (centro de la piña y base de las hojas), obteniéndose también resultados diferentes, que van desde 6 hasta 15 °Brix (en el centro del maguey), lo que supone que el grado de madurez de los tres Agaves no era igual, influyendo en el resultado final de los °Brix. De igual manera, se ha realizado la medición de los grados °Brix del agua utilizada en el autoclavado de todos los tratamientos (al que los Mexicanos denominan “mieles amargas”), dando resultados de 2 hasta 2.6 °Brix, esto ocurre por la solubilización de los azúcares del maguey por el proceso de hidrólisis, ya que, parte de los azúcares son arrastrados por el vapor (Arrizon G. y Gschaedler, 2001).

#### **4.3.4 Influencia del tiempo y temperatura en la variación del pH**

Los resultados para esta variable respuesta se muestran a continuación:

Tabla 12. Variación del pH en el zumo hidrolizado

<i>Tratamiento</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Tiempo (hr)</i>	<i>Prom. pH*</i>
T1	100	6	4.58 ± 0.10a
T2		8	4.50 ± 0.08ab
T3		10	4.47 ± 0.04abc
T4	110	6	4.48 ± 0.03abc
T5		8	4.40 ± 0.02bcd
T6		10	4.35 ± 0.03cd
T7	120	6	4.31 ± 0.01d
T8		8	4.28 ± 0.04d
T9		10	4.29 ± 0.04d

\*Media ± Desviación estándar; n = 3, P ≤ 0.05, T = tratamiento

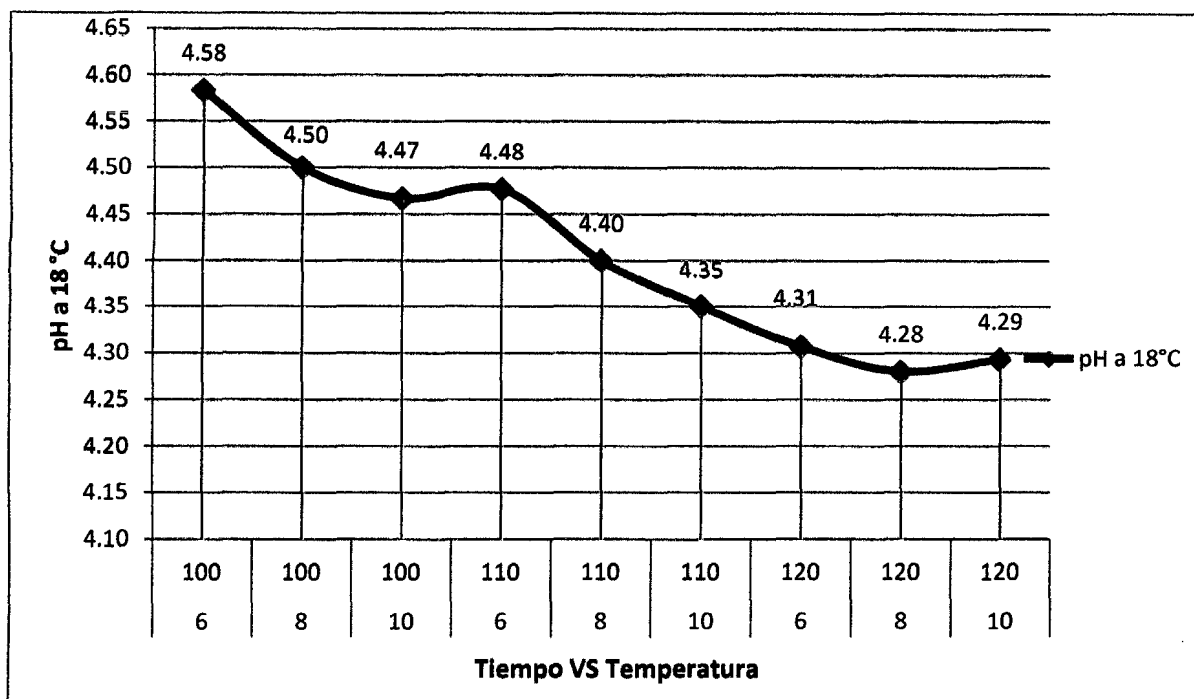
La comparación de los resultados obtenidos por análisis de varianza ANOVA, demuestran estadísticamente que, los factores de hidrólisis (Temperatura y Tiempo), tienen una influencia altamente significativa ( $p < 0.01$ ) sobre la variación del pH en el zumo.

Así mismo, la interacción Tiempo\*Temperatura no tiene una influencia significativa ( $p > 0.05$ ) sobre las medias del pH; las que se observan en la tabla 13.

Tabla 13. Pruebas de los efectos inter-sujetos para el pH

Origen	Sig.
Modelo corregido	,000
Intersección	,000
Tiempo	,006
Temperatura	,000
Tiempo * Temperatura	,357
Error	
Total	
Total corregida	





**Figura 20.** Variación del pH en el mosto durante la hidrólisis térmica de las piñas del maguey peruano (*Agave americana L.*)

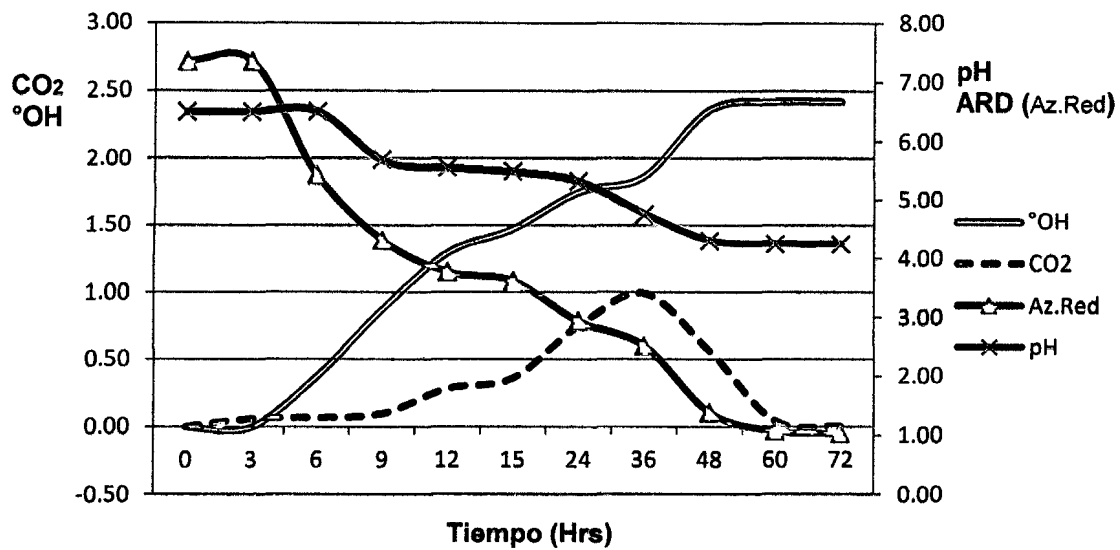
Como se puede observar en la Figura 20, ha habido una disminución del pH en los 09 tratamientos a medida que el tiempo y la temperatura de proceso aumentaban, esta tendencia registrada en la disminución del pH de nuestro proceso, concuerda con lo obtenido por los autores Mancilla-Margalli y López (2002) y Waleckx *et al.*, (2007), en el proceso de cocción de *Agave tequilana*. De acuerdo con Mancilla-Margalli y López (2002), la disminución de pH puede deberse a la formación de ácidos orgánicos, o a la incapacidad de los grupos amino para actuar como bases en el proceso de hidrólisis, cuando los compuestos amino si han reaccionado. Cedeño y Álvarez - Jacobs (1999), mencionan que uno de los resultados favorables de la cocción es la reducción del pH a 4.5 ya que junto con la temperatura ello influyen positivamente en la hidrólisis de los fructanos, sin

embargo, para el caso de los últimos 03 tratamientos (120°C por 6,8 y 10 horas), la rápida caramelización del mosto se puede deber al pH ácido del mosto, lo que incluso comienza a menores temperaturas (Wade, 2006.)

Por lo tanto es posible que el valor mínimo de pH observado en esta investigación (4.28), se deba al propio proceso de la cocción, con cambios considerables en la coloración del mosto.

#### **4.4 Proceso de fermentación del mosto hidrolizado de la piña del maguey peruano (*Agave americana L.*)**

Durante la fermentación alcohólica del tratamiento con el mejor rendimiento en azúcares reductores, se midió el consumo de los azúcares reductores, la variación del pH y los °Brix, la producción de CO<sub>2</sub> y el porcentaje de alcohol producido por la levadura aislada *Sacharomyces albicans* B. El comportamiento general del proceso de fermentación del mosto hidrolizado se muestra a continuación:



**Figura 21.** Síntesis del proceso de fermentación del mosto hidrolizado (*Agave americana L.*)

La **Figura 21**, resume la cinética de fermentación alcohólica llevado a cabo por la levadura *Sacharomyces albicans B*, en el mosto hidrolizado obtenido a partir del maguey peruano (*Agave americana L.*), utilizando el tratamiento con el mayor contenido de azúcares reductores y °Brix ( $7.31 \pm 0.05$  g/100g y  $11.00 \pm 0.10$  °Brix respectivamente).

El proceso de fermentación realizado en el mosto hidrolizado, se efectuó con finalidad de demostrar la viabilidad de la piña, obteniéndose primeramente azúcares reductores directos (ARD) y luego en la obtención de etanol. La prueba de fermentación realizada al tratamiento VI (110°C por 10 horas), muestra una cinética típica de fermentación al igual que el *Agave Tequilana* Weber realizados por Montañez *et al.*, (2011) y González *et al.*, (2002), en relación al consumo de los azúcares fermentables y la consiguiente producción de alcohol y CO<sub>2</sub>, observándose una ligera disminución del pH.

#### 4.4.1 Descripción del proceso de fermentación.

##### 4.4.1.1 Comportamiento de los azúcares reductores y °Brix durante la fermentación.

El consumo de los azúcares fermentecibles (azúcares reductores), de acuerdo a la **Figura 22**, se inició a las 3 horas y culminó dentro de las 72 horas del proceso de fermentación, con la consiguiente disminución de la producción de CO<sub>2</sub>, y aumento de la formación de etanol. La producción de CO<sub>2</sub> se controló midiendo la pérdida de peso del medio de fermentación; mediante esta técnica puede obtenerse la tasa de producción de CO<sub>2</sub> y así saber en qué momento la fermentación ha concluido. Para nuestro caso este proceso concluyó a las 72 horas.

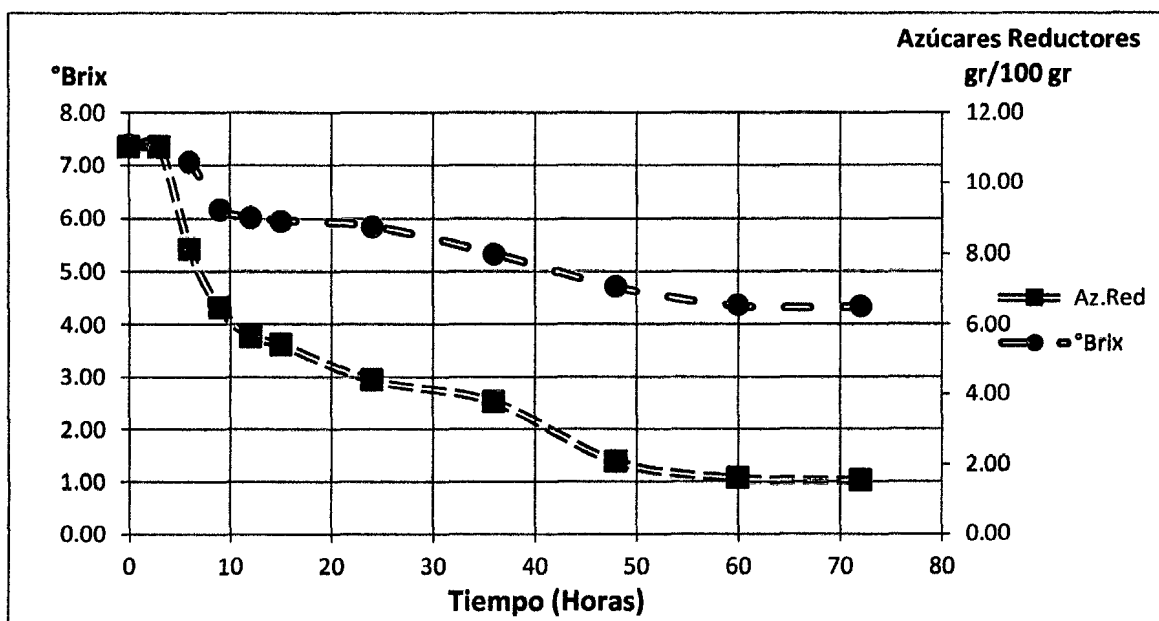


Figura 22. Relación de los ARD con °Brix durante la fermentación.

