

*Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
Facultad de Química-Farmacía
Ingeniería Química*



Trabajo de Diploma

*Obtención de jarabes glucosados a partir de sorgo mediante
hidrólisis enzimática*

Autora: Lisyaulén Rega López

Tutoras: Dra. Irenia Gallardo Aguilar
Msc. Leyanis Rodríguez Rodríguez

Curso: 2015-2016

Dictamen con derechos de autor para

Química-Farmacia



Hago constar que el presente trabajo fue realizado en la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas como parte de la culminación de los estudios de la especialidad de Ingeniería Química, autorizando a que el mismo sea utilizado por la institución, para los fines que estime conveniente, tanto de forma parcial como total y que además no podrá ser presentado en eventos ni publicado sin la autorización de la Universidad.

Firma del autor _____

Los abajo firmantes, certificamos que el presente trabajo ha sido realizado según acuerdos de la dirección de nuestro centro y el mismo cumple con los requisitos que debe tener un trabajo de esta envergadura referido a la temática señalada.

Firma del tutor _____

Firma del jefe del Departamento _____

"...es justamente la posibilidad de realizar un sueño lo que hace a la vida interesante"

Paulo Coelho

Dedicatoria

Con todo el amor del mundo dedico este trabajo a:

- ✓ *Mis padres porque sin el sacrificio que han hecho no hubiera sido posible llegar hasta aquí.*
- ✓ *Mis hermanas porque han sido el mejor ejemplo que he tenido en la vida y por todo el apoyo que me han dado tanto en los buenos como en los malos momentos.*
- ✓ *Mis abuelos por darme lo mejor de ellos constantemente.*
- ✓ *Mi tío Hubert porque a pesar de la distancia ha sabido acortarla en todo momento.*

Agradecimientos

- ✓ *A mis tutoras Leyanis Rodríguez e Irenia Gallardo, muy especial a esta última por el tiempo y el empeño que le puso a este trabajo, por darme aliento y demostrarme que a pesar de todo el trabajo que haya que pasar se puede ganar una batalla que se daba por perdida al principio.*
- ✓ *A una persona que hoy ya no está pero estoy segura que se alegra de haber hecho realidad uno de mis grandes sueños. Gracias por todo.*
- ✓ *A mis cuñados Diosvany y Daniel por ser lo que son conmigo, ojalá sepan lo que les agradezco todo lo que han hecho por mí y por esta carrera.*
- ✓ *A mi sobrina y sobrino porque han hecho mejores mis días desde que llegaron.*
- ✓ *A Yedier, porque a pesar de ser aún un estudiante aportó muchísimo a este trabajo con el gran conocimiento que tiene.*
- ✓ *A Yeni por su preocupación constante en este trabajo cuando los resultados no eran los que se esperaban, por darme aliento, ánimo y mucho de sus conocimientos.*
- ✓ *A todos los técnicos de laboratorio que aportaron diariamente su granito de arena, especialmente a Margarita, Cristina, Dayán y Edel.*
- ✓ *A todos los profesores del departamento por contribuir a mi formación en cada año de esta carrera.*
- ✓ *A mis compañeros de aula por ser cada uno muy especial para mí y hacer que estos cinco años hayan sido los mejores que he vivido hasta el momento. Gracias a Arianna, Mirialis, Maray, Pablo, Pedro, Jardany y Yoan por aguantarme cada día y compartir tantos momentos que nunca olvidaremos.*
- ✓ *A Diacny, Chabelis, Gabriela, Marlon, Yaisel, Yanier y Asiel, mis amigos cibernéticos, que a pesar de conocerlos no hace mucho ya son muy importantes en mi vida.*
- ✓ *A todas las amistades que he hecho en la universidad que de una forma u otra me han ayudado en algún momento determinado.*

A todos,

Muchas Gracias.

El sorgo es un cereal que por sus propiedades y características ha alcanzado gran auge en muchas partes del mundo. Actualmente para los jarabes glucosados que se producen en Cuba, en la Empresa Glucosa de Cienfuegos, utilizan maíz, cereal costoso y de importación, al cual primero se le extrae el almidón y después se elaboran los jarabes con la lechada de este. El estudio realizado partió de eliminar esta primera etapa y moler el sorgo, convirtiéndolo en harina, luego someterlo a un proceso de hidrólisis mediante el uso de las enzimas Bialfa T, para la licuefacción, y Glucozyme 2X para la sacarificación. Se usó un diseño experimental factorial multinivel del tipo 2^k , donde k representó el número de variables independientes a estudiar: relación sólido/líquido, concentración de Bialfa T y tiempo de sacarificación. Los resultados se procesaron en el Software Statgraphics Centurion XV obteniéndose que los valores óptimos de las variables respuestas analizadas: grados Bx, Azúcares Reductores Totales (ART) y Equivalente de Dextrosa se alcanzan usando una relación de sólido/líquido del 30%, 2 % p/p de concentración de Bialfa T y 48 horas de sacarificación. También se seleccionó el equipamiento para el proceso, realizándose un análisis económico con el objetivo de ver la factibilidad de obtener jarabes glucosados directamente del grano de sorgo, eliminando la etapa de extracción de almidón. Los resultados obtenidos arrojaron una ganancia de \$ 1 226 140,39 y un período de recuperación de la modificación de 0,4 años.

Palabras claves: sorgo, jarabes glucosados, licuefacción, enzimas, hidrólisis, sacarificación.

Sorghum is a cereal that by its properties and characteristics has reached boom in many parts of the world. Currently for the glucosados syrups produced in Cuba in the Company of Glucose of Cienfuegos, they use corn, a cereal with high cost and of importation, from which is extracted first the starch and the syrups are made with this slurry. The study started from the removal of this first stage and then grinds the sorghum, turning it in flour, and then subjecting it to a hydrolysis process using enzymes Bialfa T for liquefaction, and Glucozyme for the saccharification. It was used an experimental design multilevel factorial type 2^k , where the number of independent variables to study is represented by K: solid/liquid ratio, concentration of Bialfa T and time of saccharification. The results were processed in the software Statgraphics Centurion XV, obtaining that the optimal values of the response variables analyzed: degrees Bx, Total Reducing Sugars (ART) and Dextrose Equivalent are achieved using a solid/liquid ratio of 30%, 2 % w / w of concentration Bialfa T and 48 hours of saccharification. It was selected the equipment for the process, performing an economic analysis in order to see the feasibility of obtaining glucosados syrups directly from the sorghum grain, eliminating the step of extracting starch. The results showed a profit of \$ 1 226 140, 39 and a recovery period of modification of 0,4 years.

Key words: starch, glucosados syrups, extraction, enzyme, hydrolysis, saccharification.

Tabla de contenido

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.	4
1.1 SORGO. GENERALIDADES.	4
1.1.1 <i>Composición del sorgo.</i>	4
1.2 GENERALIDADES SOBRE EL ALMIDÓN.	6
1.2.1 <i>Estructura del almidón.</i>	7
1.2.2 <i>Gelatinización de las partículas de almidón.</i>	8
1.2.3 <i>Hidrólisis del almidón.</i>	10
1.2.3.3 <i>Hidrólisis enzimática.</i>	12
1.3 ALMIDÓN PRESENTE EN EL SORGO.	12
1.4 ENZIMAS UTILIZADAS PARA LA HIDRÓLISIS DEL ALMIDÓN.	13
1.4.1 <i>Amilasas.</i>	14
1.4.2 <i>Glucoamilasa</i>	15
1.5 JARABES GLUCOSADOS.	16
1.5.1 <i>Grados Brix.</i>	16
1.5.2 <i>Dextrosa Equivalente (DE)</i>	16
1.5.3 <i>Propiedades funcionales del jarabe de glucosa.</i>	17
1.5.4 <i>Aplicaciones de los jarabes glucosados.</i>	18
1.5.5 <i>Descripción del proceso de producción de jarabes glucosados por vía enzimática.</i>	19
1.6 CONCLUSIONES PARCIALES.	21
CAPÍTULO 2 DESARROLLO EXPERIMENTAL.	23
2.1 MATERIALES Y MÉTODOS PARA LA OBTENCIÓN DE JARABES GLUCOSADOS A PARTIR DE HARINA DE SORGO MEDIANTE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA.	23
2.1.1 <i>Determinación del poder enzimático de las enzimas Bialfa T y Glucozyme 2X.</i>	24
2.1.2 <i>Resultados de la prueba enzimática.</i>	24
2.1.3 <i>Obtención de los jarabes glucosados.</i>	25
2.1.4 <i>Diseño experimental para el proceso de obtención de jarabes glucosados.</i>	25
2.2 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE JARABES DESARROLLADO EN EL LABORATORIO.	27
2.3 DETERMINACIÓN DE LAS VARIABLES RESPUESTA.	28
2.3.1 <i>Grados Brix. (Método refractométrico)</i>	28
2.3.2 <i>Azúcares Reductores Totales (ART).</i>	28
2.3.3 <i>Equivalente de Dextrosa (ED).</i>	28
2.3.4 <i>Acidez.</i>	28
2.3.5 <i>Conductividad.</i>	29

2.3.6 pH	29
2.4 RESULTADOS DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE JARABES GLUCOSADOS.	29
2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL DISEÑO EXPERIMENTAL.	33
2.5.1 <i>Análisis del Brix.</i>	33
2.5.2 <i>Análisis de los ED.</i>	34
2.6 CARACTERÍSTICAS DE LOS JARABES OBTENIDOS A PARTIR DE LA HARINA DE SORGO COMPARADOS CON LOS DE ALMIDÓN DE SORGO ROJO Y MAÍZ.....	36
2.7 ANÁLISIS GENERAL DE LOS RESULTADOS EN LA OBTENCIÓN DE JARABES.	38
2.8 CONCLUSIONES PARCIALES.	39
CAPÍTULO 3 PROPUESTA TECNOLÓGICA. ANÁLISIS ECONÓMICO.....	42
3.1 SELECCIÓN DE LOS NUEVOS EQUIPOS A INSTALAR.	43
3.1.1 <i>Molinos para la obtención de la harina a partir del sorgo.</i>	43
3.1.2 <i>Selección de Intercambiadores de Calor tanto para calentar como para enfriar las soluciones.</i>	44
3.2 BALANCES DE MASA.....	45
3.3 BALANCES DE ENERGÍA.....	47
3.4 DISEÑO DE LOS INTERCAMBIADORES SELECCIONADOS.....	48
3.4.1 DISEÑO DEL INTERCAMBIADOR DE CALOR DE TUBO Y CONCHA PARA INACTIVAR LA ENZIMA.....	48
3.4.2 DISEÑO DEL INTERCAMBIADOR DE CALOR PARA ENFRIAR LA SOLUCIÓN LICUADA.....	52
3.5 ANÁLISIS ECONÓMICO DEL PROCESO.	57
3.5.1 <i>Análisis económico de la obtención de jarabes glucosados a partir de harina de sorgo.</i> 57	
3.5.2 ANÁLISIS ECONÓMICO DE LA PRODUCCIÓN DE JARABES GLUCOSADOS TENIENDO EN CUENTA LA EXTRACCIÓN DE ALMIDÓN.	61
3.6 CONCLUSIONES PARCIALES.....	61
CONCLUSIONES	63
RECOMENDACIONES.....	64
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
ANEXOS.....	68
ANEXO 1 PREPARACIÓN DE UNA SOLUCIÓN BUFFER DE ACETATO.	68
ANEXO 2 DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES TOTALES (ART).	69
ANEXO 3: DETERMINACIÓN DEL PODER ENZIMÁTICO DE LAS ENZIMAS BIALFA T Y GLUCOZYME 2X EMPLEADAS EN EL PROCESO.	70
ANEXO 4: DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ.	71
ANEXO 5: DETERMINACIÓN DE PH.....	72
ANEXO 6: ANÁLISIS DE VARIANZA Y EFECTOS ESTIMADOS DE CADA VARIABLE RESPUESTA EN LA OBTENCIÓN DE JARABES GLUCOSADOS.....	73

Introducción

El almidón de maíz siempre ha constituido la materia prima fundamental en la elaboración de jarabes glucosados. Sin embargo este cereal es caro y de importación. Este es uno de los motivos fundamentales por el que se han realizado investigaciones en busca de otra materia prima que presente las características suficientes para la sustitución y se continúe obteniendo un producto de alta calidad y aceptación por la población.

El sorgo es un cereal que contiene muchas propiedades beneficiosas, tolera la sequía y se utiliza tanto para la alimentación humana como animal. Posee una amplia variabilidad genética, lo que le permite cultivarlo para producir granos, azúcar y alcohol. Es el cereal que ocupa el quinto lugar en cuanto a superficie cosechada en todo el mundo. Se ha demostrado, que su cultivo es económicamente rentable, basado en su bajo costo de producción, dada sus características de rusticidad. Presenta características muy similares al maíz que indican que puede ser la materia prima ideal, su valor nutricional es parecido y su precio es inferior en el mercado.

El almidón es el principal carbohidrato y componente del sorgo, constituye aproximadamente el 70% del peso del grano seco. Está compuesto de 70-80 % de amilopectina y 20-30 % de amilosa, siendo influenciada esta proporción por factores ambientales y genéticos. Esta relación afecta sus propiedades físico-químicas y funcionales. El contenido de amilosa afecta fuertemente la gelatinización y la retrogradación, la viscosidad y la gelación al ser hidrolizado.

