

Tabla de contenido

Capítulo 1	1
1. Introducción.....	1
1.1. Antecedentes	1
1.1.1. Alimentos funcionales.....	1
1.1.2. Residuos lignocelulósicos.....	1
1.2. Motivación	2
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Objetivo general.....	3
1.3.2. Objetivos específicos.....	3
Capítulo 2.....	4
2. Marco teórico	4
2.1. Biomasa lignocelulósica.....	4
2.1.1. Industria y revalorización de residuos.....	4
2.1.2. Estructura química.....	4
2.2. Prebióticos xilo–oligosacáridos	6
2.2.1. Estructura química de los xilo–oligosacáridos	7
2.2.2. Beneficios para la salud humana	8
2.2.3. Compañías productoras y certificación	8
2.3. Producción de xilo–oligosacáridos	8
2.3.1. Producción en una etapa: autohidrólisis	9
2.3.2. Producción en dos etapas	9
2.3.2.1. Pretratamientos	10
2.3.2.2. Hidrólisis enzimática.....	11
2.4. Modelación de reacciones de hidrólisis enzimática.....	12
Capítulo 3.....	15
3. Metodología	15
3.1. Revisión bibliográfica	15
3.1.1. Hidrólisis enzimática de xilano.....	15
3.1.2. Metodologías experimentales.....	15
3.1.3. Modelos matemáticos para la simulación de reacciones de hidrólisis enzimática.....	16
3.2. Metodología experimental	16
3.2.1. Caracterización de Cellic HTec2.....	16

3.2.2.	Determinación de los parámetros cinéticos de Michaelis-Menten	18
3.2.3.	Estudio de la existencia de inhibición por xilosa	19
3.2.4.	Ensayo de adsorción de Cellic HTec2 sobre xilano	20
3.2.5.	Curva de progreso de la concentración de azúcares reductores	21
3.2.6.	Cuantificación de xilosa y xilobiosa por HPLC	21
3.3.	Modelación del proceso de hidrólisis enzimática	22
3.3.1.	Elección del modelo matemático	22
3.3.2.	Planteamiento del modelo matemático	22
3.3.3.	Implementación del modelo matemático	27
3.3.4.	Análisis estadístico de los parámetros	28
3.3.5.	Análisis de sensibilidad del modelo frente a los parámetros	29
Capítulo 4	30
4.	Resultados y discusión.....	30
4.1.	Caracterización del preparado enzimático Cellic HTec2	30
4.1.1.	Determinación de la actividad enzimática de Cellic HTec2	30
4.1.2.	Identificación del peso molecular de la endo-1,4-β-xilanasas de Cellic HTec2.....	32
4.1.3.	Análisis cromatográfico de Cellic HTec2 mediante intercambio aniónico ...	33
4.2.	Determinación de los parámetros cinéticos de la hidrólisis de xilano en fase líquida por Cellic HTec2.....	35
4.3.	Evaluación del potencial efecto inhibitor de la xilosa en la hidrólisis de xilano por Cellic HTec2	38
4.4.	Determinación de los parámetros de equilibrio de adsorción de la hidrólisis de xilano por Cellic HTec2	42
4.5.	Cuantificación de la producción de azúcares reductores por la hidrólisis de xilano por Cellic HTec2.....	44
4.6.	Cuantificación de la producción de xilosa y xilobiosa por la hidrólisis de xilano por Cellic HTec2	46
4.7.	Modelación de la hidrólisis de xilano por Cellic HTec2.....	48
4.7.1.	Determinación de los parámetros desconocidos del sistema	48
4.7.2.	Validación estadística de los parámetros determinados	55
4.7.3.	Sensibilidad del modelo frente a perturbaciones en los parámetros.....	56
Capítulo 5	57
5.	Conclusiones.....	57
Capítulo 6	60

6. Proyecciones futuras.....	60
Capítulo 7	61
7. Bibliografía	61
Capítulo 8.....	66
8. Anexos	66
8.1. Metodología: equipos y materiales.....	66
8.1.1. Equipos e implementos	66
8.1.2. Materiales	67
8.2. Metodología: cuantificación de proteínas totales por método de Bradford.....	68
8.2.1. Curva de calibración: método de Bradford	68
8.2.2. Cuantificación de proteínas totales.....	69
8.3. Metodología: ensayo de actividad enzimática.....	70
8.3.1. Curva de calibración: método DNS.....	70
8.3.2. Preparación buffer acetato de sodio	71
8.3.3. Preparación reactivo DNS	71
8.3.4. Cuantificación de la actividad enzimática	71
8.4. Metodología: electroforesis en gel de poliacrilamida.....	73
8.4.1. Composición gel de poliacrilamida	73
8.4.2. Composición buffer de carga denaturante 5X	73
8.4.3. Preparación buffer de corrida Tris-Glicina 10X.....	73
8.4.4. Composición de las soluciones de tinción y destinción	74
8.5. Resultados: curva de calibración método de Bradford	75
8.6. Resultados: curva de calibración de método DNS	76
8.7. Resultados: ensayo de actividad enzimática.....	77
8.7.1. Concentración de Cellic HTec2: 0,25 [ug/ml].....	77
8.7.2. Concentración de Cellic HTec2: 0,5 [ug/ml].....	78
8.7.3. Concentración de Cellic HTec2: 1 [ug/ml].....	79
8.7.4. Curvas de saturación por xilano de haya.....	80
8.8. Resultados: electroforesis en gel de poliacrilamida	81
8.9. Resultados: parámetros cinéticos de Michaelis-Menten para la fase líquida	82
8.9.1. Curva de progreso de azúcares reductores: xilano 2,5 [mg/ml].....	82
8.9.2. Curva de progreso de azúcares reductores: xilano 3,75 [mg/ml].....	83
8.9.3. Curva de progreso de azúcares reductores: xilano 5 [mg/ml].....	84
8.9.4. Curva de progreso de azúcares reductores: xilano 7,5 [mg/ml].....	85

8.9.5.	Datos diagrama de Lineweaver-Burk.....	86
8.10.	Resultados: estudio de inhibición por producto terminal	88
8.11.	Resultados: parámetros de equilibrio de adsorción	90
8.11.1.	Primera toma de muestras: 1:15 [h] de reacción.....	90
8.11.2.	Segunda toma de muestras: 3:45 [h] de reacción	91
8.11.3.	Tercera toma de muestras: 6 [h] de reacción	92
8.12.	Resultados curva de progreso de la concentración de azúcares reductores .	94
8.13.	Resultados: cuantificación de xilosa y xilobiosa por HPLC	96
8.13.1.	Curva de calibración xilosa.....	96
8.13.2.	Curva de calibración xilobiosa.....	97
8.13.3.	Cuantificación de xilosa y xilobiosa	98