Con respecto a la variación de los grados °Brix y los azúcares reductores, en la **Figura 22**, se observa que la concentración de azúcares y los sólidos solubles (°Brix) del mosto, inician con una concentración inicial de 7.31 g/100g de ARD y 11.0 °Brix respectivamente, descendiendo considerablemente a partir de las 03 horas de iniciado el proceso de fermentación, esta caída comienza a medida que las levaduras consumen los azúcares reductores, este consumo es directamente proporcional a la disminución de los sólidos solubles (°Brix), que alcanza un nivel de 6.5, mientras que los azúcares alcanzan una concentración final de 1.02g/100g en el fermentado a las 72 horas. En horas posteriores no se observa variación en los °Brix y los ARD.

#### **4.4.1.2 Comportamiento del pH durante la fermentación.**

Con respecto a la disminución del pH durante el proceso fermentativo, la **Figura 23**, muestra variación a partir de las 06 horas de iniciada la fermentación, llegando a las 60 horas a alcanzar niveles considerables de 4.25. Este descenso del pH se da por la presencia de compuestos ácidos producidos por las levadura *Sacharomyces albicans* B, principalmente ácido acético y ácido pirúvico, tal como lo reporta Ramírez (2006) y Abad (2006), citados por Serrano (2010).



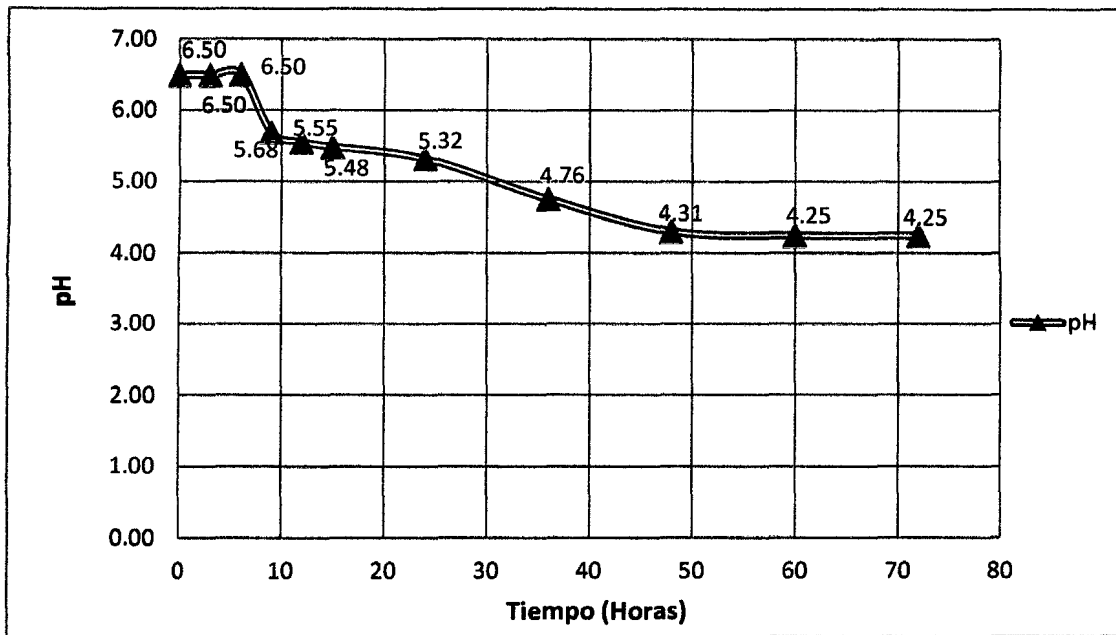
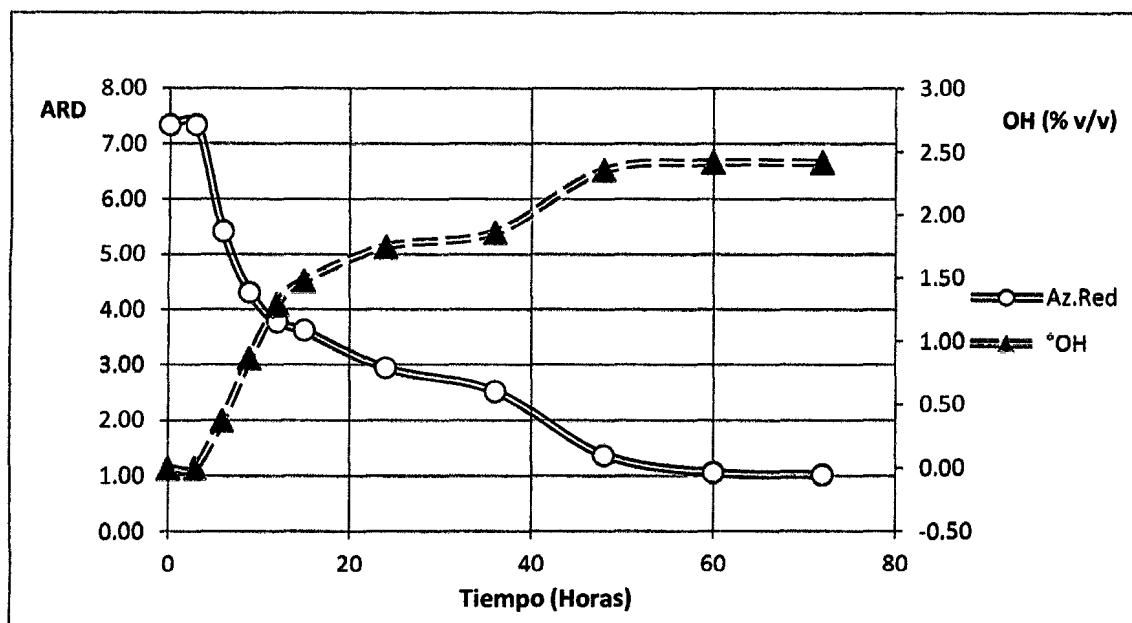


Figura 23. Comportamiento del pH durante la fermentación

#### 4.4.1.3 Producción de alcohol durante la fermentación.

En la **Figura 24**, se observa el comportamiento de la levadura *Sacharomyces albicans* tipo B, durante la fermentación del mosto del *Agave americana* L, obtenido por hidrólisis térmica en el tratamiento con el mayor rendimiento de ARD (110°C por 10 hrs), y bajo las siguientes condiciones: pH de 6.5, temperaturas de trabajo de 25-30°C, y nivel de tolerancia al alcohol de 7%. La fermentación del mosto inicio con un contenido de azúcares reductores de 7.31 g/100g y con un contenido de sólidos solubles (°Brix) de 11.1.





**Figura 24.** Consumo de azúcares vs producción de etanol por *Sacharomyces albicans* B, en el tratamiento 6 de la hidrólisis (110°C x 10 horas).

De acuerdo a lo reportado por Vera *et al.*, (2009), en la fermentación de los mostos del *Agave angustifolia* y *Agave potatorum*, los cuales inician con una composición en ARD de  $70.3 \pm 0.88$  y  $50.9 \pm 0.83$  g/L respectivamente, y obtienen un rendimiento máximo de 8.1 % v/v (64.8 g/L de etanol) a las 168 horas en *A. angustifolia* y de 5.5 % v/v (44 g/L de etanol) a las 72 horas en *A. potatorum*, enriqueciéndose el mosto con Nitrógeno; Así mismo Arratia (2009), obtiene rendimientos de 90 y 2.8 g/L de etanol en dos especies diferentes de levaduras, aclarando que la diferencia en rendimiento de etanol, está determinada por la capacidad fermentativa de cada levadura (las dos iniciaron la fermentación en mostos con 100g/L de ARD y 1 g/L de sulfato de amonio  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ ) y por la presencia de nutrientes.

Contrario a estos autores, Rongel (2004), realizó la fermentación del mosto del *Agave angustifolia* en la obtención del Bacanora, utilizando levaduras aisladas de las vinatas (fabricas) y no incluyéndose nutrientes, iniciando con una composición inicial de: 10 °Brix, pH de 4.11 y 6.4% de ARD, que después de 72 horas de fermentación alcanzo concentraciones de: 2.3 °Brix, 0.3 % de ARD y 4.11 % v/v.

La diferencia con nuestro resultado (2.42 % v/v), probablemente puede deberse a que el mosto no fue enriquecido con nutrientes que favorezcan el crecimiento de las levaduras y por ende el rendimiento de etanol fue muy bajo; o de acuerdo a lo manifestado por Canizales (1995) y López-Álvarez *et al.*, (2012), quienes indican que la presencia de HMF (Hidroximetilfurfural) y saponinas en el mosto, son influyentes en el consumo de ARD y por ende determinantes en la producción de etanol. Canizales (1995), afirma que en la industria del tequila se previene la presencia del HMF, extrayendo estos componentes durante la cocción del *Agave tequilana* en autoclaves especiales.

Por otro lado, la producción de alcohol se determina también multiplicando el factor estequiométrico de la reacción es de 0.55 por el porcentaje de solidos solubles (°Brix); mediante dicha operación y tomando el promedio de los grados brix con el que inicio la fermentación, debió obtenerse un rendimiento de 6.105 % de alcohol en volumen; comparando con nuestro resultado (2.42% v/v), se puede decir que se obtuvo un 39.6% de eficiencia en la fermentación.



## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos y condiciones en los que se llevó a cabo esta investigación, se concluye lo siguiente:

El *Agave americana* L., que crece en el Perú, presenta características físicas similares a algunas especies de agaves mexicanos, la característica más importante está vinculada al tamaño y peso de la piña, ya que supera ampliamente al del *Agave tequilana* Weber. *var azul*.

El análisis químico de las dos fracciones del *Agave americana* L., peruano, presenta rendimientos bajos, con respecto a los agaves mexicanos, probablemente influenciados por factores propios de nuestro país.

Los análisis individuales mostraron que la mayor concentración de ARD, se obtiene en el tratamiento VI (110°C por 10 horas), obteniéndose cuantitativamente una concentración final de 7.31g de ARD/100g en el mosto hidrolizado, con un ligero cambio de color en cada una de las muestras (característica cualitativa de presencia de azúcares). Este tratamiento se seleccionó para realizar la fermentación alcohólica.

La variación del contenido del Hidroximetilfurfural-HMF durante el proceso de hidrólisis estuvo probablemente influenciado por las variables del proceso: tiempo y temperatura.



El bajo rendimiento de etanol en el mosto fermentado del *Agave americana* L., probablemente ha estado influenciado por el bajo contenido de ARD del mosto, la presencia de HMF, saponinas y por la falta de nutrientes para el crecimiento de las levaduras.

La utilización de la piña del *Agave americana* L., como materia prima fuente de azúcares fermentables en la producción de una bebida destilada, es una alternativa viable para la agroindustria apurimeña.

## 5.2 Recomendaciones

Realizar estudios en diferentes épocas de cosecha (periodos de sequía y lluvia), con la finalidad de determinar la influencia de las características químicas (°Brix, pH, ARD, etc.) del zumo del *Agave americana* L.

Realizar la optimización del proceso, en función al tratamiento que obtuvo la mayor concentración de azúcares reductores, durante la hidrólisis de la piña del *Agave americana* L.

Realizar la caracterización del destilado del *Agave americana* L. (ésteres, aldehídos, furfural, metanol, alcoholes superiores), y compararlos con los destilados de *Agave* mexicanos (Tequila, sotol, cocuy, mezcal, etc.)

## VI. BIBLIOGRAFÍA

1. **ABAD, E.** (2006). Selección de levaduras autóctonas para la elaboración de vinos tintos en bodegas y viñedos de Trujillo S.L. Departamento de Tecnología de los Alimentos. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, 115p.
2. **ABRIL D. Nieves; JORRÍN N. Jesús V y BÁRCENA R. José A.** (2006). Reacciones coloreadas para la determinación cualitativa de azúcares. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Edificio C-6 (Severo Ochoa), Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba, España.
3. **ALTAMIRANO G. Edison.** (2013). Extracción de fibra a partir de las hojas del *Agave americana L.* por diferentes métodos para la obtención de azúcares reductores. (Tesis) para optar el título profesional de ingeniero agroindustrial. Facultad de Ingeniería, Escuela académico profesional de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac. Abancay, Apurímac, Perú.
4. **ALIMENTACIÓN Y SALUD (Revista).** Lima, Perú. Edición N° 03, Año 1, N° 03, pp. 30-32. Setiembre 2004.
5. **AOAC,** Official Methods of Analysis. Ed. XVIII. 2005, Association of Official Analytical Chemistry, Arlington, Washington D.C.
6. **ARCOS G. Rafael; FRIAS S. Arturo C y GARCIA V. Gustavo.** (1998). Diseño de una planta productora de mezcal, Universidad autónoma metropolitana Unidad Iztapalpa. Tesis mancomunada para obtener el título de ingeniero químico. UNAM.
7. **ARRATIA M. José M.** (2009). Diversidad genética de levaduras involucradas en la fermentación del Mezcal tamaulipeño. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias en biotecnología genómica. Instituto Politécnico Nacional. Reynosa, Tamaulipas, México.