En el proceso productivo de los jarabes, lo primero que se realiza es la extracción del almidón del cereal que va a ser utilizado como materia prima y luego se somete al proceso de hidrólisis.

Partiendo de que el cereal que puede ser utilizado es el sorgo y que esta primera etapa puede ser eliminada obteniendo un producto que presente características adecuadas y tenga buena aceptación como el obtenido tradicionalmente se plantea el siguiente problema.

Problema científico

En el proceso de producción de jarabes glucosados actualmente se realiza primero la extracción del almidón del maíz, materia prima cara y de importación y luego se elabora el jarabe. El sorgo no es empleado en Cuba en procesos industriales, pero en estudios realizados en la UCLV se ha demostrado que el almidón de sorgo puede ser un buen

sustituto del maíz, para el logro de un producto de buena calidad, sin embargo no se ha estudiado obtenerlo directamente del grano, eliminando la etapa de obtención de almidón.

Hipótesis

Es posible la obtención de jarabes glucosados a partir de harina de sorgo sin tener que extraer el almidón previamente, si se ajustan los niveles de las variables principales en cada etapa del proceso.

Objetivo general

Obtener jarabes glucosados a partir de harina de sorgo por vía enzimática considerando las potencialidades de este cereal para la industria alimenticia.

Objetivos específicos

1. Establecer las variables que influyen en el proceso de obtención de jarabes glucosados mediante hidrólisis enzimática, optimizándolas en los rangos estudiados.
2. Comparar la calidad de los jarabes obtenidos a partir de harina de sorgo con los elaborados a partir del almidón de maíz y sorgo.
3. Realizar una propuesta tecnológica que pueda ser utilizada en la producción de jarabes glucosados por vía enzimática a partir de harina de sorgo.
4. Analizar la factibilidad técnico-económica que traería consigo la sustitución del maíz por el sorgo en la obtención de jarabes glucosados en la Empresa Glucosa de Cienfuegos eliminando además la etapa de extracción de almidones del proceso.

Capítulo 1

Capítulo 1. Revisión Bibliográfica.

1.1 Sorgo. Generalidades.

El sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) se conoce bajo varios nombres: mijo grande y maíz de Guinea en África occidental, kafir en África austral, duró en el Sudán, mtama en África oriental, iowar en la India y kaoliang en China (**Purseglove, 1972**). En los Estados Unidos se suele denominar milo o milo maíz. El sorgo pertenece a la tribu Andropogonae de la familia herbácea Poaceae. El género *Sorghum* se caracteriza por espiguillas que nacen a pares. Se trata como planta anual aunque es hierba perenne y en los trópicos puede cosecharse varias veces al año. El consumo total sigue muy de cerca las pautas mundiales de producción ya que la mayoría de este producto se consume en los países donde se cultiva. Se emplea con dos distintas finalidades: alimentación humana y piensos (**<http://www.fao.org>**).

Es el quinto cereal de mayor importancia en el mundo después del trigo, el arroz, el maíz y la avena. En África es empleado para la alimentación ecológica. Su buen comportamiento agronómico le concede favorables atributos: no es exigente a los suelos fértiles y es alelopático (**Chaviano, 2005**). Posee alto potencial de producción de granos y buenas perspectivas de contribución al desarrollo de la agricultura (**Pérez, 2009**). Sus granos son ricos en antioxidantes, tienen un aceptable valor proteico (similar al arroz y a la harina de trigo) y son altamente asimilables por el organismo humano al alcanzar hasta un 90 por ciento de digestibilidad (**<http://www.fao.org>**). Tolerancia al calor y la salinidad mejor que el maíz, y puede crecer en una amplia variedad de suelos con un aporte limitado de nutrientes (**Dendy D, 2001**). Al carecer de gluten y ser una fuente rica en vitaminas del complejo B, minerales y carbohidratos, ofrece una solución ante la creciente demanda de alimentos y bebidas para personas con enfermedad celíaca, considerado como un importante problema de salud en muchos países (**Malekzadeh R, 2005**). En algunos países desarrollados y otros que están en este proceso, el sorgo es utilizado con fines de comercialización, destinándose en su mayor parte para la alimentación de ganado, siendo subutilizado en otros tipos de industria (**Agricultura, 2015**). Al igual que el maíz, el sorgo después de ser cosechado y almacenado puede ser canalizado a tres grandes industrias molineras: molienda en seco, molienda húmeda y nixtamalización (**Serna, 2002**).

1.1.1 Composición del sorgo.

La composición química proximal del sorgo es casi idéntica a la del maíz, por lo que puede ser usado en su lugar para producir harinas, tortillas, almidón, jarabes y bebidas alcohólicas (**Rooney and Serna Saldívar, 2000**) citado en (**Serna, 2002**).

Tabla 1.1 Composición del grano de sorgo.

Sorgo Planta		
Porcentajes	Grano	Forraje
Materia seca	2,8	24,25
Carbohidratos	82	56,1
Proteínas	9,5	5,4
Grasas	2,9	4,4
Fibras	3,8	27,3
Minerales	1,8	2

Como puede notarse los carbohidratos son los más abundantes según lo que se reporta en esta fuente.

En la Tabla 1.2 se reportan las composiciones de los cereales más empleados en la producción de alimentos (**Rodríguez, 2010**) citado en (**Díaz, 2014**).

Analizando el sorgo, que constituye el material de estudio, en la literatura se reporta que en cuanto a las grasas se puede destacar que estas son del tipo poli saturadas. Dentro de los minerales que contiene se destaca el zinc y los minerales antioxidantes, muy importantes para el organismo. De las vitaminas se expone que solo las variedades que tienen un endospermo amarillo contienen vitamina A (**González, 2015**).

La composición del grano de sorgo, como se muestra en la tabla, viene regida en su mayoría por el almidón, compuesto por el cual se valora a este cereal para su posible uso en la industria de las bebidas, obteniéndose azúcares, al ser este degradado. Aunque también tiene algunas variedades de fenoles y taninos, que son sustancias que provienen de la formación de radicales libres y contribuyen a la aparición del cáncer, así como su elevado contenido de fibras (<http://www.ksgrains.com/sorghum/MiloMania>).

Tabla 1.2 Composición en por ciento de cereales utilizados en la producción de alimentos.

Contenidos	Maíz	Arroz	Sorgo	Trigo	Cebada
Humedad	10,9	12,0	11,7	11,1	10,6
Almidón	68,6	67,0	69,0	69,3	66,0
Proteína	10,0	7,7	10,4	0,2	13,0
Grasa	1,9	4,3	3,7	3,4	2,1
Fibra	3,4	2,3	1,9	2,2	5,6
Cenizas	0,2	0,3	0,4	0,4	2,7
Extracto	60,0	70,0	63,0	65,0	59,8
Materias nitrogenadas	5,0	0,4	1,7	1,7	1,6
Celulosa	3,6	2,0	2,0	2,0	2,0

1.2 Generalidades sobre el almidón.

Los almidones se encuentran almacenados en forma condensada como material de reserva de energía química en todas las plantas fotosintéticas. Este carbohidrato se almacena en las semillas, los tubérculos carnosos y las raíces con la finalidad de suministrar un alimento de reserva a los tejidos que se desarrollarán al crecer las plantas. Es sintetizado por estas al tomar dióxido de carbono del aire, el agua y la luz solar como fuente de energía produciendo glucosa ($C_6H_{12}O_6$) como intermediario (Ruiz, 2009). Es importante como constituyente de los alimentos en los que está presente, tanto desde el punto de vista nutricional como tecnológico. Es un polímero de cadena lineal o recta (Gerena, 2013). Como características del almidón se encuentra que es un polvo fino de color blanco, amorfo, de densidad $1,5 \text{ g/cm}^3$; es insoluble en agua, alcohol y éter. Al microscopio presenta formas y características definidas, con aproximadamente un 13% de humedad como máximo y un pH cercano a 6. El almidón natural necesita de la aplicación de calor para que se hidrate. El grado de hidratación depende del pH, temperatura y tiempo. Cuando se hidrata y se dispersa en H_2O caliente se forma un compuesto de color claro que tiene un sabor suave; cuando se enfría puede formar

un gel débil, si se calienta por tiempo prolongado y en condiciones ácidas, el almidón pierde su habilidad de espesante **(Morales and Sánchez, 2004)**.

1.2.1 Estructura del almidón.

Está compuesto por dos polímeros de diferente estructura: la amilosa y la amilopectina. Ambas son moléculas de alto peso molecular organizadas en gránulos semicristalinos **(Gerena, 2013)**.

1.2.1.1 Amilosa.

Es un polímero lineal que forma largas cadenas, formadas por unidades anhidras de glucosa, unidas mediante enlaces α -(1-4) (el carbono-1 de unidad de D-glucosa enlazado al carbono-4) Figura 1.1 a. tomada de **(Corradini, 2005)**. La mayoría de los almidones contiene entre un 20-30% de amilosa **(Birch and Green)** unida por átomos de hidrógeno por lo que es lipofílica, mientras que los grupos hidroxilos están situados en el exterior de la hélice haciéndolo hidrofílico. En los extremos, esta molécula polimérica de unidades de glucosa anhidra posee un hidroxilo primario y dos secundarios así como un grupo aldehídico reductor en la forma de hemiacetal, el cual es llamado extremo reductor de la molécula. El opuesto no reductor contiene un hidroxilo primario y tres hidroxilos secundarios y es, esta abundancia de grupos hidroxílicos, la que le imparte la propiedad hidrofílica a este polímero, sin embargo a causa de su linealidad y movilidad y los grupos hidroxilos, tiende a orientarse de forma paralela muy cercana entre sí permitiendo la formación de puentes de hidrógeno con los hidroxilos del polímero adyacente resultando en la reducción de la afinidad del polímero por el agua y la opacidad de la solución. La linealidad de la amilosa favorece la formación de fuertes películas debido a la asociación intermolecular, además de ser la responsable del fenómeno de retrogradación **(Wurzburg, 1987)**.

1.2.1.2 Amilopectina.

Constituye el 70-80% del almidón y es un polímero ramificado constituido de unidades de glucosa, unida mediante enlaces α -1-4(en su mayoría) y α -1-6(para las ramificaciones) Figura 1.1 b donde hay un punto de ramificación por cada 20-30 unidades de glucosa. El gran tamaño y la naturaleza de las uniones de amilopectina reducen la movilidad de los polímeros e interfiere con la tendencia de poder llegar a orientarse muy cercanamente entre ellas y permitir la formación de enlaces hidrógenos significativos. Por lo anterior, en la gelificación las soluciones acuosas de amilopectina son caracterizadas por estabilidad y

claridad, y las soluciones de amilopectina no forman películas tan fuertes y flexibles como la amilosa (Coopeland et al., 2009).

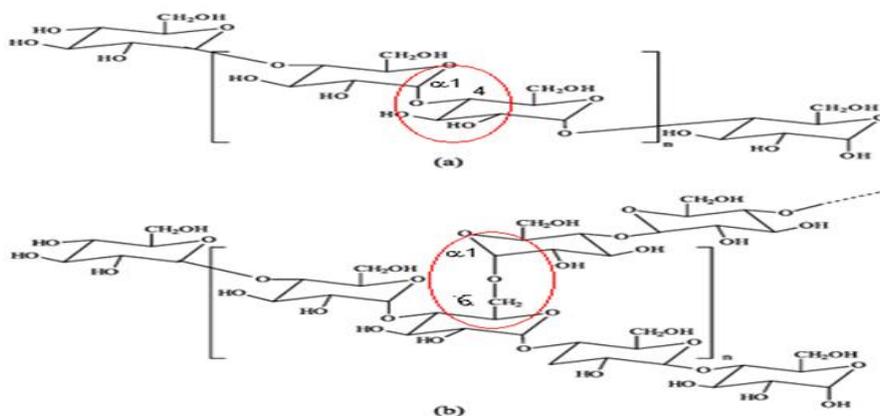


Figura 1.1 Estructura química de amilosa (a) y amilopectina (b)

A diferencia de la amilosa, la amilopectina no forma complejos con ácidos grasos o con alcoholes orgánicos y produce disoluciones helicoidales o micelares que dan una coloración rojo violácea con el yodo, debido a su poca afinidad (Lehninger, 1995)

Tabla 1.3 Propiedades de las macromoléculas del almidón

Propiedad	Amilosa	Amilopectina
Peso molecular	1-2 x 10 ⁵	> 2 x 10 ⁷
Grado de polimerización	990	7200
Ligamentos glicosídicos	α - D (1 - 4)	α - D (1 - 6)
Estructura molecular	Básicamente lineal	Muy ramificada
Susceptible a la retrogradación	Alta	Baja
Afinidad don el yodo	20.1 g/100 g	1.1 g/100 g

Fuente: (Ruiz, 2009)

1.2.2 Gelatinización de las partículas de almidón.

Antes de que las partículas de almidón puedan ser hidrolizadas estas tienen que pasar por un proceso de gelatinización, es decir, las moléculas tienen que ser dispersas dentro de la solución. Este constituye un tratamiento hidrotérmico que facilita la acción enzimática y química dado que en su estado nativo presentan resistencia a estos dos procesos y poseen baja capacidad de embeber agua. Cuando una suspensión que presenta almidón es

Capítulo 1 Revisión Bibliográfica

calentada a temperaturas mayores a 55°C, la naturaleza semi-cristalina de los gránulos se vuelve totalmente amorfa y las moléculas de agua alrededor de los gránulos alcanzan un nivel energético suficiente para disociar los enlaces de hidrógeno que mantiene ordenadas las cadenas moleculares de las dobles hélices en el interior del gránulo por lo que se hinchan irreversiblemente superando varias veces su propio peso aumentando la viscosidad y perdiendo las propiedades de birrefringencia de los gránulos (Knorr et al., 2006). Cuando estas pastas o engrudos se dejan enfriar o son almacenados se produce un fenómeno conocido como retrogradación el cual es la formación de un precipitado (cristalización) según sea el origen o la concentración de almidón debido a la asociación lenta de las moléculas de amilosa (Sanchez López, 2002).