8. **ARRAZOLA, D.F. de M.** (1969). Estudio del contenido de Azúcares en la piña del Agave tequilana. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Puebla, México pp.4 y 5.
9. **ARRIZON G. Javier, GSCHAEDLER M. Anne.** (2001) Mejoramiento de la eficiencia de la fermentación alcohólica del jugo de *Agave tequilana* weber var. azul a alta concentración de azúcar por medio de la activación del transporte de los azúcares. Centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de Jalisco (CIATEJ). Guadalajara, México.
10. **ARRIZON Javier y Díaz M., Dulce María, et al.** (2004). Descripción matemática de la etapa fermentativa del proceso del Tequila. Centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de Jalisco (CIATEJ). Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería de la Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México.
11. **ÁVILA N. Ramona; RIVAS P. Bernarda; HERNÁNDEZ M. Rómulo; CHIRINOS, Marluy.** (2012) .Contenido de azúcares totales, reductores y no reductores en *Agave cocui* Trelease. Centro de Investigaciones en Ciencias Básicas, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Núcleo Académico Los Perozos. Santa Ana de Coro, Falcón, Venezuela. Disponible en:  
<http://www.redalyc.org/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=90424216002>. [Consultado: 12/05/2012].
12. **AVILA R. José A.** (2010). Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del mezcal de Durango para el desarrollo de un índice de calidad. (Tesis) para optar el grado de doctor en ciencias en bioprocesos. Instituto Politécnico Nacional, Durango- México.
13. **BADUI Dergal, Salvador.** (2006). Química de los alimentos. Cuarta edición. PEARSON EDUCACIÓN, México, ISBN: 970-26-0670- pp. 29- 107.



14. **BAUTISTA** Cruz, Nelson. “Estudio Químico- Bromatológico y elaboración de néctar de aguamiel de *Agave americana* L. (Maguey) procedente de Ayacucho”. (2006). (Tesis) para optar el título profesional de Ingeniero Químico Farmacéutico). Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica. 89 h.
15. **BAUTISTA**, M.; **GARCÍA**, L.; **BARBOZA**, J.; **PARRA**, L. (2001). El Agave tequilana Weber y la producción de tequila. Universidad de Guanajuato - México Acta Universitaria. 11(002): 26-34.
16. **CABRERA** A. Ricardo; **OSE** S. Bibiana N, **ROMERO** G. Néstor A; **GALVAN** M. Dora E; **MORA** T. Manuel, **SALAZAR** O. Víctor H. (2003.) Estudio de mercado para la instalación de una planta productora de un extracto crudo de enzimas hidrolíticas por fermentación en sustrato sólido (Agave azul). Universidad Autónoma Metropolitana, Zapopan, Jalisco.
17. **CANIZALES** Curiel, Gustavo. (1995). Estudio para la selección de la tecnología de producción de Bacanora. Hermosillo, Sonora, México. Universidad de Sonora, Tesis Digital N° 7313, Disponible en internet.URL: [http://www.bibliotecadigital.uson.mx/bdg\\_tesisIndice.aspx?tesis=7313](http://www.bibliotecadigital.uson.mx/bdg_tesisIndice.aspx?tesis=7313). [Consultado: 15/09/2013].
18. **CARRILLO** Trueba, Lauro Antonio. (2007). Los destilados de Agave en México y su denominación de origen. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México. Ciencias, Julio-septiembre, número 087, pp. 40-49.
19. **CASTELLANOS-PÉREZ**, N. (2012). Optimización de los procesos de extracción y fraccionamiento por grado de polimerización de fructanos, obtenidos a partir de Agave tequilana Weber var. azul, para la obtención de prebióticos. Jalisco-México Disponible en internet. URL:



[http://www2.udec.cl/~gvalencia/pdf/GB2012\\_69\\_ne\\_Castellanos\\_Perez\\_etal.pdf](http://www2.udec.cl/~gvalencia/pdf/GB2012_69_ne_Castellanos_Perez_etal.pdf).

[Consultado: 22/10/2013].

20. **CEBALLOS MAGAÑA**, Silvia Guillermina. (2007). Caracterización analítica de destilados de *Agave tequilana* mediante técnicas de análisis multivariante (Tesis Doctoral). Sevilla, España. Universidad de Sevilla, Facultad de Química, Departamento de Química Analítica, Septiembre. 319 h.
21. **CEDEÑO C. M.**, Jacobs-Alvarez J. (1999). Production of tequila from Agave: historial influences and contemporary processes. The Alcohol Textbook. Jacques K., Lyons T. P., Kelsall D. R. (Eds.). 3rd ed. 225-241. Nottingham University. Inglaterra.
22. **CHÁZARO B**, Miguel (2007). Agaves Silvestres usados en la elaboración de Bebidas Alcohólicas. En: Vázquez-García, A, et al. Agaves del Occidente de México. Universidad de Guadalajara. Primera edición, México, marzo. Capítulo 4: Etnobotánica, pp. 257-262.
23. **CICEANA**-Centro de Información y Comunicación Ambiental, A.C. Con sabor a Maguey. En: Revista Ciencias. Facultad de Ciencias de la UNAM. Ciudad de México 2006. Número 87. Disponible en internet. URL: <http://www.ciceana.org.mx>. [Consultado: 16/08/2012].
24. **CIFUENTES D**, Armando; **OREA L**, Gildardo; **GÓMEZ O**, Salomón. (2010). Contenido de Azúcares Reductores Totales en piñas de Agave mezcalero cosechadas en tres ejidos del Municipio de Suchil, Durango-México, Disponible en internet. URL: <http://biomedbiotec.encb.ipn.mx/congreso2010/Extensos/Agropecuaria/AG364CAN20091230.pdf>. [Consultado: 22/01/2010].
25. **CODEX STAN 12-1981**. Norma para la miel. Disponible en internet. URL: <http://www.codexalimentarius.org/standARDS/list-of>



[standARDS/es/?provide=standARDS&orderField=fullReference&sort=asc&num1=CO  
DEX](#). [Consultado: 12/09/2012].

26. **CONAGUA-Comisión Nacional del Agua.** Clima de México. (Web en línea).[http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=103&Itemid=80](http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=103&Itemid=80). [Consultado: 01/06/2013].
27. **CORTINEZ Villalobos Victoria A.** (2010). Comparación de pretratamientos en residuos forestales para la producción de bioetanol de segunda producción: hidrólisis ácida y líquidos iónicos. (tesis). Para optar al grado de magíster en ciencias de la ingeniería mención química y memoria para optar al título de ingeniero civil químico. Universidad de Chile.
28. **DE LA CUEVA, P.** (2005). Dermatitis de contacto por Agave americana. Servicio de Dermatología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Febrero. Madrid-España.
29. **ESCALANTE Minakata P.; BARBA de la Rosa A.P; SANTOS L y DE LEÓN-Rodríguez, A.** (2012). Aspectos químicos y moleculares del proceso de producción del mezcal. En: revista de biotecnología y bioingeniería., Vol. 16 No. 1, San Luis Potosí, S.L.P., México. Disponible en internet. URL: [http://www.smbb.com.mx/revista/Revista\\_2012\\_1/Leon\\_Rodriguez.pdf](http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2012_1/Leon_Rodriguez.pdf). [Consultado: 17/11/2012].
30. **FENNEMA, Owen R.** (2000). Química de los Alimentos - 2ª Ed. Ed. Acribia., p.p. 854.
31. **FONTANA, J. D., PASSOS, M. y GZYBOWSKI, A.** (2007). Process of citric or phosphoric partial hydrolysis of inulin for the obtention of fructooligosaccharides – FOS. Patente. Pub. No. WO/2009/006715.



32. **FLORIO, R. Enrique.** (1998). Docente de la facultad de Ingeniería de Alimentos de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann – Tacna Perú.
  
33. **FRANCO Vidal Raúl.** (1997). Diseño de una planta productora de Mezcal. Tesis para optar la Licenciatura en ingeniería química. Unidad Iztapalpa, división de ciencias básicas e ingeniería. Universidad Autónoma Metropolitana- México.198h.
  
34. **GARCÍA Barceló Juan.** (1990). Técnicas Analíticas para Vinos. 1ª Edición - Octubre, ISBN 84-404-7827-5- Moja-Olèrdola (Barcelona).
  
35. **GARCIA Mendoza, Abisai J.** (2007). Los Agaves de México. En: Revista de ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal, México Julio- setiembre. Número 087, pp.14-23.
  
36. **GARCÍA S. Mariano, NAVARRETE B. José L., JIMÉNEZ I. Hugo, BOTELLO A. Enrique, RICO M. Ramiro.** (2004). Análisis del proceso de fermentación del *Agave var. salmiana* para la obtención de Mezcal. Celaya - Guanajuato, México. Instituto Tecnológico de Celaya. Depto. Ingeniería Química y Bioquímica.
  
37. **GARCÍA S. Mariano J; BOTELLO Á. Enrique; NAVARRETE B. José Luis, JIMÉNEZ I. Hugo y RICO Ramiro.** (2003). Estudio sobre el cocimiento de *Agave Salmiana* para elaboración de mezcal: condiciones favorables considerando restricciones por subproductos de degradación. Celaya-Guanajuato, México; Departamento de Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico de Celaya. Disponible en internet. URL:  
[http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area\\_V/CART ELES/CV-47.pdf](http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_V/CART ELES/CV-47.pdf). [Consultado: 05/11/2011].
  
38. **GARCILAZO DE LA VEGA** (¿1501? – 1536). Comentarios Reales. Capítulo XXVIII: Del árbol maguey y de sus provechos. 106-108p.



39. **GIMFERRER** Morató, Natàlia. El agua en los alimentos. Revista virtual Consumer Eroski. febrero de 2012. Disponible en internet. URL: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-ytecnologia/2008/03/26/175613.php>. [Consultado: 25/04/2013].
40. **GÓMEZ**-Ayala Rocío del Carmen, **TÉLLEZ**-Luis Simón Josías, **RAMÍREZ** de León José Alberto, **JACQUES** Hernández Cuauhtémoc, **VÁZQUEZ** Vázquez, Manuel. (2006). Aprovechamiento integral del *Agave americana* L. México. Disponible en internet. URL: <http://www.turevista.uat.edu.mx/Volumen%203%20numero%202/Microsoft%20Word%20-%20TCP-Aprovechamiento%20integral%20del%20Agave%2011.pdf>. [Consultado: 15/02/2010].
41. **GÓMEZ** A. Rocío del Carmen; **JACQUES** Cuauhtémoc; **RAMÍREZ** D.L, José A. (2008). **Extracción de la Inulina y azúcares del Agave con métodos químicos**. Universidad Autónoma de Tamaulipas- Reynosa-Aztlan, México.
42. **GONZALEZ** Lidia, **SAAVEDRA** Zenaida, **BARBA** Ana Paulina, **DE LEON** Antonio. (2002). Cinética de la fermentación para la producción de Mezcal. Departamento de Biología molecular. IPICYT. San Luis Potosí- México.
43. **GONZALEZ** G. Leandro R; **GARCIA** M. Ignacio; **PEREZ** B. Rafael; **GUTIERREZ** P. Karla L; **GARCIA** C. Anayeli. (2007). Obtención de azúcares fermentables a partir de inulinasas inmovilizadas por el método sol-gel. Investigación Universitaria Multidisciplinaria-Universidad Simón Bolívar- Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Año 6, N°06, Diciembre.
44. **GUTIÉRREZ** Coronado, M. L.; **ACEDO** Félix, E.; **VALENZUELA** Quintanar, A. I. (2007). Industria del Bacanora y su proceso de elaboración En: Revista de Ciencia y Tecnología Alimentaria, editada por la Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de Alimentos (SOMENTA). Reynosa, México - año/vol. 5, número 005, pp. 394-404.