El grado de gelatinización es un parámetro importante que se ve afectado por la temperatura, la presión, la concentración de almidón y el tiempo de tratamiento. Aparte de la temperatura, la gelatinización también se inicia por altas presiones hidrostáticas, aunque la degradación de los gránulos sucede de diferente manera, por lo que la viscosidad suele ser menor que después del tratamiento con calor, debido que los gránulos de almidón se mantienen intactos en su mayoría y la amilosa solubiliza pobremente (Knorr et al., 2006).

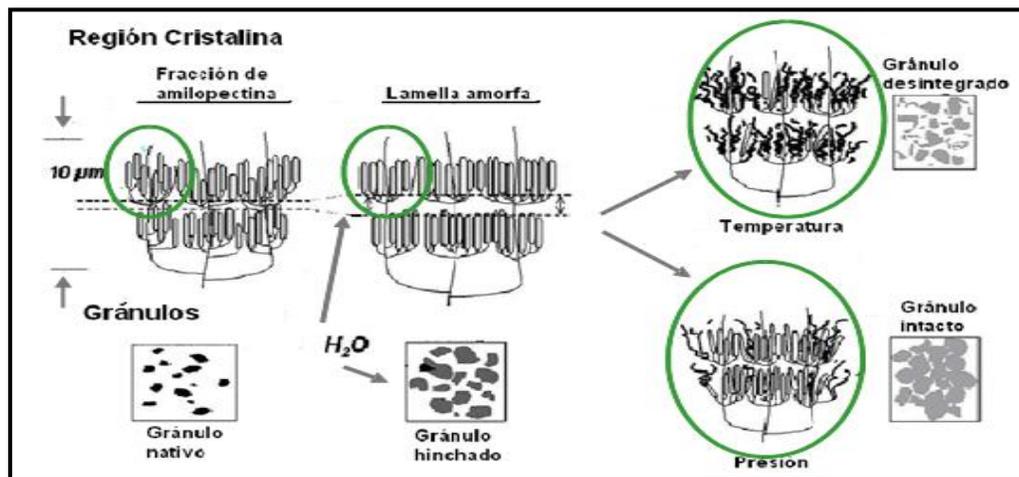


Figura 1.2 Esquema de gelatinización del almidón.

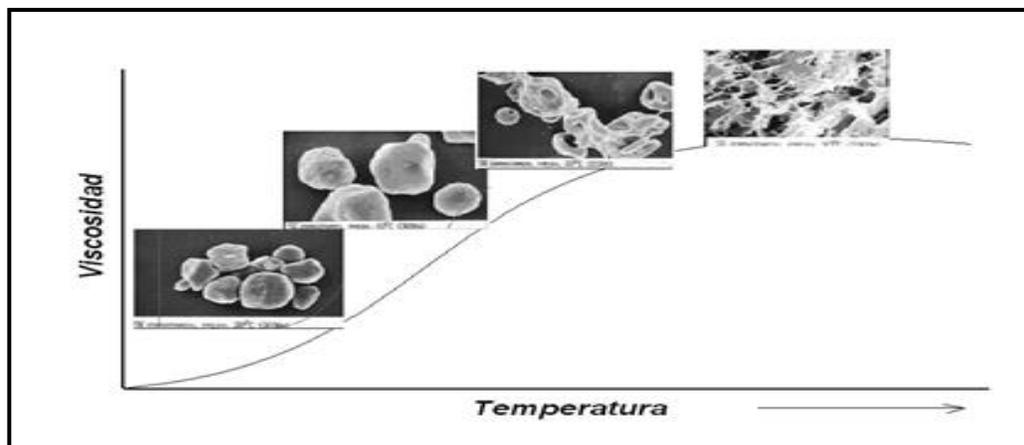


Figura 1.3 Cinética de gelatinización de los granulos de almidón.

1.2.3 Hidrólisis del almidón.

El término hidrólisis se aplica a las reacciones químicas orgánicas o inorgánicas donde el agua efectúa una doble descomposición con otro compuesto, el hidrógeno va a un componente y el hidroxilo al otro (**Nagodawithana and Reed, 1993**). La destrucción controlada de las cadenas poliméricas o hidrólisis del almidón, a través de soluciones ácidas o catalizadas por enzimas, dan lugar a la formación progresiva de moléculas de maltosa, glucosa, dextrinas y otros azúcares.

La reacción de hidrólisis del almidón es endotérmica y de primer orden. Se debe controlar la temperatura para evitar la formación de sustancias indeseables por reacciones laterales. La constante de la velocidad de reacción sigue la ley de Arrhenius. La constante de reacción decrece a medida que la reacción progresa, una explicación de la disminución progresiva de K , está en que la reacción avanza desde los enlaces terminales, más fácilmente hidrolizables hacia los enlaces internos (**Ordúz and Vergel, 1987**). La temperatura no es la única variable de gran peso en este proceso, sino que existen otras como el pH, la concentración de la enzima, la concentración del sustrato, el tiempo de reacción y la concentración de iones metálicos según lo reportado por (**Fernández, 2002**).

Los productos hidrolizados se identifican por el tipo de hidrólisis usado en su fabricación; industrialmente se utilizan tres tipos: hidrólisis ácida, hidrólisis enzimática e hidrólisis ácido-enzimática.

Tabla 1.4 Historia de hidrólisis de almidón para la producción de glucosa.

Época	Materia prima Almidón 30-45% materia seca
Hasta los 50	Acidificación (HCl pH=1,5) Hidrólisis (T= 150°C a presión) DE=función del tiempo de hidrólisis Con 45 min: DE= 90 con 86% glucosa
Hasta los 60	Acidificación (HCl pH=1,5) Hidrólisis (5-10 min, T=150°C-DE=12 a 20 Reacción con AMG (pH=4-4,5 T=60°C por 3 días) Jarabe de glucosa: DE=90-92
Entre los 60 y 70	Licuefacción con α -amilasa (pH=5,5-7 T=70-90°C) DE=20-30 Sacarificación con AMG(pH=4-4,5 T=60°C 48-100h) Jarabe de glucosa: DE=96-98 (92-96% glucosa)
Después de los 70	Licuefacción con α -amilasa termorresistente (6 min a 105°C, 2 h a 95°C) -DE=8-12 Sacarificación con AMG (pH=4-4,5 T=60°C 48-100 h) Jarabe de glucosa: DE=96-98 92-96% glucosa

1.2.3.1 Hidrólisis ácida.

Las moléculas de almidón tratadas con ácidos en caliente se rompen en cadenas cortas de dextrinas. El porcentaje de degradación depende de la concentración del ácido, la temperatura y el tiempo de hidrólisis. Los ácidos más utilizados para la producción de dextrinas son el ácido clorhídrico, el ácido nítrico y el ácido sulfúrico. Los productos de degradación son principalmente jarabes de glucosa, el hidroximetilfurfural, el ácido levulónico y el ácido fórmico, que da al jarabe un sabor amargo (www.fedebiocombustibles.com/docs/BIOETANOL20%PPT_pdf., 2008).

Este sistema es aplicable cuando se desea conseguir productos en un rango de DE de 20-58. Aquí la hidrólisis puede efectuarse de forma continua o discontinua, se utilizan convertidores continuos porque son más eficientes, permiten mejor control de DE, minimizan la formación de color en los productos de conversión y se reduce enormemente el tiempo de operación (**Whistler Roy and Paschall Eugene, 1984**).

1.2.3.2 Hidrólisis ácido-enzimática.

En 1940, un proceso de conversión dual ácido-enzima fue patentado, abriendo una nueva era en la producción del jarabe convencional. Este esquema utiliza una combinación

Capítulo 1 Revisión Bibliográfica

ácido – enzima para el rompimiento de los enlaces y transformación a glucosa, con el fin de evitar los agregados insolubles indeseables que tienen gran tendencia a formarse en la catálisis con ácido y obtener dextrinas con baja higroscopicidad y alta solubilidad en agua. En resumen, mediante el tratamiento ácido, hay más conversión a glucosa pues se obtiene un hidrolizado con una DE de 42, mientras que durante el proceso de licuefacción se obtienen hidrolizados con una DE menor a 20. El tratamiento enzimático que le sigue, es una sacarificación con el fin de hacer una conversión más completa. Este proceso involucra, tanto el uso de ácidos (clorhídrico o sulfúrico), como el empleo de enzimas para licuefacción y sacarificación (la amilasa y amiloglicosidasa). Una vez prehidrolizado el almidón se le adiciona álcalis que ajusten el pH a las condiciones requeridas por la enzima encargada de finalizar la licuefacción, para finalmente pasar a tanques de sacarificación **(Whistler Roy and Paschall Eugene, 1984)**. Al comparar los dos tipos de hidrólisis se encuentra la gran ventaja de la hidrólisis enzimática sobre la ácida. Esto se debe, primordialmente, a que las enzimas son específicas para un tipo de enlace (selectividad), por lo cual, no es usual la aparición de productos de degradación; caso contrario sucede con la hidrólisis ácida, en la cual, el poco control y la selectividad pobre ocasionan la aparición de productos de degradación, inclusive tóxicos. Otra ventaja son los rangos moderados de condiciones como temperatura y pH en los que transcurre la hidrólisis enzimática (pH=4-8; T=40-60°C). Además, no se presentan sustancias extrañas añadidas como en el caso de la hidrólisis ácida para la neutralización (presencia de sales) **(Guadix et al.)**.

1.2.3.3 Hidrólisis enzimática.

Este proceso llevado a cabo por enzimas tiene por objeto la transformación de las materias primas amiláceas en azúcares. Ellas pueden encontrarse en la saliva, los jugos pancreáticos, las células de la sangre, las semillas, los granos de muchas plantas, en hongos y bacterias. Estas se dividen en dos clases formalmente conocidas como Exo y Endo-enzimas **(Sanchez López, 2002)**.

1.3 Almidón presente en el sorgo.

Desde los años 50 el sorgo se ha visto como una alternativa para sustituir al maíz en la producción de almidón. Sin embargo, el grano de sorgo presenta varias desventajas, como son la presencia de endospermo periférico que actúa como una barrera contra la penetración de la solución de remojo, una matriz proteica más dura y entrecruzada que rodea los gránulos de almidón y la contaminación del almidón con pigmentos fenólicos presentes en el

Capítulo 1 Revisión Bibliográfica

pericarpio, testa y tejido de la aleurona. Varios investigadores han encontrado que el sorgo rinde aproximadamente 10% menos almidón que el maíz suave dentado y han demostrado que con el uso de enzimas proteolíticas y degradadoras de fibra se puede bajar significativamente el requerimiento de remojo en SO₂ (dióxido de azufre) sin sacrificar rendimientos de almidón. Una vez refinado el almidón de sorgo se puede usar intercambiabilmente con el de maíz porque ambos tienen propiedades viscoamilográficas casi idénticas. Los almidones de genotipos cerosos (95% o más de amilopectina) tienen usos industriales muy especiales debidos primordialmente a su baja tasa de retrogradación **(Serna Saldívar, 1997)**. Con unos valores que van del 56 al 73 por ciento, el contenido medio de almidones del sorgo es del 69,5 por ciento **(Jambunathan and Subramanian, 1998)**. Alrededor del 70-80 por ciento del almidón del sorgo es amilopectina mientras que el restante 20-30 por ciento es amilosa **(Deatherage et al., 1955)**. Factores tanto genéticos como ambientales influyen en el contenido de amilosa del sorgo **(Ring et al., 1982)**. El sorgo ceroso o glutinoso es muy pobre en amilosa y su almidón consiste prácticamente en un 100 por ciento de amilopectina. Ahora bien, en el sorgo azucarado el contenido de amilosa del almidón es de un 5 a un 15 por ciento superior al del sorgo normal **(Singh and Axtell, 1973)**. El contenido total en carbohidratos del sorgo azucarado es normal pues contiene unos niveles extraordinariamente elevados de polisacáridos hidrosolubles (29,1 por ciento). Para el almidón aislado de cultivos de sorgo, los valores del almidón digestible oscilan del 33 al 48 por ciento frente al 53 al 58 por ciento de los almidones de maíz **(Sikabbubba, 1989)**. La textura del endospermo del grano, el tamaño de las partículas de la harina y la digestibilidad del almidón guardan una fuerte correlación entre sí. En comparación con el grano córneo, el almidón en el sorgo harinoso resulta más digerible. En el sorgo harinoso molido, el tamaño de las partículas es menor que en el tipo de sorgo córneo también molido. El tamaño menor de las partículas y la menor superficie favorecen la acción enzimática, mejorando así la digestibilidad del almidón.

La presencia de taninos en el grano es otro factor que contribuye a la mala digestibilidad del almidón en algunas variedades de sorgo **(Dreher et al., 1984)**. Está demostrado que los taninos aislados del grano de sorgo inhiben una Xamilosa enzimática y por tanto están enlazados a los almidones del grano en diversos grados **(Davis and Hosney, 1979)**.

1.4 Enzimas utilizadas para la hidrólisis del almidón

Las enzimas son proteínas (polipéptidos) que contiene cientos de residuos aminoacídicos que actúan como catalizadores efectivos en procesos tanto biológicos

Capítulo 1 Revisión Bibliográfica

como industriales, pero son pocos los que están directamente relacionados en la interacción con el sustrato o con la catálisis de la reacción (**Mera et al., 2003**).

Algunas de las generalidades de las enzimas son:

Estabilidad: La desnaturalización o alteración por algún factor se traduce en una pérdida total o parcial de su actividad la cual puede llegar a ser irreversible dependiendo del tipo de estructura que sea desnaturalizada. Un aumento de la temperatura en la enzima se traduce en un aumento de la energía vibracional que puede provocar la ruptura de los puentes de hidrógeno y la destrucción de las interacciones apolares. La disminución de la fuerza iónica del medio también afecta la estabilidad de la enzima porque disminuyen las interacciones enzima-solvente y se incrementan las interacciones iónicas intracadena que pueden desestabilizar su estructura. El pH afecta fuertemente la estabilidad debido a que la carga de los residuos aminoacídicos de la proteína depende de la concentración de protones en el medio, valores de pH que provoquen acumulación de las cargas (negativas o positivas por encima o por debajo del punto isoeléctrico) pueden provocar desestabilización de la estructura de la enzima debido a las fuerzas de repulsión.

Actividad: La capacidad catalítica o actividad es la propiedad esencial de una enzima. Desde el punto de vista termodinámico, la enzima como todo catalizador actúa disminuyendo la magnitud de la energía de activación que requiere una reacción de transformación de sustrato a producto. La capacidad catalítica reside en el centro activo el cual es una estructura compleja cuya configuración permite ubicar la molécula de sustrato en la posición correcta para que los grupos funcionales de la enzima efectúen su transformación química resultando así clara la relación entre funcionalidad biológica y estructura tridimensional.

Especificidad: Una de las propiedades más sobresalientes de las enzimas como catalizadores es su alta especificidad respecto al sustrato, razón por la cual esta debe poseer los enlaces químicos que pueden ser atacados por los grupos funcionales del centro activo de la enzima permitiendo su correcta ubicación en él para que la reacción tenga lugar (**Illanes, 1994**).

1.4.1 Amilasas.

Desdoblan los enlaces α -(1-4) del almidón en varios azúcares dentro de los que se encuentran la glucosa y la maltosa; se caracterizan por la facilidad de fragmentación de los almidones en dextrinas reductoras que no dan color con el yodo (**Ochoa and Herazo,**

Capítulo 1 Revisión Bibliográfica

2008). Existen tres tipos de amilasas que se utilizan en el proceso de licuefacción: la de *Bacillus amyloliquefaciens*, la de *Bacillus liqueniformis* (bacterianas) y la *Aspergillus oryzae*. Estas se diferencian por su termoresistencia, siendo la *B. liqueniformis* la más estable con una temperatura óptima de 90°C (dando como productos: maltosa, maltotriosa, maltopentosa) contra 70°C de la *B. amyloquifaciens* (dando como producto: maltohexosas), finalmente, la última de las enzimas se utiliza cuando el propósito es producir jarabes de maltosa siendo el disacárido de mayor producción (**Illanes, 1994**).

1.4.1.1 Bialfa T.

Es una enzima amilolítica líquida 1,4-a-D-glucan-4-glucanohidrolasa de calidad alimentaria, producida por fermentación sumergida del *Bacillus licheniformis*. Hidroliza al azar los enlaces glucosídicos alfa-d-1,4 del almidón produciendo dextrinas solubles y oligosacáridos. Es extremadamente termoestable, su actividad aumenta con la temperatura y alcanza un máximo en el rango de 95-105°C y actúa bien a niveles bajo de pH que estén en el rango de 5 y 7. Para el caso concreto del uso para licuación del almidón, un pH de 5,5 es compatible con temperaturas altas como 108 °C durante cortos períodos. También se conoce que esta enzima contiene calcio fuertemente ligado, por lo que pequeñas cantidades adicionales de calcio estabilizan aún mejor la enzima a temperaturas por encima de 60°C. Niveles de material seca del 20 al 40% no tienen especial efecto en la estabilidad de la alfa-amilasa, por debajo del 20% la estabilidad puede disminuir ligeramente. (**Lehninger, 1995**).

1.4.2 Glucoamilasa

Dentro de estas se encuentran las de *Aspergillus Níger* y las de *Rhizopus* sp, siendo más frecuente el uso de la primera. La amiloglucosidasa α -(1-4) glucan- glucosidasa actúa como un exo-catalizador de la hidrólisis de enlaces α -(1-4) glucosídicos y debido a su bajo grado de especificidad en enlaces α -(1-3) y α -(1-6) glucosídicos, su accionar es más lento en la producción de moléculas de glucosa (**Morales et al., 2008**).

1.4.2.1 Glucozyme 2X

Glucozyme 2X es una enzima amiloglucosidasa, producida por la fermentación de una cepa seleccionada de *Aspergillus níger*. Es del grupo de las exo-1,4-alfa-glucosidasa (1,4D-Glucan glucanohidrolasa) que cataliza la liberación de sucesivas unidades de glucosa a partir del final de las cadenas de almidón licuado. Puede hidrolizar tanto las ramificaciones alfa-D-1,6 como los enlaces poliméricos alfa-D-1,4 del almidón. En cuanto a la temperatura,

en ensayos efectuados a pH=4,3 y a diferentes temperaturas se encontró que la actividad óptima radica entre 65 y 70°C, sin embargo para periodos prolongados se recomienda 60°C **(Velamar, 2013)**.

1.5 Jarabes glucosados.

Los jarabes de D-glucosa son una mezcla entre una solución acuosa de D-glucosa, maltosa y otros oligosacáridos llamados Dextrinas. Cabe señalar que en la industria y en gran parte de la literatura especializada, se llaman jarabes glucosados a hidrolizados a partir de una DE de 20 (aunque estos tengan muy bajos contenidos de glucosa). A menudo se incurre en el error de pensar que dicho jarabe contiene 20% de glucosa, pero de acuerdo con la definición, debe entenderse como un jarabe que presenta un poder reductor similar al de una solución con 20% de glucosa **(García et al., 1993)**. Las características de los jarabes se obtienen según las condiciones de hidrólisis y el medio utilizado para dicha hidrólisis **(Sanchez López, 2002)**. No todos los jarabes de glucosa son iguales y existen algunos parámetros que se deben tener en cuenta a la hora de seleccionar jarabes de glucosa para una aplicación específica, como son: el contenido de sólidos Brix y la dextrina equivalente DE.

En la facultad de Química de la Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Cuba **(Nieblas 2015)** se trabaja en la sustitución del almidón de maíz por almidón de sorgo, obtenido en una prueba industrial en la empresa Glucosa de Cienfuegos. Se trabajó con niveles de concentración Sólido/Líquido, de concentración de enzimas Alfa Amilasa y Amiloglucosidasa y tiempos de acción de estas en el rango reportado en la literatura y con los que se trabaja en la empresa con maíz, obteniéndose resultados alentadores de calidad en cuanto a Brix y ED, en el rango de las variables estudiadas.

1.5.1 Grados Brix

Se define como la concentración de sólidos solubles y es una medida de la densidad, así 1°Brix, es la densidad a 20°C, de una solución de sacarosa al 1% **(Blanco, 2002)**.

1.5.2 Dextrina Equivalente (DE)

Indicativo del contenido de azúcares reductores de un edulcorante, calculado como dextrina y expresado como porcentaje de los sólidos totales **(Brautlecht, 1953)**. La DE representa el porcentaje de hidrólisis de los enlaces glucosídicos presentes. La glucosa pura tiene una DE de 100, y el almidón tiene una DE igual a cero. Durante la hidrólisis

Capítulo 1 Revisión Bibliográfica

del almidón, la DE indica qué tanto el almidón ha sido desdoblado. Otra definición utilizada generalmente es el porcentaje en peso de glucósidos reductores expresados como D-glucosa presentes en el jarabe con respecto al peso de los sólidos totales de oligosacáridos en base seca (**Sanchez López, 2002**).

1.5.3 Propiedades funcionales del jarabe de glucosa.

Poder edulcorante: Por ser la glucosa ligeramente dulce regula el poder edulcorante en productos alimenticios. Normalmente un jarabe con 40% de Equivalente de Dextrosa tiene un poder edulcorante de 40-45% en relación con la sacarosa.

Control de cristalización: Evita el reordenamiento de los cristales de sacarosa en la producción de confitería, bebidas y jarabes, ampliando el tiempo de vida útil de los productos elaborados.

Poder reductor: Previene la oxidación, manteniendo de esta forma la estabilidad de color y brillo en productos envasados como jugos, licores y conservas en general.

Poder Humectante: Contribuye a mantener la humedad retardando el resecamiento de productos como golosinas de chocolates, carnes procesadas, productos de panadería y pastelería. La facilidad de humectancia de los carbohidratos está directamente relacionada con su carácter hidrófilo debido a que forma puentes de hidrógeno con las moléculas de agua.

Poder Conservante: Funciona como conservante en alimentos, ya que aumentan la presión osmótica del sistema de tal manera que los microorganismos no pueden crecer. En el caso de las mermeladas y productos similares, los jarabes ayudan al proceso de gelificación de las pectinas, y además causan una deshidratación al absorber agua que trae como consecuencia la inhibición de microorganismos.

Aporte de viscosidad: Aporta viscosidad contribuyendo a mejorar la textura en productos como licores, rellenos de confitería, rellenos de panadería; en lácteos como helados y yogurt.

Poder energético: Forma parte de la formulación de alimentos infantiles, contribuyendo en el balance energético. Aporta alrededor de 4 calorías por gramo (**Morales and Sánchez, 2004**).

Tabla 1.5 Relación entre los valores de dextrosa equivalente y algunas de las propiedades funcionales de los jarabes.

Propiedades	Valor de DE	
	Bajo	Alto
Dulzor	—————→	
Higroscopicidad	—————→	
Depresión del punto de congelación	—————→	
Elevación del punto de ebullición	—————→	
Presión osmótica	—————→	
Reacción de pardeamiento	—————→	
Fermentabilidad	—————→	
Potenciación del sabor	—————→	
Viscosidad	←—————	
Inhibición de la cristalización	←—————	
Agente de cuerpo	←—————	
Estabilizador de espuma	←—————	

Fuente: (Nieblas Morfa, 2015)

1.5.4 Aplicaciones de los jarabes glucosados.

El jarabe de glucosa es un sustituto viable del azúcar. Puede ser usado junto con una variedad de sustancias sólidas secas, sin que afecte otros parámetros importantes tales como el poder edulcorante, contenido de cenizas y acidez. Esta ventaja permite su uso en un amplio rango de industrias.

Confitería: En ésta industria se utiliza como agente que evita la cristalización y ayuda a homogenizar productos como gomas de mascar y chocolates. Suministra una textura lisa, goza de cualidades de buen preservante para una larga vida en estantería y tiene varias propiedades organolépticas deseadas.

Mermeladas, gelatinas y frutas enlatadas: En este tipo de alimentos procesados, el jarabe de glucosa es usado para prevenir la cristalización del azúcar. Actúa como un buen preservativo y previene la descomposición del producto sin incrementar excesivamente su dulzura. Es muy efectivo en disimular el excesivo dulce mientras realza el sabor de la preparación.

Productos de panadería. El jarabe de glucosa añade cuerpo, volumen y una óptima edulcoración a los productos de panadería. Por ésta razón es usado en rellenos de cremas y pasteles. También previenen la cristalización, aumenta el tiempo que el producto

Capítulo 1 Revisión Bibliográfica

tarda en estanterías y sus propiedades organolépticas mantienen el producto fresco por más tiempo.

Heladería. Da una textura suave y cremosa, asegura que los helados no se derritan pronto, previene la cristalización de la sucrosa y permite edulcoración homogénea.

Farmacéuticas. Destaca su uso en jarabes y pastillas para la toz, tónicos basados en vitaminas y como agente granular para recubrimientos de tabletas. Provee cuerpo, consistencia, un buen sabor en la boca y edulcoración balanceada cuando son usados otros carbohidratos edulcorantes tales como la sucrosa y el sorbitol.

Productos de cuero. Al finalizar el cubrimiento de cuero, el jarabe de glucosa inmerso es aplicado para dar lustre, fineza y justo peso. Añade flexibilidad al cuero terminado y en el momento del curtido ayuda a darle brillo. En los procesos de cromado, es usado a causa de su acción reductora, esto hace que el cromo sea precipitado en el cuerpo del cuero.