45. **HARMSSEN P.F.H; HUIJGEN W.J.J; BERMUDEZ L.L.M, BAKKER.R.R.C,** (2010). Literature review of physical and chemical pretreatment processes for lignocellulosic biomass. Food of biobased research.
46. **HERRERA Alamillo M.A; CASTRO Concha L.A; HERRERA J.L; ANCONA W; AGUILAR Vega M; ROBERT M; MIRANDA Ham M.L.** (2001). Estudios Sobre los Fructanos del Henequén (*Agave fourcroydes* Lem.). Centro de Investigación Científica de Yucatán- Calle 43 # 130, Chuburná de Hidalgo, Mérida, Yuc., México.
47. **HIDALGO, Togores, José.** (2010). Tratado de Enología. 2da. Edición. Madrid España.
48. **IÑIGUEZ, G.; DIAZ, R.; SAN JUAN, R.; ASNALDO, J.; ROWEL, R.** (2001). Utilization of by products from de tequila industry. Part 2: Potencial value of Agave tequilana Weber azul leaves. *Bioresource Technology*. 77: 101-108.
49. **JURADO López, Sofia E. y SARZOSA Pazmino Xavier S.** (2009). Estudio de la cadena Agroindustrial de la cabuya en la producción de miel y licor de cabuya. Proyecto (previo a la obtención del título de Ingenieros Agroindustriales). Quito, Ecuador. Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, 165 h.
50. **KUNZ, B.** (1986). Cultivo de microorganismos para la producción de Alimentos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 125 p.
51. **LEAL G. Iván y CHIRINOS Elisabeth.** (2003). Caracterización Físicoquímica de la vinaza del *Agave Cocui* y su posible uso Agroindustrial. En: Revista Multiciencias., año/vol. 3, diciembre, número 002. Universidad del Zulia. Punto Fijo, Venezuela Disponible en internet. URL: <http://www.redalyc.org>. [Consultado: 28/09/2012].
52. **LEAL Granadillo Iván A., MIQUILENA Gómez Rosslyn, MORÁN Guillén Héctor.** (2007). Evaluación del proceso de destilación del cocuy de pecaya a partir de la



composición de los volátiles mayoritarios. En: Revista Multiciencias. vol. 7, núm. 2, mayo-agosto, pp. 181-189. Universidad del Zulia, Venezuela.

53. **LEYBA L.** Almadelia; **ARIAS C.** Carlos; **RODRÍGUEZ M.** Martha A; **ÁVILA M.** Martín E. (2010). Producción de jarabe a partir de jugo y agavina de *Agave tequilana* Weber var. azul, con la composición requerida por la norma NMX-FF- 110-SCFI-2008, mediante hidrólisis ácida. Congreso Internacional de AcademiaJournals.com; Tuxtla Gutiérrez, Chiapas- México.
54. **LÓPEZ-Álvarez José A.,** **DÍAZ-Pérez Alma L.** y **CAMPOS-García Jesús** (2012). Estudio comparativo de rendimiento y contenido de compuestos volátiles en un proceso de elaboración de Tequila a nivel industrial, Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, UMSNH - México.
55. **LUNA T.** Gabriela; **ARIAS C.** Carlos; **RODRÍGUEZ M.** Martha A; **OSUNA C.** Juan A. (2010). Madurez del *Agave tequilana* Weber var. azul y su relación con las características de los fructanos acumulados en su piña. Congreso Internacional de Academia Journals.com; Tuxtla Gutiérrez, Chiapas- México.
56. **MADRIGAL P.** Jaime A. (2000). Evaluación de las vinazas tequileras como sustrato para el cultivo en estado sólido y líquido de hongos filamentosos. (Tesis) para optar el título de licenciado en biología, Universidad de Guadalajara. Zapopan, Jalisco- México.
57. **MAGONOVA et.al.** Lactobacillus brevis. Chile, 2007, Disponible en internet. [http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Lactobacillus\\_brevis](http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Lactobacillus_brevis). [Consultado: 30/10/2013].
58. **MANCILLA-Margalli,** López M. G., (2002). Generation of Maillard Compounds from Inulin during the Thermal Processing of Agave tequilana Weber var. azul. Journal of Agricultural and food Chemistry. 50(4): 806-812



59. **MARTÍNEZ-Hernández A.** (2007). *Genómica de Agave tequilana: Identificación de genes útiles para la industria tequilera y el desarrollo de usos alternativos del Agave.* México-. Disponible en internet.  
 URL:[http://www.reunionesnacionales.org.mx/rnifaf.org.mx/2007/memoria/ponencias/biotecnologia/p1\\_resumen.pdf](http://www.reunionesnacionales.org.mx/rnifaf.org.mx/2007/memoria/ponencias/biotecnologia/p1_resumen.pdf). [Consultado: 05/02/2011].
60. **MONTAÑEZ S. José; VENEGAS G. José; VIVAR V. María; RAMOS R. Emma.** (2010). *Extracción, caracterización y cuantificación de los fructanos contenidos en la cabeza y en las hojas del Agave tequilana Weber azul.* México. Disponible en internet.  
<http://www.scielo.org.ve/pdf/ba/v23n3/art07.pdf>. [Consultado: 03/01/2010].
61. **MONTAÑEZ, J.; VICTORIA, J.; FLORES, R.; VIVAR, M.** (2011) *Fermentación de los fructanos del Agave tequilana Weber Azul por Zymomonas mobilis y Saccharomyces cerevisiae en la producción de bioetanol.* Información Tecnológica. 22(6): 3-14. Disponible en internet.  
[http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642011000600002&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642011000600002&script=sci_arttext). [Consultado: 14/08/2011].
62. **MUÑOZ Gutiérrez, Iván et.al.** *Caracterización enzimática de fructanas.* Instituto de Biotecnología, UNAM, Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos.- México 2001.
63. **NORMA MEXICANA-NMX-F-103-1982.** Alimentos. Frutas y derivados. Determinación de grados °Brix. Foods. Fruits and derivatives. Determination of degrees °Brix. Normas mexicanas. Dirección General de Normas. Enero de 1982. México D.F.
64. **NORMA MEXICANA- NMX-FF-110-SCFI-2008,** Norma Mexicana de productos alimenticios – Jarabe de Agave - Especificaciones y Métodos de Prueba, Dirección General de Normas de la Secretaría de Economía, México D.F.



65. **NORMA OFICIAL MEXICANA-** NOM-006-SCFI-2005-, Bebidas Alcohólicas- Tequila- Especificaciones. Dirección General de Normas de la Secretaría de Economía, 6 de enero de 2006. México D.F.
66. **NORMA OFICIAL MEXICANA-** NOM-070-SCFI-1994. Bebidas Alcohólicas. Mezcal. Especificaciones. Dirección General de Normas de la Secretaría de Economía, 28 de noviembre de 1994. México D.F.
67. **NORMA OFICIAL MEXICANA** NOM-159-SCFI-2004, Bebidas Alcohólicas-Sotol- Especificaciones y métodos de prueba. Dirección General de Normas de la Secretaría de Economía, 16 de Junio de 1994. México D.F.
68. **NORMA OFICIAL MEXICANA** NOM-168-SCFI-2004. Bebidas Alcohólicas- Bacanora. Especificaciones de elaboración, envasado y etiquetado. Dirección General de Normas de la Secretaría de Economía.
69. **NTP 210.025 (1982)** Bebidas alcohólicas. Método usual para determinar Furfural en bebidas alcohólicas destiladas.
70. **NTP 212.030 (2009)**. Bebidas alcohólicas. Vinos. Determinación del grado alcohólico. 2a ed.
71. OLVERA, C. Castillo, E. López -Munguía, A. Fructosiltransferasas, fructanas y fructosa en: Lopez-Munguia,A. Una ventana al quehacer científico. Instituto de Biotecnología de la UNAM 25 aniversario, cap 29. México, D.F.. UNAM. 2008. pags. 327-345. Disponible en internet. URL: [www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/libro\\_25\\_aniv/CAPÍTULO\\_29.pdf](http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/libro_25_aniv/CAPÍTULO_29.pdf). [Consultado: 06/09/2012].
72. **OTERO** Ortiz, Lucio. (2011). Sustitución parcial de lúpulo (*Humulus lupulus*) por harina de coca (*Erythroxylum coca*) en la elaboración de cerveza tipo ale, utilizando una cepa nativa de *Saccharomyces sp.* (Tesis) para optar el título profesional de

- ingeniero agroindustrial. Facultad de Ingeniería, Escuela académico profesional de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac. Abancay, Apurímac, Perú.
73. **PARDO** Briceño, Oriana. (2005). El Agave americano (*Agave americana L.*): uso alimentario en el Perú. En: Chloris Chilensis: Revista Chilena de flora y vegetación, Año 8 N° 2. Disponible en internet. URL: <http://www.chlorischile.cl>. [Consultado: 01/06/2012].
74. **PARDO** Briceño, Oriana. (2007). El Agave (*Agave americana L.*) en las culturas prehispánicas: una Revisión Bibliográfica. En: Chloris Chilensis: Revista Chilena de flora y vegetación. Año 10 N° 1. Disponible en internet. URL: <http://www.chlorischile.cl>. [Consultado: 01/06/2012].
75. **PARDO** Briceño, Oriana. Etnobotánica de algunas cactáceas y suculentas del Perú. En: Chloris Chilensis: Revista Chilena de flora y vegetación, 2002. Año 5 N° 1. Disponible en internet. URL: <http://www.chlorischile.cl>. [Consultado: 01/06/2012].
76. **PEANA AT**, Moretti MD, Manconi V, Desole G, Pippia P. Anti-inflammatory activity of aqueous extracts and steroidal saponins of *Agave americana*. *Planta Med.* 1997; 63:199-202pp.
77. **PINAL Z.** Luz María y **GSCHAEDLER M.** Anne. (2000). Influencia del tiempo de cocimiento del Agave sobre la producción de algunos furanos y comportamiento de ellos durante la Fermentación. **CIATEJ** - Guadalajara- México, Disponible en internet. URL: [http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/veracruz01/TRABAJOS/AREA\\_II/Cii-24.pdf](http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/veracruz01/TRABAJOS/AREA_II/Cii-24.pdf). [Consultado: 07/03/2012].
78. **RAMÍREZ** Higuera, Abril (2009). Evaluación del efecto prebiótico del aguamiel de maguey (*Agave salmiana*) en *lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*. Instituto

Politécnico Nacional- Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. México D.F.

79. **RENDON S.** Luis Alberto y **MAGDUB M.** Abdo. (2007). El jarabe de Henequén. Revista fitotecnia Mexicana. Año/vol. 30, numero 004. pp. 463-467. Chapingo-México.
80. **RENDON, L.; MAGDUB, M.; LARQUE, A.** (2005). Producción de alcohol en piñas de Henequén (*Agave fourcroydes* Lem). Disponible en internet.URL: [www.fpy.org.mx/index.php?id=piasdeheh](http://www.fpy.org.mx/index.php?id=piasdeheh). [Consultado: 01/06/2012].
81. **RONGEL Cedano, Livier.** (2004). Diseño preliminar del equipo necesario para la elaboración de bacanora. Universidad de Sonora, Sonora, México.
82. **RUIZ-CORRAL José A.** (2002). Regiones térmicas óptimas y marginales para el cultivo de *Agave Tequilana* en el estado de Jalisco. Guadalajara, Jalisco. Disponible en internet.URL: <http://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2002/ene-feb/art-5.pdf>. [Consultado: 01/04/2011].
83. **RUIZ G, M; RAMÍREZ D., M.C; ANTOLÍN G, G.** (2011). Efecto del hidroximetil furfural sobre el crecimiento de hongos en pan de molde. Ciencias Agronómicas - Revista XVIII - Año 11 - 2011 / p.p 027 – 03. Valladolid, (España).
84. **SALDAÑA R.,** Alberto; **SERWATOWSKI H.,** Ryszard J.; **SALDAÑA R. Noé;** **GUTIÉRREZ V.,** César; **CABRERA S. José M.** y **GARCÍA B. Salvador.** (2012). Determinación de algunas propiedades físicas de Agave tequilana Weber para mecanizar la cosecha. En: Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.3 Núm. 2- 01 de marzo - 30 de abril, 2012 p. 451-465.
85. **SALDÍVAR Esparza, Sara Mercedes.** (2007). Usos prehispánicos del Agave. En: Vázquez-García, A, et al. Agaves del Occidente de México. Universidad de



Guadalajara. Primera edición, México, marzo. CAPÍTULO 4: Etnobotánica, pp. 247-256.

86. **SEDANO, J.** (2006). Selección de cepas nativas de lactobacillus con actividad inhibitoria y tolerantes al etanol aisladas de “masato”. [Informe]. - Lima, Perú : [s.n.]
87. **SEGURA, José C.** (2006). El Maguey. Memoria sobre el cultivo y beneficios de sus productos. En: Revista de Geografía Agrícola, estudios regionales de la agricultura mexicana. Universidad Autónoma de Chapingo. Texcoco, México Julio- diciembre. Número 037, pp.131-150. Disponible en internet. URL: <http://www.redalyc.org> [Consultado: 14/11/2012].
88. **SENAMHI 2012.** “Caracterización climática de las regiones Apurímac y Cusco”. Serie de investigación regional # 1. Programa de Adaptación al Cambio Climático PACC - Perú.
89. **SERRANO, José Antonio.** (2010). Obtención de vinagre a partir de frutas en descarte. (Tesis) para optar el título profesional de ingeniero agroindustrial. Facultad de Ingeniería, Escuela académico profesional de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac. Abancay, Apurímac, Perú.
90. **SUBOVSKY, Martha J; SOSA López, Angela; CASTILLO, Alicia; CANO, Nelly.** (2001). Evaluación del contenido de hidroximetilfurfural en mieles del NEA. Facultad de Ciencias. Agrarias - UNNE. Corrientes-Argentina.
91. **VARGAS Vázquez, Carla Gabriela.** (2009). Obtención de insumos de interés industrial a partir de las fructanas del Agave mezcalero potosino (*Agave salmiana*). Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias en producción agrícola sustentable. Instituto Politécnico Nacional- Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional CIIDIR-IPN-Michoacán. Jiquilpan, Mich- México.



92. VELASCO B, Efraín; ZAMORA M, Marisela C; ESPINOSA P, Horacio; SAMPAYO B, Carolina y Moreno S, Francisco. (2009). Modelos Predictivos para la Producción de Productos Forestales No Maderables: Agaves Mezcaleros. Manual Técnico Núm. 3. CENID-COMEF. INIFAP, México, D. F. México, 60 p.
93. VENERO Gonzales, José Luis. (2006). Formas de uso del maguey (*Agave americana*, Agavaceae), en el humedal de Lucre-Huacarpay, Cusco, Perú. En: Chloris Chilensis: Revista Chilena de flora y vegetación, Año 9, N° 2. Disponible en internet. URL: <http://www.chlorischile.cl> [Consultado: 19/12/2012].
94. VERA G. Araceli M; GUZMÁN G. Rosa I; LÓPEZ. Mercedes G. (2009). Compuestos volátiles aromáticos generados durante la elaboración de Mezcal de *Agave angustifolia* y *Agave potatorum*. Revista Fitotec-vol. 32(4): 273-279, 2009-Mexico.
95. VERDUZCO M. Jorge. (2008). Caracterización e identificación taxonómica del maguey. VII Simposium-Taller "Producción y Aprovechamiento del Nopal en el Noreste de México". Universidad Autónoma de Nuevo León - Facultad de Ciencias Biológicas. Mina. N.L., México.
96. VIZCAÍNO-RODRÍGUEZ, L.A. (2012). Biosíntesis in vitro de oligofructanos: inulinas y neoinulinas por fructosiltransferasas de *Agave tequilana* Weber var. azul y *A. inaequidens* subsp. *inaequidens* Koch. Jalisco-México. Disponible en internet. URL:[http://www2.udel.cl/~gvalencia/pdf/GB2012\\_69\\_ne\\_VizcainoRodriguez\\_etal.pdf](http://www2.udel.cl/~gvalencia/pdf/GB2012_69_ne_VizcainoRodriguez_etal.pdf). [Consultado: 16/08/2013].
97. VIZCAINO R. Luz A.; RODRÍGUEZ M. Martha A; ARIAS C. Carlos. (2007). Alternativa biotecnológica para la producción de fructanos de *Agave*. [http://imagenagropecuaria.com/2007/alternativa\\_biotecnologica\\_para\\_la\\_produccion\\_de\\_fructanos\\_de\\_Agave/](http://imagenagropecuaria.com/2007/alternativa_biotecnologica_para_la_produccion_de_fructanos_de_Agave/) [Consultado: 08/03/2012].



98. WADE L.G. (2006). QUÍMICA ORGÁNICA / 5TA EDICION. EDITORIAL PEARSON.
99. WALECKX E., Grschaedler A., COLONNA-Ceccaldi B., MONSAN P. (2008). Hydrolysis of fructans from Agave tequilana Weber var. azul during the cooking step in a traditional tequila elaboration process. Food Chemistry. 108(1): 40-48.
100. ZAMORA Vega, Rafael. (2011). Elaboración de un alimento funcional a base de *Saccharomyces boulardii* e inulina. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias en producción agrícola sustentable. Instituto Politécnico Nacional, Jiquilpan, Michoacán, México. Disponible en internet. URL:  
<http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/8010/TESIS%20DE%20MAESTRIA%20PDF-1.pdf?sequence=1> [Consultado: 08/04/2012].
101. ZAMORA P., Cynthia; JUÁREZ F., Bertha I; AGUIRRE R., Juan R; ORTIZ P., Deogracias, GODÍNEZ H., Cesar I., ÁLVAREZ F, Gregorio. (2010). Variación de la concentración de azúcares y saponinas durante la cocción del maguey mezcalero potosino. e-Gnosis. Disponible en internet. URL:  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=73013006007> [Consultado: 08/07/2013].



# ANEXOS



## **Anexo 01:**

### **DETERMINACION DE HUMEDAD (SÓLIDOS TOTALES)**

**NTP 205,002 (1979)**

#### **PRINCIPIO**

El método para determinar la cantidad de agua presente en la muestra, se basa en la pérdida de peso de la muestra (2-5g), por calentamiento en una estufa  $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 4 hr, refiriendo su peso al peso total de la muestra y expresada como porcentaje.

#### **MATERIALES Y EQUIPOS**

- Balanza analítica.
- Estufa como regulador de temperatura a  $100^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
- Placas petri de base plana con tapa.
- Desecador de vidrio como agente desecante.
- Espátula pinzas metálicas.
- Hornilla de calentamiento.
- Vasos de precipitado de 250 ml.

#### **PROCEDIMIENTO**

1. Pesarse en una placa petri previamente tarado 5.0000 g de muestra bien mezclada por duplicado.
2. Colocar la placa petri encima del vaso de precipitado (el vaso de precipitado debe contener agua).
3. Colocar sobre plancha caliente y dejar que el agua de la muestra se evapore hasta que se seque.
4. Colocar las placas petri en la estufa y mantener a una temperatura de  $105^{\circ}\text{C}$  durante 04 horas.
5. Después del tiempo requerido, transferir las placas petri al desecador y esperar que alcance la temperatura de ambiente (20 minutos aproximadamente).
6. Pesarse en balanza analítica las placas petri con la muestra seca, se toma nota antes de los 5 segundos.

## CALCULO

Para establecer el % de humedad de las muestras, utilizamos la siguiente fórmula:

$$\%H = \left[ \frac{(Pmf - Pmi) \times 100}{Pm} - 100 \right]$$

**Donde:**

**% H** = Porcentaje de agua en la muestra de Agave.

**Pm** = Peso de la muestra.

**Pmi** = Peso de la placa + la muestra inicial.

**Pmf** = Peso de la placa + la muestra final.

## **Anexo 02:**

### **DETERMINACIÓN DE CENIZAS NTP 205,004 (1979)**

#### **PRINCIPIO**

El método está basado en la calcinación de la muestra a 550°C por 6 horas, para la determinación de ceniza se utilizará el método Gravimétrico.

#### **MATERIALES Y EQUIPOS**

- Balanza analítica
- Horno mufla
- Desecador como agente desecante
- Crisoles de porcelana
- Estufa.
- Muestra (Agave crudo)

#### **CALCULO**

Para establecer el % de humedad de las muestras, utilizamos la siguiente fórmula:

$$\%Ceniza = \frac{(P_{ccr} - P_{cv})}{P_m} \times 100$$

#### **Dónde:**

$P_{ccr}$  = Peso de crisol con residuos

$P_{cv}$  = peso de crisol vacío

$P_m$  = peso de la muestra.

### **Anexo 03:**

## **DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA**

### **NTP 205,003 (1980) y SAT AQ 183 (2000)**

#### **PROCEDIMIENTO**

- 1.- Pesar 2.50g de muestra (*Agave americana L.*) en papel filtro (previamente secada).
- 2.- Llevamos la muestra envuelta al destilador de Soxlet con la finalidad de desengrasar, para ello utilizamos éter de petróleo, el reflujo lo realizamos por 5 a 6 horas de forma continua.
- 3.- Extraemos la muestra y dejamos secar al medio ambiente por 15 minutos aproximadamente.
- 4.- Vaciamos la muestra en un Beacker (Vaso de precipitado) de 500ml, y luego le agregamos 200ml de ácido sulfúrico al 1.25 % (0.255N) y agitamos, luego llevamos a plancha caliente y hacemos hervir por un tiempo de 30 min (tapar con luna de vidrio en el extractor).
- 5.- Terminado el tiempo de ebullición dejamos enfriar y filtrar en embudo Buthner, con un poco de fibra de vidrio, enjuagar 3 veces el Beacker (7 - 10ml de agua aproximadamente en cada enjuague).
- 6.- Luego con ayuda de una pinza extraemos la fibra de Vidrio (que contiene la muestra) del embudo Buthner y lo vaciamos en otro Beacker de 500ml y le agregamos 200ml de Hidróxido de Sodio (0.313 N).
- 7.- Nuevamente lo llevamos a la plancha y dejar hervir por 30 min aproximadamente (cuando hierva bajamos la temperatura para que no se evapore todo el agua).
- 8.- Una vez culminada la ebullición dejamos enfriar por un tiempo aproximado de 15 minutos.
- 9.- Utilizando papel rápido, filtramos la fibra de vidrio, enjuagando 3 veces aproximadamente y luego lo vaciamos en crisoles bouch (Tener peso inicial del crisol bouch y ponerle un poquito de fibra de vidrio para que tape los huequitos).
- 10.- Con ayuda de una bomba de vacío filtramos nuevamente de los crisoles bouch sobre un matraz kitasato, para ello utilizamos un aproximado de 100ml de agua.



11.- Luego le agregamos 20ml de ácido sulfúrico (0.255N) y alcohol (30ml aproximadamente) y seguimos filtrando, finalmente llevamos los crisoles a la estufa a 130°C por 01 hora.

12.- Dejamos enfriar los crisoles en el desecador y luego pesamos (peso inicial).

13.- Luego llevamos a la mufla a 600°C por 30 minutos, y luego llevamos a enfriar en el desecador y pesamos (peso final).

14.- Utilizamos la siguiente fórmula para determinar el % de Fibra Cruda en el maguey

Formula:

$$\% \text{ Fibra Cruda (Base Húmeda)} = \frac{\text{Peso final} - \text{Peso inicial}}{\text{Peso de muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ Fibra Cruda (Base Seca)} = \frac{\text{Fibra Cruda (Base Húmeda)}}{(100 - \% \text{ humedad})} \times 100$$

#### **Anexo 04:**

### **DETERMINACIÓN DE PROTEINAS**

**NTP 205,005 (1979)**

#### **EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS**

- Balanza analítica.
- Balones de Kjeldahl.
- Hornillas eléctricas.
- Aparatos de destilación de Kjeldahl.
- Múltiple con elementos de calentamiento y sistema de absorción de gases.
- Papel de filtro Whatman (no importa la malla) o papel glacine.
- Vasos Erlenmeyers y buretas.
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Mezcla sulfato de cobre - sulfato de potasio (mezcla catalizador-elevador de la temperatura).
- Acido bórico.
- Soda cáustica al 50 %.
- Acido clorhídrico 0,1 N.
- Indicador rojo de metilo.
- Granallas de zinc. f = factor proteico.

#### **DETALLES EXPERIMENTALES**

1. Pese 1 gramo de muestra en el papel de filtro, envolver e introducirlo en el balón de Kjeldahl.
2. Añada una cuchara a ras de la mezcla catalizador-elevador de la temperatura, adicionar 25 ml. de ácido sulfúrico concentrado por los bordes del balón con sumo cuidado.



3. Coloque el balón de Kjeldahl en la hornilla eléctrica para su ataque durante una hora y media aproximadamente. La finalización del ataque se observa por la aparición de una solución de color verde-esmeralda límpido. Durante la hora y media de digestión, el balón de Kjeldahl se va rotando periódicamente con la finalidad de que la combustión de la materia orgánica en la muestra sea homogénea.
4. Deje enfriar el producto así obtenido y adicione aproximadamente 500 ml. de agua.
5. Antes de iniciar el proceso de destilación, en un vaso erlenmeyer añada 50 ml. de ácido bórico y 3 a 4 gotas de indicador rojo de metilo. Coloque el vaso erlenmeyer en el terminal del equipo de destilación de modo que el terminal quede inmerso en la solución bórica.
6. En el balón de Kjeldahl, después de adicionar los 500 ml. De agua, añada unas cuantas granallas de zinc e inmediatamente 50 ml de solución de soda al 50 % y coloque en el equipo de destilación, ajustando bien la parte inicial de éste al balón de Kjeldahl.
7. Inicie la destilación, hasta obtener un volumen aproximado de 250 ml. de destilado en el vaso erlenmeyer e interrumpa el proceso de destilación.
8. Titule el contenido del vaso erlenmeyer con HCl 0,1 N hasta variación de color, en este caso amarillo a rojo. Anote el volumen gastado.