Otras aplicaciones. El jarabe de glucosa también encuentra uso como preservantes, además ayuda en las industrias de fermentación y de fabricación de cerveza. También es usado en las industrias tradicionales de extracción de aceites por sus propiedades como adhesivos en gomas. Es usado para mejorar la estabilidad en adhesivos, como retardante fijo en concreto, como humectante en refrescadores de aire y para el control de la evaporación en colonias y perfumes. Adicionando un 5%-10% de jarabe de glucosa se previene el endurecimiento del betún resultando un brillo más rápido y mejor. El jarabe de glucosa añade sabor al tabaco y presta una textura suave.

1.5.5 Descripción del proceso de producción de jarabes glucosados por vía enzimática.

El proceso consta de tres etapas: el acondicionamiento, la hidrólisis y la refinación.

Acondicionamiento.

- **Preparación de la lechada.**

La corriente de alimentación es una suspensión de agua y almidón. El porcentaje de sólidos en la suspensión se encuentra entre el 30 y 40% en peso. La enzima para la licuefacción se adiciona en ésta etapa, pues más adelante resulta más dificultoso ajustarle el pH que debe estar entre 5 y 6,5.

- **Calentamiento instantáneo de la suspensión.**

Capítulo 1 Revisión Bibliográfica

Con el objeto de gelatinizar el almidón la solución es calentada por inyección de vapor directo en cocedor tipo jet, después de 2 ó 3 minutos de calentamiento hasta una temperatura entre 95 y 110 °C, la presión es reducida a condiciones atmosféricas (**García et al., 1993**).

Hidrólisis.

- **Licuefacción:**

El objetivo del proceso de licuefacción es convertir los gránulos de almidón de la suspensión concentrada, a dextrinas solubles de baja viscosidad con un adecuado manejo y equipo para la fácil conversión de glucosa por la glucoamilasa. La temperatura a la cual debe ser calentada la solución para la licuefacción depende de la fuente de la enzima. Generalmente es una temperatura superior a 94 °C y por ser resistente al calor puede ser usada a mayores temperaturas por cortos períodos. La enzima comúnmente utilizada es la alfa-amilasa. Las bacterias alfa-amilasa específicamente catalizan la hidrólisis de α -1,4 enlaces glucosídicos y actúan de una manera aleatoria pero reproducible para reducir el peso molecular de los polisacáridos (**Whistler Roy and Paschall Eugene, 1984**). Prácticamente todas las alfa-amilasas requieren calcio para una adecuada estabilidad. La cantidad de calcio necesaria es de 5 a 200 ppm. La hidrólisis dura de 1 a 2 horas hasta obtener una DE de 10-15, suficiente para evitar el fenómeno de retrodegradación del almidón. La enzima es inactivada por un segundo tratamiento de calor (**Nagodawithana and Reed, 1993**). La licuefacción enzimática requiere un cuidadoso control de los parámetros de la reacción tales como porcentaje de sólidos, temperatura, tiempo, pH, y niveles de calcio para garantizar una hidrólisis eficiente y minimizar costos de enzimas. La solución licuada se encuentra a una temperatura alta de aproximadamente 90 °C, por esto es necesario llevarla a una temperatura de 60-63°C, para que pueda actuar la enzima que va a llevar a cabo la sacarificación (**Pardo and Ribera, 2001**).

- **Sacarificación**

El objetivo de la sacarificación es convertir la solución licuada de la etapa anterior a D-glucosa en rendimientos tan altos como sea posible. Usando la glucoamilasa, procedente fundamentalmente de cepas de *Aspergillus Níger*, es posible una conversión prácticamente total del almidón a D-glucosa. La cinética de la sacarificación del almidón licuado por glucoamilasa es complicada, porque en un tiempo dado en la hidrólisis una amplia serie de dextrinas lineales y ramificadas están presentes causando diversas reacciones simultáneas, cada una con una velocidad diferente. La cantidad de glucosa puede ser incrementada por

Capítulo 1 Revisión Bibliográfica

tratamiento del almidón con enzimas desramificadoras tales como la isoamilasa y pululanasa que ayudan a reducir los enlaces α -(1-6) glucosídicos que impiden la rápida hidrólisis del almidón por glucoamilasa. El hidrolizado de almidón con alfa-amilasa es ajustado a un pH de 4,1-4,5, de haber desactivado la primera enzima. La reacción se efectúa a 60-62°C, las dosis de enzima depende de la actividad pero oscila entre 0,65 y 0,8 L/ton de almidón, aunque esta dosis también varía de acuerdo a la DE y al tiempo de residencia deseado. De esta forma es posible alcanzar equivalentes en dextrosa del orden de 96 y 98, lo que implica entre 92 y 96% de glucosa. La reacción tiene una duración entre 40 y 72 horas, después de las cuales es necesario desactivar la enzima con un tratamiento de calor a 80°C durante 20 minutos (**García et al., 1993**).

Refinación.

Al término de la hidrólisis y una vez desactivada la enzima, el jarabe es purificado mediante filtración, tratamiento con carbón activado e intercambio iónico. Posteriormente se evapora la solución.

1.6 Conclusiones parciales.

- El sorgo presenta grandes condiciones para ser utilizado en la industria alimenticia y en particular en los procesos de obtención de almidón y de jarabes glucosados, sustituyendo al maíz que es la materia prima más utilizada y con un alto costo de importación para el país.
- Las vías empleadas en la hidrólisis de los almidones para la obtención de jarabes: ácida, ácida-enzimática y enzimática, depende del empleo que se vaya a dar a los mismos y donde la hidrólisis enzimática es la más utilizada actualmente.
- Los jarabes glucosados presentan propiedades muy beneficiosas, además de presentar diversos usos en la producción de alimentos, dentro de los diversos tipos de jarabes que se producen a partir de almidón.
- Los grados Brix, los Azúcares Reductores (ART) y los Equivalentes de Dextrosa son los parámetros principales, que miden la calidad de los distintos jarabes que se producen a partir de almidones.

Capítulo 2

Capítulo 2 Desarrollo Experimental.

El trabajo comenzó, tomando los resultados obtenidos por **Nieblas 2015**, que obtuvo jarabes de sorgo, a partir de almidón obtenido en la Empresa de Glucosa de Cienfuegos. Valorando la influencia de las variables y niveles estudiados en ese trabajo, se acotaron los niveles para la nueva experimentación, partiendo de que se iba a trabajar con la misma materia prima. Se planificó un diseño de experimentos Plackett-Bürman con cuatro variables independientes en dos niveles, la relación Sólido/Líquido, concentración de enzima amilasa, concentración de enzima glucoamilasa y el tiempo de acción de esta última, dando una matriz de 8 experimentos con tres falsas variables. Se comenzaron los experimentos realizándose cuatro de ellos, donde el Brix, variable medida rápidamente con refractómetro, cambiaba prácticamente en los primeros 30 minutos de la etapa de licuefacción y después variaba muy lentamente al finalizar esta etapa y al cambiar a la etapa de sacarificación. Al medir los ART por el método del 3-5 Dinitrosalicílico, estos fueron extremadamente bajos, siendo el valor máximo alcanzado de 186,68 g/L en comparación a los obtenidos por Nieblas. Se consideró que estos resultados se debían a que la enzima había perdido su actividad, se valoraron nuevas enzimas traídas de Glucosa y que no eran ya las mismas de las utilizadas por Nieblas y se realizaron tres experimentos más, aumentando las concentraciones de enzima. Los resultados logrados continuaban siendo similares, pero la probabilidad era que podía ser el almidón empleado, ya que llevaba aproximadamente dos años almacenado en fábrica por lo que podía haber perdido parte de su contenido de almidón. Se decide entonces trabajar con la harina de sorgo que era el sustrato del que se disponía, pero los resultados de la sacarificación de éste eran muy preliminares, en un estudio realizado para la obtención de etanol, por lo que se decide estudiar la actividad enzimática de estas nuevas enzimas ante este nuevo sustrato para las concentraciones de 25 y 30 g/L que fueron las seleccionadas.

2.1 Materiales y métodos para la obtención de jarabes glucosados a partir de harina de sorgo mediante hidrólisis enzimática.

La metodología seguida para la obtención de jarabes glucosados consta de cuatro etapas fundamentales: determinación del poder enzimático de las enzimas con las que se va a trabajar, la licuefacción o dextrinización, la sacarificación y la refinación del producto final. Las materias primas fundamentales a emplear son el sorgo blanco (UDG-110) molido,

proveniente de la Estación Experimental y las enzimas Bialfa T, la cual es un líquido producido por fermentación sumergida del *Bacillus licheniformis* que hidroliza al azar los enlaces glucosídicos alfa-d-1,4 del almidón produciendo dextrinas solubles y oligosacáridos; y la Glucozyme 2X, producida por la fermentación de una cepa seleccionada de *Aspergillus Níger*, la cual puede hidrolizar tanto las ramificaciones alfa-d-1,6 como los enlaces poliméricos alfa-d-1,4 del almidón, ambas de la Fábrica de Glucosa de la provincia de Cienfuegos.

2.1.1 Determinación del poder enzimático de las enzimas Bialfa T y Glucozyme 2X.

Se preparó una solución buffer de acetato según el procedimiento descrito en (www.monografias.com). Ver (Anexo 1). Para determinar la actividad de la Bialfa T se prepararon dos soluciones de 37,5 ml con las concentraciones de la harina de sorgo a las cuales se va a trabajar (25-30 % p/p). Se le ajustó el pH en el rango de 5,5-7 en el que trabaja la enzima con la solución buffer preparada para pH=5,6 y se puso a licuar. Al alcanzar la temperatura de 85 °C donde comenzó la gelatinización se le añadieron 2,5 ml de la enzima, se elevó la temperatura hasta 90 °C y se mantuvo durante 15 minutos. Para la Glucozyme 2X se mantuvo el mismo procedimiento pero el pH se ajustó en el rango de 4-4,5 con la solución buffer preparada para pH=4,4 y se le añadió la enzima, la temperatura se mantuvo esta vez a 60 °C por 15 minutos también. Se tomaron muestras de las cuatro soluciones preparadas, se centrifugaron durante 10 minutos y se les midieron los azúcares reductores totales (ART). Ver (Anexo 2). Luego de tener los resultados de los ART se continúa el procedimiento descrito en el (Anexo 3).

2.1.2 Resultados de la prueba enzimática.

En la Tabla 2.1 se muestran los resultados de la actividad de cada enzima a la que se le realizó la prueba enzimática con el objetivo de establecer los valores de las concentraciones con las cuales se iba a trabajar.

Tabla 2.1 Resultados de la prueba enzimática a las distintas relaciones sólido-líquido con las que se quiere trabajar.

Enzimas	ART(g/L)	U	U/ml	U/g
Bialfa T para 25% de sólido	224,58	3119,22	1247,68	332,71
Bialfa T para 30% de sólido	323,41	4491,75	1796,69	399,26
Glucozyme 2X para 25% de sólido	52,66	731,39	292,55	78,01
Glucozyme 2X para 30% de sólido	62,14	863,00	345,20	76,71

2.1.3 Obtención de los jarabes glucosados.

Con el sorgo molido previamente, se preparó una suspensión de harina de sorgo-agua a las concentraciones de trabajo, 25-30 % p/p en beakers de un litro de capacidad. A la harina pesada, si se trabajaba con un 25 % p/p eran 162,5 g y si era al 30 % p/p 195 g, se le añadían 650 ml de agua destilada medidos con una probeta. En los procesos de hidrólisis-sacarificación fueron utilizadas las enzimas comerciales provenientes de la Fábrica de Glucosa de Cienfuegos a las que primero se les determinó la actividad enzimática como se explicó anteriormente. En la etapa de licuefacción o dextrinización se utilizó la Bialfa T además del hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) al 0,1%, a fin de aumentar la estabilidad de la enzima (Torres et al., 2012, Torres, 2012).

2.1.4 Diseño experimental para el proceso de obtención de jarabes glucosados.

En el estudio del proceso se aplica un diseño experimental factorial multinivel del tipo 2^k , donde K representa el número de variables independientes a estudiar, en este caso fueron tres. El total de experimentos realizados resultó ser de 12, los ocho correspondientes al diseño, más una réplica a cuatro de ellos al azar. Las variables independientes y sus niveles, así como la matriz experimental se muestran en las Tablas 2.1 y 2.2 respectivamente. Para la selección del intervalo de la relación sólido/líquido se tuvo en cuenta el mejor resultado logrado por (Medina Macola, 2015) en su estudio para jarabes dextrinizados, donde la variable más influyente fue la relación sólido/líquido en su menor nivel que fue de un 30% y además se decidió disminuirla hasta un 25% para ver si

Capítulo 2 Desarrollo Experimental

con este valor se alcanzaban mejores resultados. Los seleccionados para las enzimas provienen de los resultados obtenidos de la prueba enzimática realizada con el objetivo de lograr 6000 unidades en la licuefacción y 600 unidades en la sacarificación. El tiempo de sacarificación utilizado con la Glucozyme 2X fue de 24-48 horas, se tomó según lo reportado por (Serna, 2011).

Tabla 2.2 Variables independientes y niveles.

Variables	Niveles
Relación sólido/líquido (X_1)	25-30 % p/p
Concentración de Bialfa T (X_2)	1,2-2 % p/p
Tiempo de sacarificación (X_3)	24-48 h

Tabla 2.3 Matriz del diseño experimental.