### CALCULOS

$$V \times N \times 14 \times f$$

$$\% \text{ PROTEINA} = \frac{\text{-----}}{1000 \times W} \times 100 \%$$

$$1000 \times W$$

Dónde:

V = Volumen gastado de HCl en la titulación.

N = normalidad del HCl.

14 = equivalente-gramo del nitrógeno.

W = peso de muestra.



**Anexo 05:**

**DETERMINACIÓN DE GRASAS  
NTP 205,006 (1980)**

**PRINCIPIO**

Es una extracción semicontinua con un disolvente orgánico. En este método el disolvente se calienta, se volatiliza y condensa goteando sobre la muestra la cual queda sumergida en el disolvente. Posteriormente éste es sifoneado al matraz de calentamiento para empezar de nuevo el proceso. El contenido de grasa total se cuantifica por diferencia de peso.

Se expresa en % en masa de muestra seca y se calcula mediante la siguiente expresión:

**En base húmeda:**

$$Mg = \frac{(W_{bv} - W_f)}{W_m} * 100 \dots \dots \dots (4)$$

**En base seca:**

$$Mg = \frac{(W_{bv} - W_f)}{W_m} * \frac{100}{(100 - H)} \dots \dots \dots (5)$$

**Dónde:**

- Mg: contenido de materia grasa (gramos) en cada 100 g de muestra.
- Wbv: representa el peso inicial del balón seco y vacío.
- Wf: es el peso final del balón más la grasa extraída de la muestra.
- Wm: peso de la muestra en gramos.



**Anexo 06:**

**DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS  
(Método matemático)**

La cantidad de carbohidratos se determina mediante cálculo.

$$C = (100 - (C_p + C_g + C_{fc} + C_h + C_c))$$

Dónde:

- C: contenido de carbohidratos en g/100g, equivalente en %.
- C<sub>p</sub>: contenido de proteína en g/100g.
- C<sub>g</sub>: contenido de grasa en g/100g.
- C<sub>fc</sub>: contenido de fibra cruda en g/100g.
- C<sub>h</sub>: contenido de humedad en g/100g.
- C<sub>c</sub>: contenido de ceniza en g/100g.

## **Anexo 07:**

### **DETERMINACION DE AZÚCARES REDUCTORES EN EL ZUMO HIDROLIZADO DEL MAGUEY (*Agave americana L.*)**

**(METODO DE FEHLING- Método AOAC 958.32)**

#### **PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DE FEHLING A Y B**

##### **Preparación de una solución de 100ml.**

**Solución de Fehling A:** Pesar 6.9278 g de Sulfato de Cobre Pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), y diluir en agua destilada en fiola de 100ml y filtrar en papel rápido.

**Solución de Fehling B:** Pesar 34.6 g de Tartrato de Sodio y Potasio y 10 g de NaOH, y diluir en fiola de 100ml, mezclando constantemente.

#### **PREPARACION DE SOLUCIONES DE PRECIPADO DE AZÚCARES**

**Preparación de la solución de Acetato de Zinc:** Pesar 21.90 g de Acetato de Zinc [ $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ] P.A, en un vaso de 50ml (aspecto parecido a la sal de mesa), agregar 3ml de  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (Ácido acético), y llevar a fiola de 100ml y agitar hasta que se diluya por completo.

**Ojo:** Agregar el Ácido acético en campana extractora y usar mascarilla.

**Preparación de la solución de Ferrocianuro de Potasio:** Pesar 10.60 g de Ferrocianuro de Potasio (potasio hexacianoferrato (II) trihidrato P.A.), y diluir a fiola de 100ml y agitar vigorosamente hasta que se disuelva completamente; La solución presenta coloración amarilla debido a que el aspecto del ferro es amarillo.

Las dos soluciones se trasvasan en envases color ámbar para su conservación.

#### **ANALISIS DE LOS AZÚCARES REDUCTORES DIRECTOS**

##### **Preparación de la muestra**

- 1 Pesar por duplicado 10.0000 g de azúcar en balanza analítica en vaso de 50 ml con una precisión de 0.01g



- 2 Agregar agua destilada a los vasos, aproximadamente unos 50ml, evitando que parte del jugo se pegue en las paredes del vaso.
- 3 Vaciar el contenido del vaso en fiolas de 250ml y agregamos agua destilada, otros 50 ml.
- 4 Le agregamos 5 ml de Ferrocianuro de potasio a la fiola y agitamos, luego agregamos otros 5ml de Acetato de Zinc y agitamos (esta operación se realiza para precipitar los azúcares reductores de la muestra)
- 5 Aforamos con agua destilada, hasta completar la fiola a un volumen de 250ml.
- 6 Agitamos vigorosamente las fiolas y filtramos sobre matraces de 250ml, con papel rápido como medio de filtración.

### Titulación

- 7 Cogemos el filtrado del procedimiento anterior, y lo vaciamos en Bureta graduada de 50ml de capacidad.
- 8 Por otro lado, cogemos un matraz de 500ml, al cual le agregamos 50ml de agua destilada y una cucharilla de piedra pómez o perlas de vidrio (con la finalidad de homogenizar el hervor durante la titulación).
- 9 Inmediatamente después, llevamos el matraz de 500ml a plancha bien caliente (puede usarse una cocinilla eléctrica y para el soporte del matraz utilizamos un plancha de metal que facilite la agitación de la muestra a titular)
- 10 Luego se le agrega al matraz, 5 ml de solución de Fehling A y 5 ml de Fehling B y agitamos, esperando que hierva la solución de Fehling.
- 11 Una vez que empiece a ebulir, le agregamos desde la bureta graduada de 3 a 5 ml de la muestra y agitamos.
- 12 Agregamos 5 gotas de la solución de Azul de Metileno al 1% y agitamos.
- 13 Continuamos agregando la solución titulante, esperando que llegue al punto donde termine la titulación, que es cuando la solución adquiere un viraje de color rojo ladrillo.
- 14 Anotamos el gasto y calculamos mediante el uso de la siguiente formula.

$$\% \text{ AR (g/100g)} = \frac{250 * \text{factor fehling} \times 100}{\text{Pm} * \text{Vol. gasto}}$$

Datos adicionales	
Factor Fehling:	0.0545
Dilución en fiola	250

TABLA 01. RESULTADOS DE ARD POR METODO DE FEHLING- AOAC 958.32

Tratamientos	Temperatura (°C)	Tiempo (hr)	Peso de muestra	Vol. de gasto	ARD (g/100g)	Promedio	Desviación Standar
T1	100	6	10.0000	30.8	4.43	4.49	0.06
	100	6	10.0082	30.0	4.53		
	100	6	10.0004	30.2	4.52		
T2	100	8	10.0050	28.1	4.85	4.86	0.02
	100	8	10.0038	28.1	4.84		
	100	8	10.0041	27.9	4.88		
T3	100	10	10.0023	25.0	5.44	5.29	0.17
	100	10	10.0079	26.7	5.10		
	100	10	10.0042	25.6	5.32		
T4	110	6	10.0004	24.4	5.60	5.43	0.25
	110	6	10.0076	26.5	5.14		
	110	6	10.0005	24.5	5.56		
T5	110	8	10.0026	24.6	5.54	5.58	0.17
	110	8	10.0054	25.1	5.44		
	110	8	10.0035	23.6	5.77		
T6	110	10	10.0050	18.6	7.32	7.31	0.05
	110	10	10.0068	18.8	7.26		
	110	10	10.0036	18.5	7.35		
T7	120	6	10.0008	20.8	6.55	6.51	0.09
	120	6	10.0061	20.7	6.58		
	120	6	10.0028	21.3	6.41		
T8	120	8	10.0072	24.3	5.59	5.71	0.10
	120	8	10.0016	23.6	5.76		
	120	8	10.0020	23.6	5.76		
T9	120	10	10.0051	30.5	4.47	4.67	0.23
	120	10	10.0034	29.5	4.62		
	120	10	10.0068	27.7	4.91		

Datos adicionales	
Factor Fehling:	0.0545
Dilución en frías:	25C

**Anexo 07.1: ANOVA factorial – Obtención de Azúcares Reductores Directos por hidrólisis térmica.**

**Variable dependiente: ARD**

**Factores:** Temperatura.  
Tiempo.

**Número de casos completos: 27**

**Tabla 02. ANOVA factorial de ARD obtenido por hidrólisis**

Variable dependiente: Azúcares Reductores Directos (ARD).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	19,529	8	2,441	111,653	,000
Intra-grupos	,394	18	,022		
Total	19,922	26			

**Tabla 03. Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Variable dependiente: Azúcares Reductores Directos (ARD).

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	19,529(a)	8	2,441	111,653	,000
Intersección	828,230	1	828,230	37882,791	,000
Tiempo	,673	2	,337	15,401	,000
Temp	6,916	2	3,458	158,158	,000
Tiempo * Temp	11,940	4	2,985	136,527	,000
Error	,394	18	,022		
Total	848,152	27			
Total corregida	19,922	26			

a. R cuadrado = ,980 (R cuadrado corregida = ,971)

**Tabla 04. Comparación de medias de los ARD obtenidos por hidrólisis térmica**

Variable dependiente: Azúcares Reductores Directos (ARD).

HSD de Tukey<sup>a</sup>

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = .05				
		2	1	3	4	1
1	3		4,4933			
9	3		4,6667			
2	3		4,8567			
3	3			5,2867		
4	3			5,4333		
5	3			5,5833		
8	3			5,7033		
7	3				6,5133	
6	3					7,3100
Sig.			,127	,055	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.



## **Anexo 08:**

### **DETERMINACION DE HIDROXIMETILFURFURAL EN EL ZUMO HIDROLIZADO (MÉTODO DE ESPECTROFOTOMETRÍA UV- AOAC 980.23)**

#### **Materiales**

Los equipos que corresponden deben tener mantenimiento, calibración y/o verificación vigente.

- Balanza de precisión, con resolución de 0,01 g.
- Tamiz de acero inoxidable, malla de 0,5 mm.
- Material volumétrico, clase A según corresponda.
- Vaso de precipitado, de 50 ml.
- Tubos de ensayo, 18 mm x 150 mm.
- Espectrofotómetro UV, con rango de longitud de onda en espectro de luz UV.
- Papel Whatman N° 2 o similar.

#### **Reactivos y Soluciones**

- Agua p.a.
- Etanol, al 95% p.a.
- **Solución de ferrocianuro de potasio,  $K_4 Fe(CN)_6 \times 3 H_2O$  al 15% (15 g/100 ml agua) (Carrez I).**
- **Solución de acetato de zinc,  $Zn(CH_3COO)_2 \times 2H_2O$  al 30% (30 g/100 ml agua) (Carrez II).**
- **Solución de bisulfito de sodio,  $Na HSO_3$  (grado técnico) al 0,2% (0,2 g/100 ml agua) la solución de referencia de 0,1% (0,1 g/100 ml agua). Si es necesario, diluir la solución de bisulfito de sodio al 0,2%. Preparar la solución antes de usar.**



## Procedimiento

### Preparación de la muestra para el ensayo

Para el análisis utilizar una muestra de al menos 100 g. Homogeneizar la muestra para ensayo sin calentar evitando la entrada de aire.

### Determinación

1. Pesar 5,00 g de muestra de miel, en duplicado, en vasos de precipitado de 50 ml, con precisión de 0,01 g.
2. Agregar 25 ml de agua destilada a cada vaso, agitando para lograr la total disolución de la miel.
3. Añadir a cada vaso 0,5 ml de solución Carrez I y mezclar, a continuación agregar 0,5 ml de solución Carrez II y mezclar. Estas soluciones se utilizan para eliminar la turbidez. Se pueden agregar gotas de etanol para suprimir la espuma.
4. Transferir cuantitativamente cada mezcla a un matraz de 50 ml, y aforar con agua hasta completar dicho volumen.
5. Agitar y filtrar el contenido del matraz con papel Whatman N° 2 o similar. Los primeros 10 ml del filtrado son eliminados, y el resto se colecta en un nuevo vaso de precipitado limpio.
6. Colocar 5 ml del filtrado en cada uno de los dos tubos de ensayo de 18 mm x 150 mm, agregar al contenido de uno de los tubos de ensayo 5 ml de solución de bisulfito de sodio y al otro tubo de ensayo agregar 5 ml de agua destilada. El bisulfito de sodio destruye el HMF, por lo que el contenido del primer tubo se usa como solución de referencia para medir la absorbancia. El contenido del segundo tubo constituirá la solución de muestra a medir.

NOTA - Una vez agregado el bisulfito de sodio medir inmediatamente.

7. Colocar las soluciones en celdas de 1 cm y medir la absorbancia a 284 nm ( $A_{284}$ ) y 336 nm ( $A_{336}$ ), correspondiente a las longitudes de onda del espectro de luz UV.
8. Si la absorbancia de la solución de muestra es mayor de 0.6, diluirla con agua y diluir la solución de referencia con solución de bisulfito de sodio al 0.1% (0.1 g/100ml de agua) en la misma proporción y corregir la absorbancia para esta dilución.



### Expresión de resultados

Calcular la cantidad de hidroximetilfurfural (HMF) en la miel con los datos de absorbancia a 284 nm ( $A_{284}$ ) y 336 nm ( $A_{336}$ ), usando la siguiente fórmula:

$$\text{Hidroximetilfurfural (mg /100g)} = \frac{(\text{Abs}_{284} - \text{Abs}_{336}) \times 14.97 \times 5}{\text{P. muestra (g)}}$$

$$\text{Factor} = 14.97 = (126/16830) (1000/10) (100/5)$$

Dónde:

Peso molecular de HMF	= 126
Absortividad molar ( $\epsilon$ ) de HMF	= 16830 nm a 284 nm
mg/g	= 1000
centilitros/L	= 10
gramos (g) de miel informados	= 100
porción de ensayo nominal (g)	= 5

Los resultados son expresados en mg/Kg, con una cifra decimal.

### Precisión del método

La precisión de este método de análisis fue determinado por análisis estadístico de resultados de ensayos interlaboratorios y son válidos con gran probabilidad del 95% confianza.



**TABLA 05. RESULTADOS DE HMF EN EL ZUMO HIDROLIZADO (MÉTODO DE ESPECTROFOTOMETRÍA UV- AOAC 980.23)**

TRATAMIENTO	Peso de Muestra	nm	Abs	HMF	PROM. HMF (mg/kg)	DESV. EST
100°C x 6 hr	5.0000	284	0.025	1.796400	1.70	0.087
		336	0.013			
	5.0021	284	0.020	1.646009		
		336	0.009			
	5.0034	284	0.022	1.645581		
		336	0.011			
100°C x 8 hr	5.0038	284	0.024	2.094208	2.04	0.087
		336	0.010			
	5.0018	284	0.023	2.095046		
		336	0.009			
	5.0034	284	0.028	1.944778		
		336	0.015			
100°C x 10 hr	5.0013	284	0.048	4.489833	5.54	0.909
		336	0.018			
	5.0045	284	0.062	5.982616		
		336	0.022			
	5.0029	284	0.068	6.134142		
		336	0.027			
110°C x 6 hr	5.0030	284	0.121	14.063362	14.06	0.155
		336	0.027			
	5.0092	284	0.131	13.896530		
		336	0.038			
	5.0054	284	0.119	14.206157		
		336	0.024			
110°C x 8 hr	5.0057	284	0.192	18.990251	19.05	0.382
		336	0.065			



	5.0004	284	0.187	19.459443		
		336	0.057			
	5.0026	284	0.184	18.702775		
		336	0.059			
110°C x 10 hr	5.0016	284	0.169	20.951296	21.05	0.454
		336	0.029			
	5.0039	284	0.172	21.539999		
		336	0.028			
	5.0027	284	0.167	20.647450		
		336	0.029			
120°C x 6 hr	5.0009	284	0.596	74.686856	71.49	5.413
		336	0.097			
	5.0020	284	0.543	65.243103		
		336	0.107			
	5.0002	284	0.618	74.547618		
		336	0.120			
120°C x 8 hr	5.0066	284	0.597	77.442376	75.52	4.691
		336	0.079			
	5.0030	284	0.554	70.167200		
		336	0.085			
	5.0067	284	0.600	78.935826		
		336	0.072			
120°C x 10 hr	5.0015	284	0.612	75.575827	75.92	3.787
		336	0.107			
	5.0042	284	0.701	79.872707		
		336	0.167			
	5.0091	284	0.648	72.323172		
		336	0.164			

**Anexo 02.1.1: ANOVA factorial – Producción de Hidroximetilfurfural por hidrólisis térmica.**

**Variable dependiente: HMF**

**Factores:** Temperatura.  
Tiempo.

**Número de casos completos: 27**

**Tabla 06. ANOVA factorial de producción de HMF por hidrólisis.**

Variable dependiente: Hidroximetilfurfural (HMF).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	25524,008	8	3190,501	429,290	,000
Intra-grupos	133,777	18	7,432		
Total	25657,785	26			

**Tabla 07. Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Variable dependiente: Hidroximetilfurfural (HMF).

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	25524,008 <sup>a</sup>	8	3190,501	429,290	,000
Intersección	27334,653	1	27334,653	3677,943	,000
Tiempo	118,335	2	59,168	7,961	,003
Temperatura	25383,258	2	12691,629	1707,689	,000
Tiempo * Temperatura	22,415	4	5,604	,754	,568
Error	133,777	18	7,432		
Total	52992,438	27			
Total corregida	25657,785	26			

a. R cuadrado = .995 (R cuadrado corregida = .992)

**Tabla 08. Comparación de medias de HMF obtenido por hidrólisis térmica**

Hidroximetilfurfural (HMF)

HSD de Tukey <sup>a</sup>

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
1	3	1,7000		
2	3	2,0433		
3	3	5,5333		
4	3		14,0567	
5	3		19,0500	
6	3		21,0467	
7	3			71,4933
8	3			75,5167
9	3			75,9233
Sig.		,727	,100	,568

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000



## **Anexo 09:**

### **DETERMINACION DE GRADOS BRIX EN EL ZUMO HIDROLIZADO**

#### **❖ Determinación de Sólidos Totales (°Brix)**

##### **a) Principio del método**

Este método se basa en el cambio de dirección que sufren los rayos luminosos en el límite de separación de dos medios en los cuales es distinta la velocidad de propagación.

##### **b) Materiales y equipos.**

- Alcohol
- Éter de petróleo
- Bromo naftaleno
- Papel
- Refractómetro Abbé.

##### **c) Procedimiento**

Colocar el refractómetro en una posición tal que difunda la luz natural o cualquier otra forma de luz artificial, que pueda utilizarse para iluminación.

Hacer circular agua a 293 K (20°C) a través de los prismas. Limpiar cuidadosamente con alcohol y éter de petróleo el refractómetro antes de hacer la lectura. Para cargar el refractómetro abrir el doble prisma girando el tornillo correspondiente y poner unas gotas de muestra sobre el prisma, cerrar y ajustar finamente. Verificar la exactitud del refractómetro con agua a 293 K (20°C) a esta temperatura, el índice de refracción del agua es de 1.3330, o bien utilizar la placa de cuarzo que viene con el equipo, usando bromonaftaleno, al leer hacer las correcciones necesarias.

Mover el brazo giratorio del aparato hacia delante y hacia atrás hasta que el campo visual se divida en dos partes, una luminosa y otra oscura. La línea divisoria entre esas dos partes, se le conoce como "línea margen". Ajustar la línea margen y leer directamente el por ciento de sólidos en la escala °Brix.



d) **Expresión de Resultados**

Los resultados deben expresarse en grados °Brix, previa corrección por temperatura.

**Tabla 09. Resultados de °Brix en el zumo hidrolizado**

<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Tiempo (hr)</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>°Brix</i>	<i>Prom. °Brix</i>	<i>Desv. Estd</i>
100	6	T1	9.50	9.6667	0.29
100	6		10.00		
100	6		9.50		
100	8	T2	9.50	9.8333	0.29
100	8		10.00		
100	8		10.00		
100	10	T3	10.00	10.0667	0.06
100	10		10.10		
100	10		10.10		
110	6	T4	10.10	10.3000	0.20
110	6		10.50		
110	6		10.30		
110	8	T5	10.20	10.4000	0.17
110	8		10.50		
110	8		10.50		
110	10	T6	11.10	11.0000	0.10
110	10		10.90		
110	10		11.00		
120	6	T7	10.90	10.5333	0.35
120	6		10.50		
120	6		10.20		
120	8	T8	9.90	9.8000	0.26
120	8		10.00		
120	8		9.50		



120	10	T9	9.00	9.3333	0.29
120	10		9.50		
120	10		9.5		

**Anexo 02.1.1: ANOVA factorial – Producción de °Brix por hidrólisis térmica.**

**Variable dependiente: °Brix**

**Factores:** Temperatura.  
Tiempo.

**Número de casos completos: 27**

**Tabla 10. ANOVA factorial de producción de °Brix por hidrólisis.**

Variable dependiente: °Brix

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	6,196	8	,775	13,236	,000
Intra-grupos	1,053	18	,059		
Total	7,250	26			

**Tabla 11. Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Variable dependiente: °Brix

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	6,196 <sup>a</sup>	8	,775	13,236	,000
Intersección	2756,290	1	2756,290	47101,165	,000
Tiempo	,121	2	,060	1,032	,377
Temperatura	2,899	2	1,449	24,766	,000
Tiempo * Temperatura	3,177	4	,794	13,573	,000
Error	1,053	18	,059		
Total	2763,540	27			
Total corregida	7,250	26			

a. R cuadrado = .855 (R cuadrado corregida = .790)

**Tabla 12. Comparación de medias de los °Brix obtenido por hidrólisis térmica**

Variable dependiente: °Brix

HSD de Tukey<sup>a</sup>

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
9	3	9,3333				
1	3	9,6667	9,6667			
8	3	9,8000	9,8000	9,8000		
2	3	9,8333	9,8333	9,8333		
3	3		10,0667	10,0667	10,0667	
4	3		10,3000	10,3000	10,3000	
5	3			10,4000	10,4000	10,4000
7	3				10,5333	10,5333
6	3					11,0000
Sig.		,280	,088	,120	,358	,120

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.



## **Anexo 10:**

### **DETERMINACION DEL PH EN EL ZUMO HIDROLIZADO**

#### **❖ Determinación del pH**

##### **a) Principio del método**

Esta prueba se realizará principalmente en jugos y mermeladas, pero también en mieles de Agave.

##### **b) Materiales y equipos.**

Para realizar estas pruebas se hace necesario tener un laboratorio implementado con los siguientes materiales:

- Una bureta de 50 ml
- Vasos precipitados de 100 y 250 ml
- Un soporte.
- Un potenciómetro / pH-metro
- Agua destilada.

##### **c) Procedimiento**

Para determinar el valor del pH, se utilizará el potenciómetro calibrándose antes de cada determinación con las soluciones tampón 4 y 7. En el caso de que no se cuente con un potenciómetro esta determinación también puede realizarse utilizando papel indicador. La medición se realiza de forma directa introduciendo el potenciómetro en la muestra y leer directamente.

**Tabla 13. Resultados de pH en el zumo hidrolizado.**

<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Tiempo (hr)</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>pH</i>	<i>Prom. pH</i>	<i>Desv. Estd</i>
100	6	T1	4.69	4.5833	0.10
100	6		4.50		
100	6		4.56		
100	8	T2	4.58	4.5000	0.08
100	8		4.50		
100	8		4.42		
100	10	T3	4.42	4.4667	0.04
100	10		4.50		
100	10		4.48		
110	6	T4	4.50	4.4767	0.03
110	6		4.45		
110	6		4.48		
110	8	T5	4.38	4.4000	0.02
110	8		4.42		
110	8		4.40		
110	10	T6	4.35	4.3500	0.03
110	10		4.38		
110	10		4.32		
120	6	T7	4.30	4.3067	0.01
120	6		4.30		
120	6		4.32		
120	8	T8	4.28	4.2800	0.04
120	8		4.32		
120	8		4.24		
120	10	T9	4.28	4.2933	0.04
120	10		4.34		
120	10		4.26		



**Anexo 02.1.1: ANOVA factorial – Modificación del pH durante hidrólisis térmica.**

**Variable dependiente: pH**

**Factores:** Temperatura.  
Tiempo.

**Número de casos completos: 27**

**Tabla 14. ANOVA factorial de modificación del pH por hidrólisis.**

Variable dependiente: pH

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,272	8	,034	13,309	,000
Intra-grupos	,046	18	,003		
Total	,318	26			

**Tabla 15. Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Variable dependiente: pH

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	,272 <sup>a</sup>	8	,034	13,309	,000
Intersección	524,217	1	524,217	205426,138	,000
Tiempo	,035	2	,018	6,898	,006
Temperatura	,225	2	,112	43,996	,000
Tiempo * Temperatura	,012	4	,003	1,171	,357
Error	,046	18	,003		
Total	524,535	27			
Total corregida	,318	26			

a. R cuadrado = .855 (R cuadrado corregida = .791)

**Tabla 16. Comparación de medias del pH obtenido por hidrólisis térmica**

pH

HSD de Tukey<sup>a</sup>

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
8	3	4,2800			
9	3	4,2933			
7	3	4,3067			
6	3	4,3500	4,3500		
5	3	4,4000	4,4000	4,4000	
3	3		4,4667	4,4667	4,4667
4	3		4,4767	4,4767	4,4767
2	3			4,5000	4,5000
1	3				4,5833
Sig.		,151	,113	,328	,174

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.