Experimentos	X_1	X_2	X_3
1	+	+	-
2	+	+	+
3	+	-	-
4	-	+	-
5	+	-	+
6	-	-	+
7	-	+	+
8	-	-	-
9	+	+	-
10	+	+	+
11	-	-	+
12	-	-	-

2.2 Descripción del proceso de obtención de jarabes desarrollado en el laboratorio.

Etapa de licuefacción o dextrinización: Una vez preparada la suspensión a la concentración con la que se vaya a trabajar 25-30 % peso, se le añade el hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) al 0,1%; por lo que para los 650 ml de suspensión se adicionan 0,195 g ó 0,1625 g respectivamente con el fin de aumentar la actividad de la enzima Bialfa T. Luego se ajusta el pH utilizando HCl 1N con un pH-metro (*MARCA HANNA 213*) a un valor entre 5 y 6 lo más cercano a 5,5 por considerarse el mejor valor para trabajar con temperaturas altas en cortos periodos de tiempo. Se coloca el beaker en un baño con agua hirviendo alcanzándose una temperatura entre 90 y 95°C y se introduce en el líquido el agitador mecánico (*MARCA IKA RW-16*), con el objetivo de lograr un mezclado perfecto y homogenización de la suspensión. Cuando el baño alcanza una temperatura alrededor de los 70°C comienza la gelatinización y se le añade la enzima, se sigue aumentando la temperatura hasta los valores mencionados anteriormente y se continúa el proceso por dos horas. Finalmente el almidón licuado o dextrinizado se lleva a temperatura ambiente y se le ajusta el pH a un valor entre 4 y 4,5 lo más próximo posible a 4,3 que es donde mejor actúa la enzima Glucozyme 2X para comenzar la sacarificación.

Etapa de sacarificación: La sacarificación se realiza con la enzima Glucozyme 2X, donde se usó una concentración fija de 0,75 % p/p para todos los experimentos, pues **Nieblas 2015** en su estudio determinó que la concentración de esta enzima no era significativa en el rango estudiado. Esta etapa se realiza en una zaranda (*MARCA CERTO MAT IS*) y se mantiene la temperatura entre 58-60°C por un tiempo de 24 ó 48 horas dependiendo del experimento del diseño. Cuando concluye esta etapa se retira el erlenmeyer que es el recipiente utilizado, y se calienta la mezcla sacarificada hasta alcanzar los 85°C, manteniéndose por un espacio de 15 minutos con el objetivo de inactivar la enzima.

Refinación: En esta etapa realmente no fue refinado el producto, sino solamente fue filtrado empleando papeles de filtro, embudos de vidrio y erlenmeyers de 500 ml de capacidad donde se recuperaba el líquido filtrado.

2.3 Determinación de las variables respuesta.

Tanto las muestras tomadas en cada etapa del proceso como los licores finales fueron centrifugados en una centrífuga (MARCA EPPENDORF 5702R) durante 10 minutos, antes de la determinación del °Brix y los ART.

2.3.1 Grados Brix. (Método refractométrico)

Este método se utiliza fundamentalmente para la determinación de los sólidos disueltos contenidos en el sirope de glucosa, utilizando un refractómetro con escala Brix. Para los objetivos de este método en el caso de sirope de glucosa se utiliza el Brix como una medida del contenido de materia seca. En el estudio se usa un refractómetro (MARCA ATAGO).

2.3.2 Azúcares Reductores Totales (ART).

Los Azúcares Reductores Totales fueron determinados en varias muestras tomadas durante el proceso, utilizando el Ácido 3,5-Dinitrosalicílico y el procedimiento es descrito en el Anexo 2.

2.3.3 Equivalente de Dextrosa (ED).

El equivalente de dextrosa se determina en función de los azúcares reductores a partir de la siguiente ecuación.

Donde:

S: Es el contenido de sustancia seca en porciento de la muestra inicial que resultó ser de un 87% debido a que el sorgo utilizado contiene un 13% de humedad.

2.3.4 Acidez.

La acidez de la muestra previamente diluida se determina mediante valoración con solución de hidróxido de sodio 0,1N usando fenolftaleína al 1 % como indicador, expresándose dicho valor como ácido clorhídrico. Ver (Anexo 4).

2.3.5 Conductividad.

La conductividad se determina utilizando el conductímetro (MARCA MODEL DDSJ-308A).

2.3.6 pH.

El pH se determina a partir del método potenciométrico, utilizando para ello el pH-metro (MARCA HANNA 213) (Anexo 5).

2.4 Resultados del proceso de obtención de jarabes glucosados.

En las Tablas 2.4 y 2.5 así como en las Figuras 2.1 y 2.2 se reportan los resultados obtenidos en las etapas de la hidrólisis: licuefacción y sacarificación, donde las enzimas Bialfa T y Glucozyme 2X son de gran importancia en los resultados que se logran y se expresan mediante las variables respuestas Brix y ED

Tabla 2.4 Resultados de la etapa de licuefacción.

Experimento.	X ₁ (%)	X ₂ (%)	X ₃ (h)	°Bx	ART (g/L)	ED (%)
1	30	2	24	18,1	116	13,33
2	30	2	48	19,5	385,7	44,33
3	30	1,2	24	16,4	74,4	8,56
4	25	2	24	15	278,7	32,04
5	30	1,2	48	17,4	104,1	11,97
6	25	1,2	48	12,9	55,8	6,41
7	25	2	48	15	80,1	9,21
8	25	1,2	24	13,5	64,0	7,36
9	30	2	24	16	144,7	16,63
10	30	2	48	20	507,5	45,57
11	25	1,2	48	14	56,8	6,53
12	25	1,2	24	10	63,5	7,30

Tabla 2.5 Resultados de la sacarificación.

Experimento.	X ₁ (%)	X ₂ (%)	X ₃ (h)	°Bx	ART (g/L)	ED (%)
1	30	2	24	19	487,21	53,05
2	30	2	48	22	802,63	86,21
3	30	1,2	24	18	416,81	44,47
4	25	2	24	17	678,08	74,41
5	30	1,2	48	20	475,02	49,67
6	25	1,2	48	15	307,16	32,07
7	25	2	48	16,9	550,83	56,68
8	25	1,2	24	16	382,97	39,70
9	30	2	24	16,5	507,51	51,92
10	30	2	48	22,9	805,33	87,25
11	25	1,2	48	16,9	308,51	32,16
12	25	1,2	24	18,7	380,26	39,64

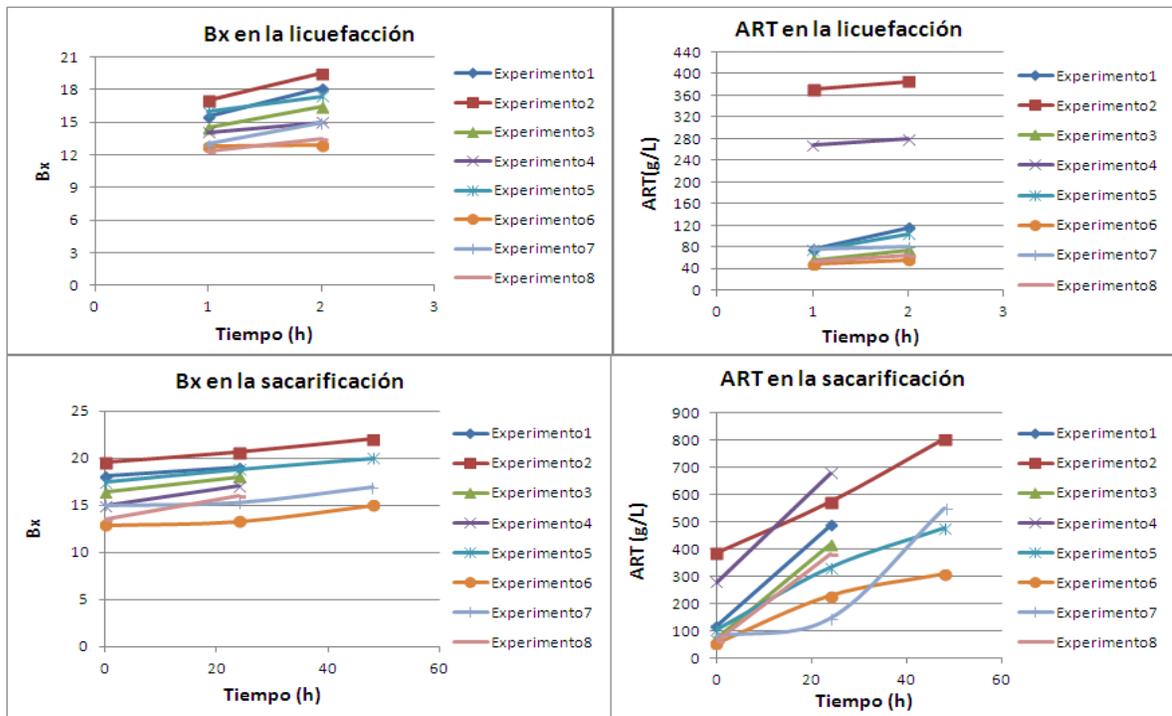


Figura 2.1 Comportamiento del Bx y los ART en función del tiempo para la licuefacción y la sacarificación

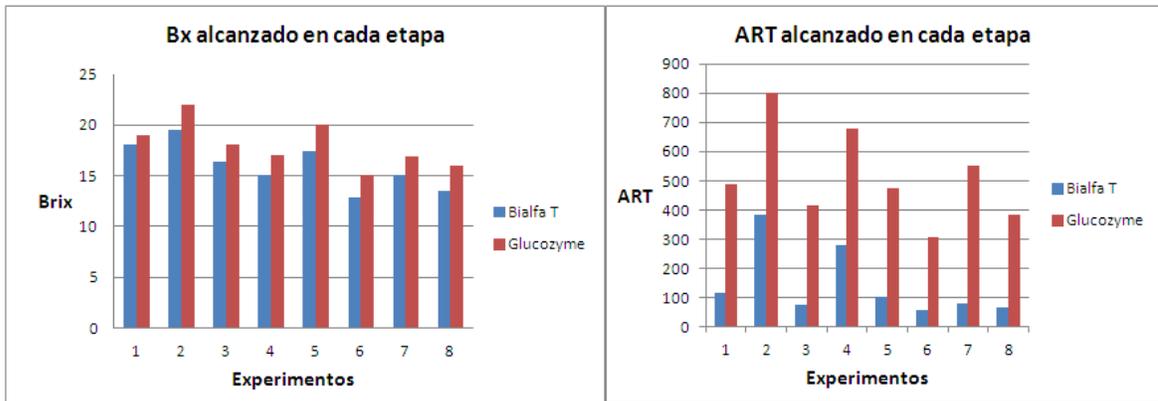


Figura 2.2 Influencia de las enzimas Bialfa T y Glucozyme en las variables respuestas: Brix y ART

En las Figuras 2.1 y 2.2 se representa el comportamiento de dos de las variables respuestas fundamentales del proceso: Bx y ART para las dos etapas del proceso de hidrólisis que como ya se han mencionado anteriormente son la licuefacción y la sacarificación. En la etapa de licuefacción para los grados Brix se observa que no se obtienen grandes resultados como los logrados por **Nieblas 2015**, a pesar de utilizar valores de concentraciones de enzima más elevadas, sin embargo hay que señalar que en este trabajo el estudio se realiza con otra enzima distinta a la Termamyl 120 que reportó muy buenos resultados. Para la etapa de licuefacción los experimentos 1, 2, 3 y 7 tienen un comportamiento similar, destacándose los dos primeros porque alcanzan los mejores resultados. Una de las causas puede ser que en ellos se usa la mayor relación de sólido/líquido y además la mayor concentración de enzima. Si se observa lo sucedido con el 6 y 8 se corrobora lo planteado anteriormente, ya que en estos se usan los menores niveles de las variables ya mencionadas. En cuanto al experimento 4 y 5, puede notarse que ambos se comportan de igual modo también, sin embargo el segundo alcanza un valor mayor que el primero a pesar de usar menos enzima pero sí más sustrato, lo que no pasa con el primero que usa más enzima pero menos sustrato. Esto demuestra que la mayor influencia de la enzima ocurre en la primera hora de su acción y va disminuyendo su velocidad en la segunda hora de acción, todo parece indicar que se han convertido la mayoría de los enlaces α -1,4, pues se trabaja con harina donde la cantidad de almidón es menor. Para la etapa de sacarificación se tiene que a partir de las 24 horas no hay cambio significativo y tampoco se logran valores elevados de Brix como se obtuvieron con la Termamyl 120. Los ART en la etapa de licuefacción mantienen un comportamiento

Capítulo 2 Desarrollo Experimental

diferente al del Bx. Aquí el experimento que sigue destacándose con mejores resultados es el 2, lo que no sucede con el 1 a pesar de haberse trabajado a las mismas condiciones del anterior, sin embargo junto con el 4 son los tres de mayores resultados logrados, coincidiendo con que todos trabajan a la mayor concentración de enzima, pero en el caso del 2 y el 4 se encuentran fuera de lo reportado para esta etapa del proceso (10-15 % de ED). En la sacarificación sí hay un cambio apreciable en los resultados. A partir de las 24 horas puede notarse que para los cuatro experimentos que continúan, los valores que se alcanzan son altos, por lo que el tiempo influye positivamente en esta variable, corroborándose los resultados obtenidos por Nieblas.