**Anexo 11: Panel fotográfico de la investigación.**

Figura 25. Ejemplar maduro de *Agave americana L. variedad americana* (adaptación propia).

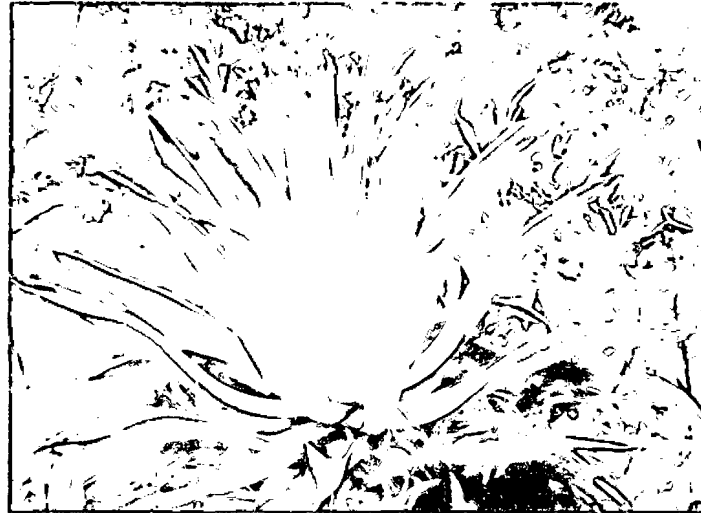


Figura 26. Acondicionamiento de la piña del *Agave americana L. variedad americana*. Foto A: Piña del maguey peruano. Fotos B, C: Trozado de las piñas. Foto D: Conservación en congeladora.

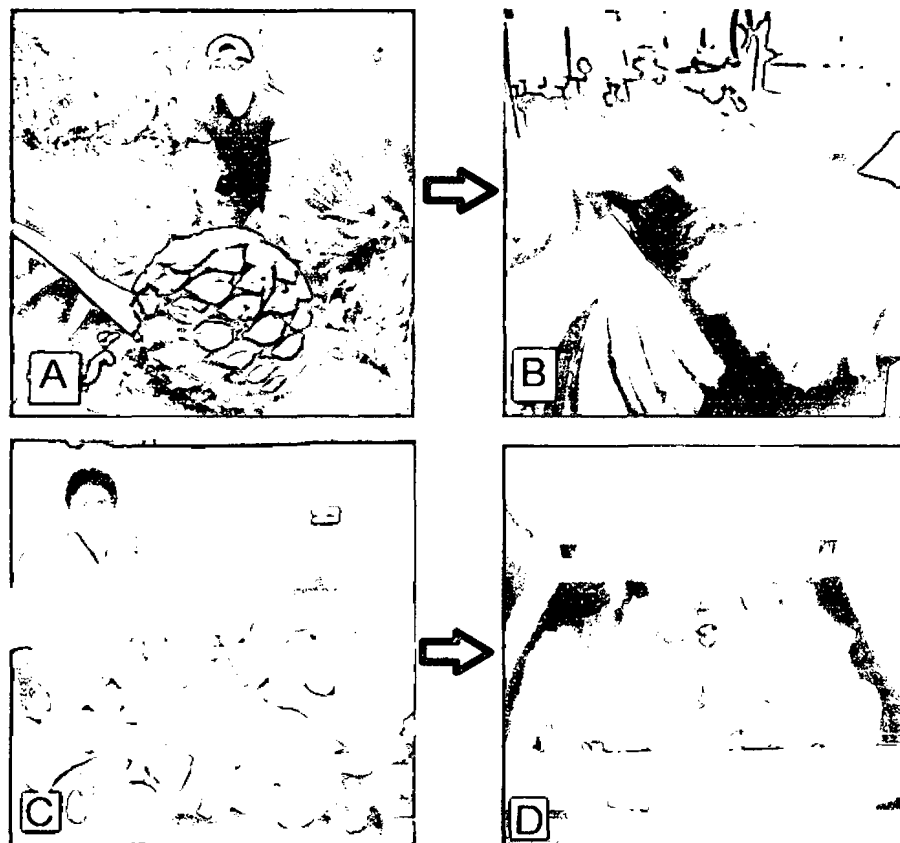
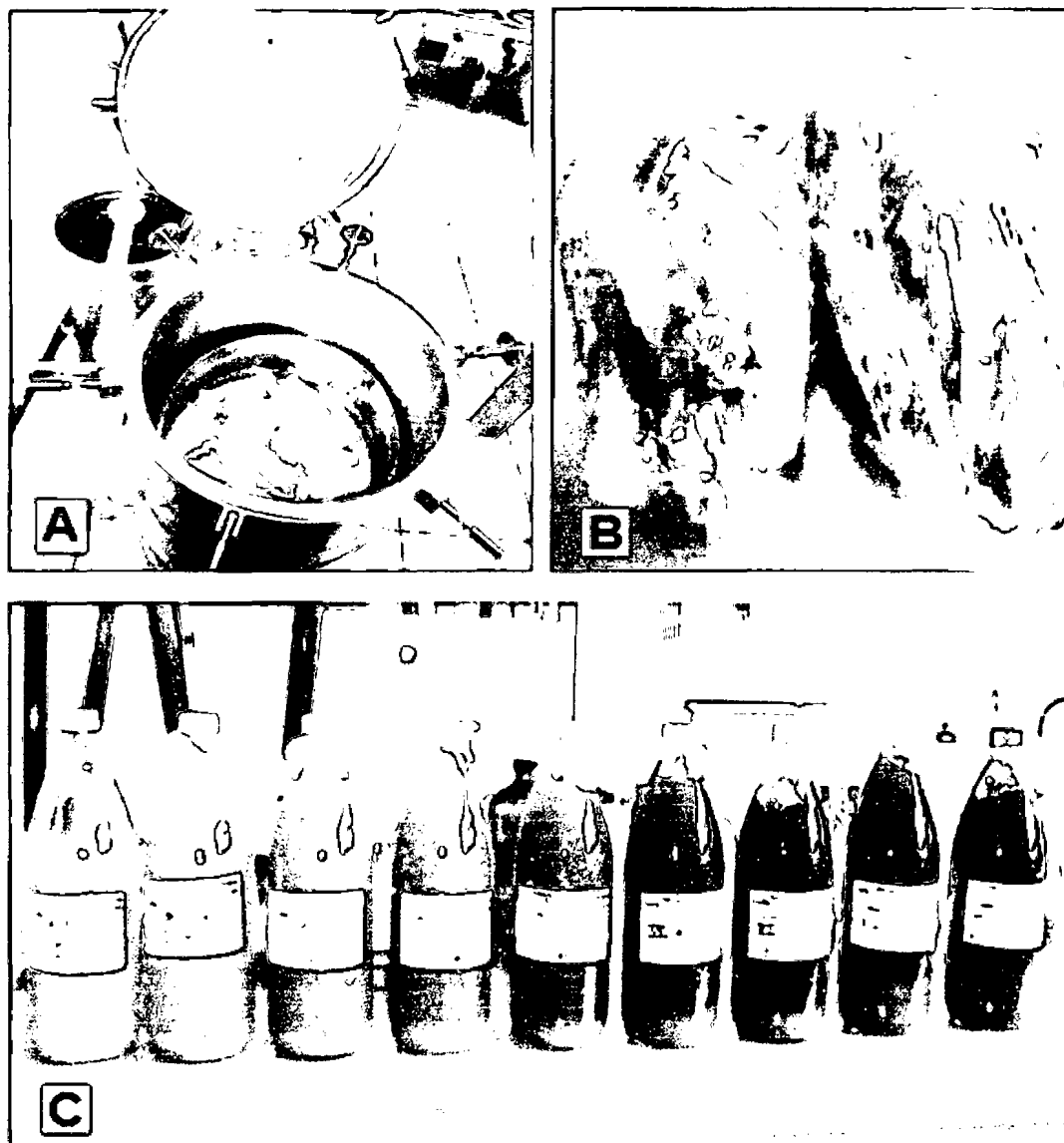


Figura 27. Obtención del jugo hidrolizado por hidrólisis térmica en autoclave.

Foto A: Uso de la autoclave vertical. Foto B: Trozos hidrolizados listos para su molienda.

Foto C: Jugo hidrolizado y filtrado de los 09 tratamientos.



**Figura 28. Análisis fisicoquímico del jugo hidrolizado del maguey.**

Foto A: Determinación del pH y °Brix. Foto B: Determinación de HMF.

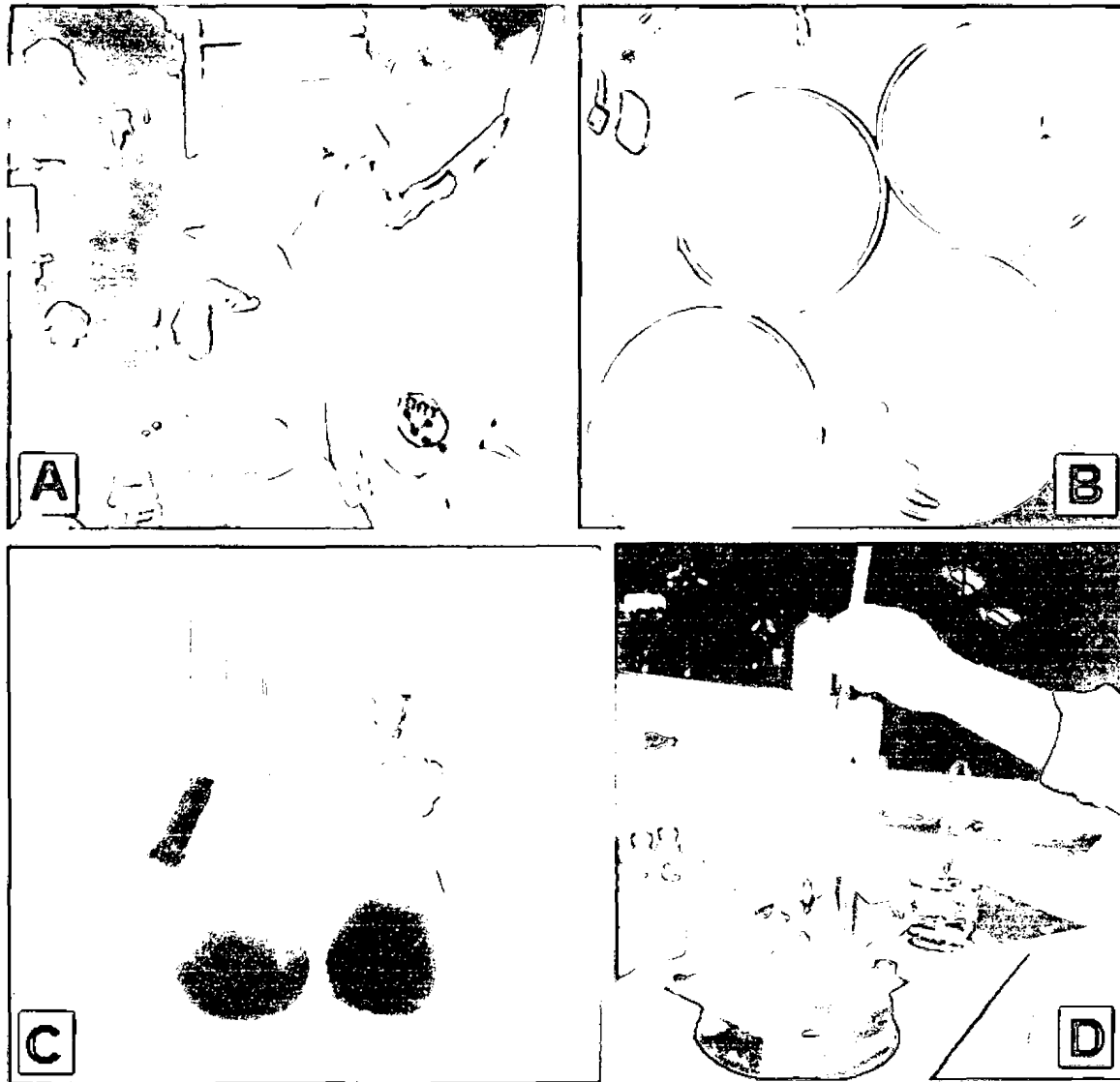
Foto C: Determinación de azúcares reductores. Foto D: Uso del Espectrofotómetro UV.



**Figura 29. Repique de levadura y control de la fermentación del jugo de maguey.**

Foto A y B: Repique y crecimiento de levadura *Sacharomyces albicans* B.

Foto C: Fermentación del mosto de maguey. Foto D: Análisis fisicoquímicos de la bebida fermentada.



**Figura 30. Destilación del mosto fermentado.**

Foto A: Equipo acondicionado de destilación primaria. Foto B y C: Destilación del mosto fermentado. Foto D: Pesado del picnómetro para determinar el grado alcohólico.