Se tomaron los datos obtenidos del experimento 2, para seguir la cinética de la conversión enzimática Figura 2.3, aquí se refleja el comportamiento de los azúcares reductores totales al transcurrir el tiempo en las dos etapas del proceso: licuefacción y sacarificación. Como se aprecia estos después de la gelatinización aumentan proporcionalmente con el tiempo, a una alta velocidad en la primera hora de su acción pero baja para todos los experimentos Figura 2.2, en la segunda hora de licuefacción, lo que demuestra que la enzima Bialfa T es una enzima desramificante o licuificante y no sacarificante, ya en la etapa de sacarificación, la velocidad de acción de la Glucozyme 2X en la que se mantuvo constante su concentración para cada experimento, es mucho mayor en las primeras 24 horas, cayendo en las otras 24 horas, esto se aprecia en los experimentos donde la concentración de Bialfa T fue menor, tendiendo a ser asintótica ya a las 48 horas, sin embargo en los experimentos 2 y 7 tiende a ser lineal por lo que su efecto tiene incidencia junto con las otras variables y no por separada. En estudios realizados por varios investigadores (**Fujill et al., 1981**)y(**Kusunoki and Kawakami, 1982**), quienes trabajan el efecto combinado de alfa amilasas y glucoamilasas en diferentes tipos de almidones, señalan que el efecto de la alfa amilasa responde a un modelo cinético de Michaelis-Menten, sin embargo para las glucoamilasas, existe una inhibición competitiva de producto y se hace más complejo el proceso, ya que puede haber condensación de la glucosa en maltosa e isomaltosa, por tanto llegan a la conclusión que el efecto de esta enzima depende de la naturaleza cambiante del sustrato, que no es la muestra original de que se parte. Puede considerarse que las dos horas para la licuefacción y las 48 horas para la sacarificación son adecuadas, aunque pudiera extenderse el tiempo de sacarificación, para corroborar más el efecto de esta variable en la conversión, pues se puede trabajar hasta 72 horas, según la bibliografía consultada.

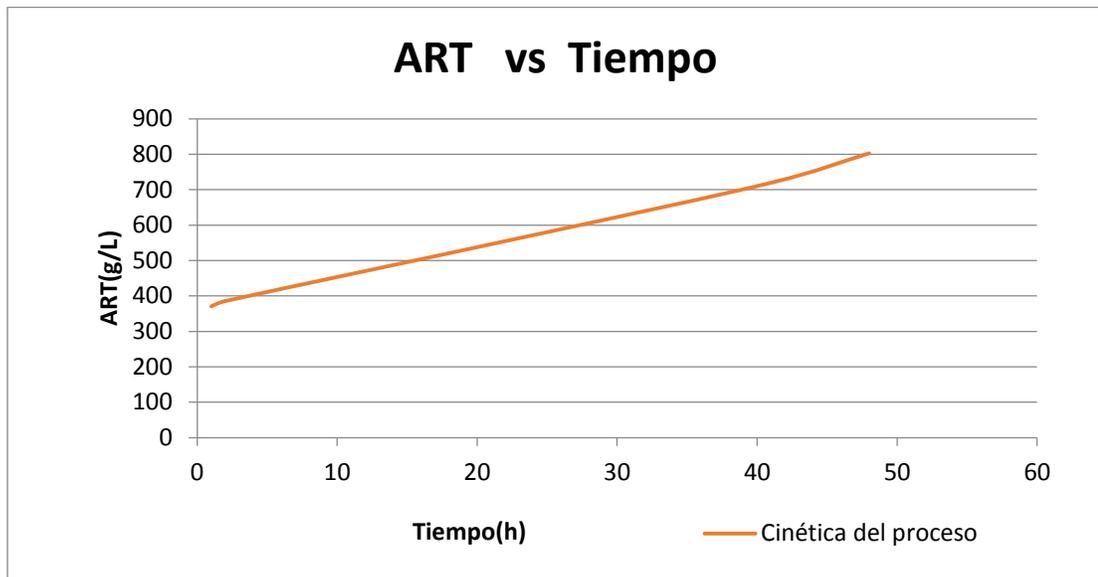


Figura 2.3 Comportamiento de la conversión a ART en el tiempo.

2.5 Análisis estadístico del diseño experimental.

Los resultados obtenidos mostrados en la Tabla 2.5 fueron sometidos a un tratamiento estadístico utilizando el Software Statgraphics Centurion XV para estudiar la influencia de cada una de las variables independientes sobre las variables respuestas: °Brix y ED.

2.5.1 Análisis del Brix.

En el análisis realizado para esta variable se obtuvo tanto la ecuación que se ajusta al modelo como la Figura 2.4 que muestra el diagrama de Pareto, superficie respuesta y efectos principales. La Ecuación 2.2 es la del modelo y se ajusta para un valor de $R^2=88\%$

Ecuación 2.2

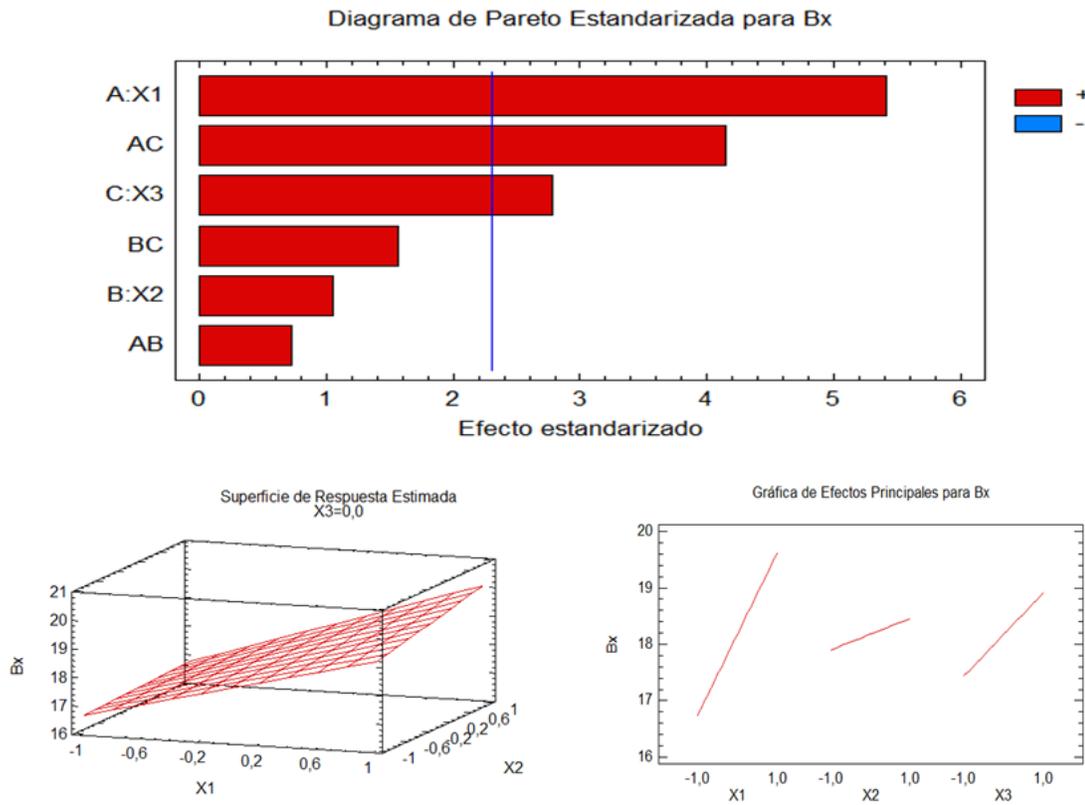


Figura 2.4 Relación entre el Brix y las variables: relación sólido/líquido, concentración de Bialfa T y tiempo de sacarificación.

El primer gráfico constituye el Diagrama de Pareto en el que se muestra la existencia de tres parámetros significativos influyendo de forma positiva, los cuales son la relación sólido/líquido, el tiempo de sacarificación y la interacción entre ambos. En este también se aprecia que ninguna de las variables analizadas y la interacción entre ellas influyen de forma negativa. Esto significa que cualquier aumento que se produzca en ellas favorecerá la variable respuesta que se analiza. En el Diagrama de Efectos Principales y el de Superficie Respuesta también se refleja lo expuesto anteriormente, donde se aprecia que la concentración de Bialfa T no tiene efecto en esta variable. Estos resultados reafirman lo analizado en el epígrafe anterior.

2.5.2 Análisis de los ED.

Para esta variable el modelo se ajusta a la **Ecuación 2.3** con un $R^2=92,37\%$.

Ecuación 2.3

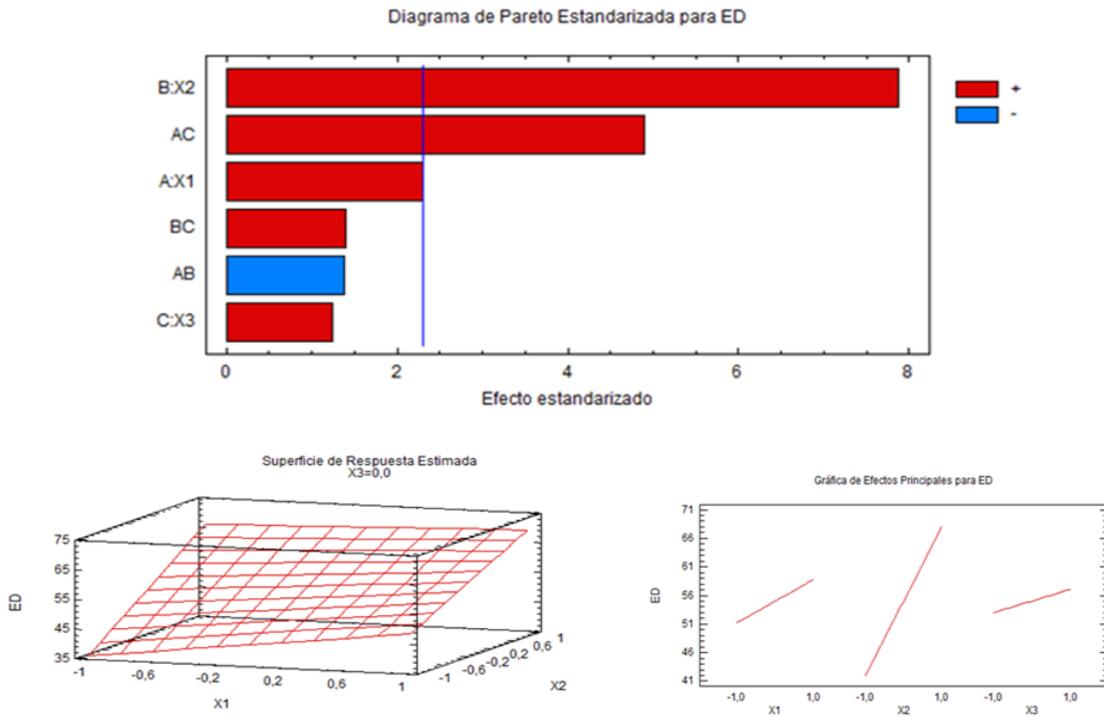


Figura 2.5 Relación entre los ART y las variables: relación sólido/líquido, concentración de Bialfa T y tiempo de sacarificación.

El Diagrama de Pareto muestra la existencia de tres variables significativas y que además influyen de forma positiva en el proceso, estas son la concentración de la enzima Bialfa T, la interacción entre la relación sólido/líquido y el tiempo de sacarificación y la relación sólido/líquido. Este resultado indica que cualquier aumento en alguna de ellas favorece la variable respuesta que se está analizando. El tiempo de acción a diferencia de Nieblas no fue significativo como variable independiente en el estudio, aunque hay añadir que aquí se trabajó con una concentración de enzima superior dado por el estudio de la actividad enzimática de las enzimas empleadas. El resto de los diagramas también representan que aumentando la relación sólido/líquido, la concentración de enzima y el tiempo de sacarificación se logran mejores azúcares reductores totales.

El análisis de varianza y el de efectos estimados para cada una de las variables respuestas se muestran en el **Anexo 6**.

Los valores óptimos encontrados después de analizar la influencia de las variables independientes en las principales variables respuestas fueron 22,4 y 82,09 % para el Brix y los Equivalentes de Dextrosa respectivamente, los que se corresponden para los mayores niveles de las tres variables estudiadas.

Tabla 2.6 Óptimos de las variables analizadas en el proceso de hidrólisis-sacarificación.

Factor			°Bx	ED
	Bajo	Alto	Óptimo	Óptimo
X ₁	25%	30%	30%	30%
X ₂	1,2%	2,0%	2,0%	2,0%
X ₃	24h	48h	48 h	48 h

2.6 Características de los jarabes obtenidos a partir de la harina de sorgo comparados con los de almidón de sorgo rojo y maíz.

En la Tabla 2.7 se presentan las principales especificaciones de los jarabes glucosados obtenidos por vía enzimática a partir del almidón de maíz y sorgo rojo.

Tabla 2.7 Especificaciones de jarabes glucosados obtenidos por vía enzimática a partir de distintas materias primas.

Especificaciones físico-químicas	Jarabes a partir de almidón de maíz	Jarabes a partir de almidón de sorgo rojo	Jarabes a partir de harina de sorgo blanco
ED	92mín	52máx	86,21máx
Brix	65	52máx	22,9máx
Conductividad(µs/cm)	150mín	177mín	5430mín
pH	4,4-4,6	3,6-5,01	3,83-3,99

Los resultados indican que los jarabes obtenidos mediante la harina de sorgo presentan características bastantes buenas con respecto a los que se elaboran actualmente en la industria alimenticia que son los de almidón de maíz y los obtenidos por **Nieblas 2015** en

Capítulo 2 Desarrollo Experimental

su estudio. Con respecto al Brix hay que especificar que este no tuvo mucho aumento debido a que las soluciones no se sometieron a proceso de evaporación como se realiza en la fábrica y en la experimentación fue suficientemente controlado este parámetro. En cuanto a la conductividad se aprecian valores muy superiores a los establecidos en la norma para jarabes de maíz, esto se debe a que no se utilizó ningún medio filtrante como carbón activado o tierra filtrante, además el contenido de cenizas en el sorgo es mucho mayor que el del maíz.

Tabla 2.8 Propiedades organolépticas de los jarabes comparados anteriormente.

Propiedades	Jarabes a partir de almidón de maíz	Jarabes a partir de almidón de sorgo rojo	Jarabes a partir de harina de sorgo blanco
Aspecto	Líquido medianamente viscoso, sin turbidez	Líquido medianamente viscoso, sin turbidez.	Sin turbidez y un poco viscoso.
Olor	Característico, casi imperceptible, libre de olores extraños.	Característico, casi imperceptible, libre de olores extraños.	Característico, casi imperceptible, libre de olores extraños.
Sabor	Característico, dulce excesivo.	Característico, dulce excesivo.	Bastante dulce.
Color	Prácticamente incoloro	Naranja	Amarillo

Las propiedades organolépticas obtenidas se corresponden a la de los jarabes obtenidos con almidón de maíz, la diferencia que resalta radica en el color final que se adquiere y es debido a que como ya se había planteado anteriormente las materias primas usadas son distintas, aunque en los de sorgo provienen del mismo cereal, lo que de diferentes tipos: blanco y rojo, además de que uno es harina y en el otro es el almidón ya extraído del grano.

Tabla 2.9 Caracterización físico-química de los jarabes obtenidos a partir de la harina de sorgo.

Exp.	X ₁ (%)	X ₂ (%)	X ₃ (h)	Volumen final (L)	Densidad (g/ml)	pH	Acidez (%)	Conductividad (ms/cm)
1	30	2	24	0,420	1,06	3,87	0,116	6,20
2	30	2	48	0,379	1,03	3,98	0,106	6,05
3	30	1,2	24	0,365	1,04	3,95	0,121	5,45
4	25	2	24	0,395	1,02	3,9	0,114	5,90
5	30	1,2	48	0,395	1,05	3,8	0,142	5,75
6	25	1,2	48	0,500	1,05	3,83	0,130	5,78
7	25	2	48	0,385	1,04	3,94	0,125	6,35
8	25	1,2	24	0,400	1,05	3,97	0,117	5,89
9	30	2	24	0,430	1,06	3,88	0,116	6,10
10	30	2	48	0,390	1,03	3,99	0,106	6,02
11	25	1,2	48	0,540	1,05	3,85	0,130	5,76
12	25	1,2	24	0,430	1,04	3,98	0,117	5,43

Dentro de las características físico-químicas hay que destacar la acidez que presentaron los jarabes. Este parámetro estuvo un poco elevado y pudo deberse a que la filtración se demoraba bastante tiempo y el lugar en el que se realizaba no se mantenía una temperatura suficientemente fría para evitar que estos se pusieran ácidos. Por lo que constituye un problema detectado durante el proceso que debe tenerse en cuenta si se realiza a escalas mayores.

2.7 Análisis general de los resultados en la obtención de jarabes.

Al analizar el diseño experimental factorial multinivel del tipo 2³ realizado se demostró la significación de las variables estudiadas. La relación sólido/líquido resultó tener gran influencia en las principales variables respuestas analizadas: Brix y ED, con mayor significación en la primera como se pudo apreciar en el diagrama de Pareto de la Figura 2.4 Con respecto a la concentración de Bialfa T, se demostró que influye positivamente, lo que se evidenció en los valores alcanzados de ART fundamentalmente, aquí puede notarse la acción que tiene la misma sobre los enlaces glucosídicos alfa-d-1,4

produciendo la conversión de los almidones presentes en la harina de sorgo a dextrinas y oligosacáridos solubles. El Brix no alcanzó valores tan elevados como se reportan en otros estudios realizados, por ejemplo en el de Nieblas 2015 como se explicó en los primeros gráficos analizados, ya que era otra enzima α amilasa, lo que parece indicar que su acción en esta variable no es tan determinante. El tiempo de sacarificación resultó ser un parámetro de gran importancia también. Esto se refleja en los resultados alcanzados en los experimentos que se realizaban durante 48 horas, donde los ART aumentaban significativamente a medida que transcurría esta variable como lo reafirma la Figura 2.1 Los valores de los equivalentes de dextrosa están en correspondencia con los ART obtenidos y representan la medida en que las dextrinas se convirtieron en glucosa, lográndose en la mayoría de los experimentos conversiones por encima del 50%. Los jarabes obtenidos de la harina de sorgo presentaron buenas características con respecto a los que se obtienen a escala industrial a partir del maíz y a los que se vienen estudiando partiendo del almidón de sorgo como materia prima fundamental, lo que resulta de gran importancia desde el punto de vista económico, pues se demuestra que pueden obtenerse jarabes con adecuada calidad a partir de sorgo, cereal de producción nacional y en este caso a partir de harina, sin pasar por la etapa de extracción de almidón, ahorrando esta etapa del proceso.

2.8 Conclusiones Parciales.

- La actividad enzimática da una medida de la calidad que presenta la enzima en el momento que va a ser utilizada y frente al sustrato y concentración empleada.
- Las tres variables independientes estudiadas en el proceso de obtención de jarabes glucosados a partir de harina de sorgo por vía enzimática: relación sólido/líquido, concentración de Bialfa T y tiempo de sacarificación, resultaron ser significativas en las principales variables respuestas analizadas: Brix y ED.
- La influencia de estas variables fue de forma positiva en el proceso, demostrándose en los óptimos que arrojó el análisis estadístico realizado, los cuales resultaron ser 30% p/p para la relación sólido/líquido, 2% p/p concentración de enzima Bialfa T y 48 horas de tiempo de sacarificación respectivamente.
- En la mayoría de los experimentos se logró una conversión de más del 50% demostrándose la acción de las enzimas usadas: Bialfa T y Glucozyme 2X sobre

Capítulo 2 Desarrollo Experimental

los enlaces que actúan: alfa-d-1,4 para la primera y las ramificaciones alfa-d-1,6 y los poliméricos alfa-d-1,4 que quedan para la segunda.

- El comportamiento cinético de la Glucozyme 2X en los diferentes experimentos del trabajo coincide con los resultados obtenidos por **(Kusunoki and Kawakami, 1982)** y **(Fujill et al., 1981)** ya que su efecto es una relación compleja entre las variables analizadas y que depende fundamentalmente de la naturaleza cambiante del sustrato a lo largo del experimento.

Capítulo 3

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico

En el capítulo anterior se determinaron las mejores condiciones a escala de laboratorio para obtener jarabes glucosados a partir de harina de sorgo. La Figura 3.1 representa el esquema del proceso realizado.

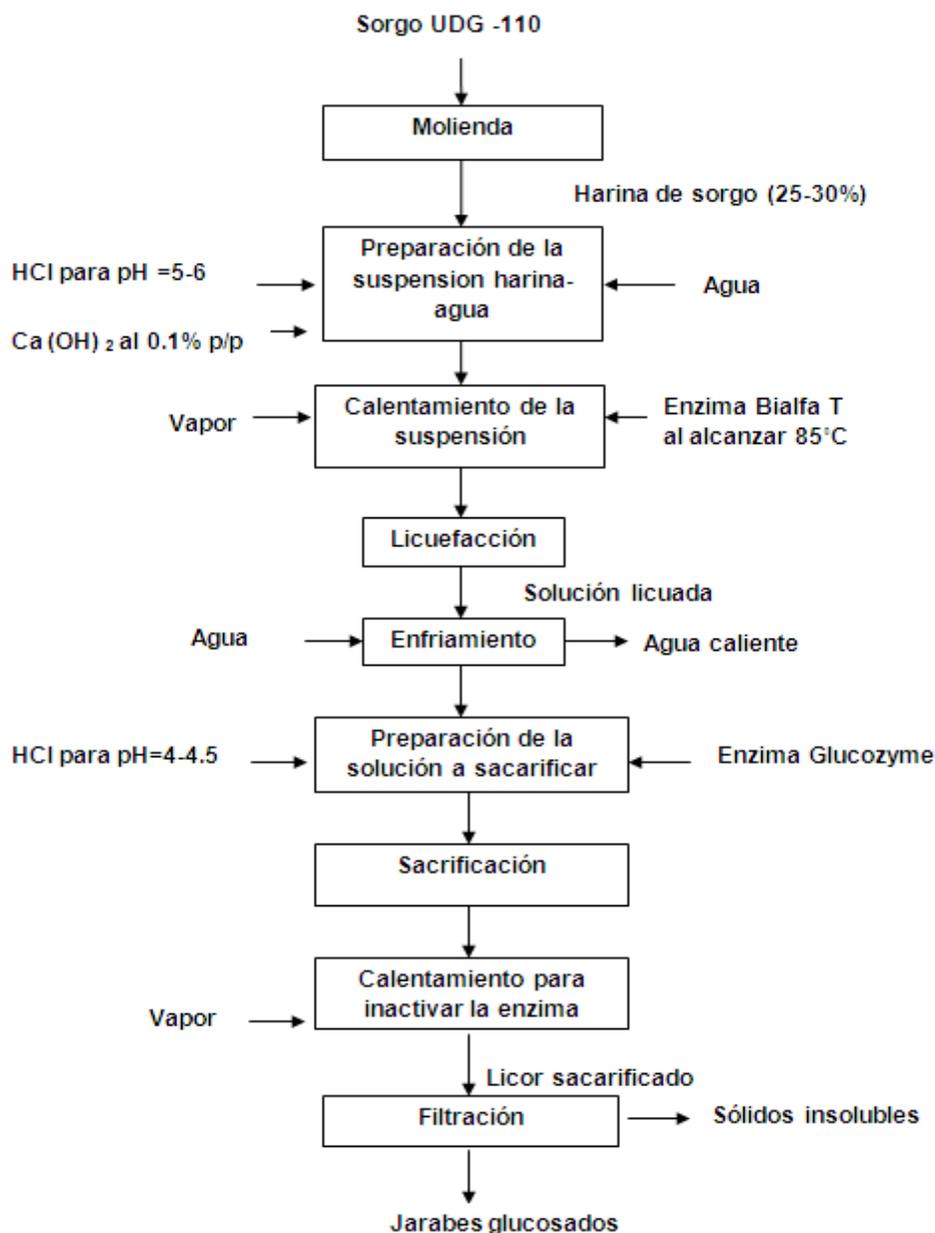


Figura 3.1 Esquema de obtención de jarabes glucosados a partir de harina de sorgo.

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Para llevarlo a cabo industrialmente, la Fábrica de Glucosa ya tiene la mayoría de los equipos instalados, solo es necesario adicionar molinos para la obtención de la harina a partir del sorgo e intercambiadores de calor que permitan el enfriamiento de la solución que se licúa y el calentamiento de la solución sacarificada para inactivar la acción de la Glucozyme 2X.

3.1 Selección de los nuevos equipos a instalar.

Para desarrollar la selección de los equipos se realizó una búsqueda en el (Urlich, 1985) de las características que presentan cada uno de estos, seleccionándose los que reúnen los requisitos necesarios para el proceso.

3.1.1 Molinos para la obtención de la harina a partir del sorgo.

Entre las operaciones de proceso más antigua, la molienda (reducción de tamaño o trituración) fue desarrollada para la conversión de granos de harina para pan y otra clase de alimentos. De hecho, muchas plantas completas de proceso se les conocen como “molinos”. En Tabla 3.1 se muestran distintos tipos de molinos con los criterios a tener en cuenta para su selección.

Tabla 3.1 Selección de molinos

Criterios para la selección	De rotación de barra	De rotación de bolas	De bolas de vibración o agitación	De martillos de alta velocidad.
Relación de reducción típica máxima	15	20	30	50
Compatibilidad con sólidos duros	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente
Usados para trituración fina	Limitado intensamente	Limitaciones modestas	Excelente	Limitaciones modestas

El molino que se selecciona para obtener la harina de sorgo es el de martillo, debido a que en la literatura se reporta que es el equipo más usado cuando se trabaja con sorgo.

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

3.1.2 Selección de Intercambiadores de Calor tanto para calentar como para enfriar las soluciones.

Los intercambiadores de calor son importantes en la industria fundamentalmente para la transferencia de energía. Para esta fábrica se selecciona un intercambiador de calor con el objetivo de enfriar la solución licuada para comenzar la sacarificación, y otro con el objetivo de calentar la solución sacarificada hasta inactivar la enzima.

Tabla 3.2 Selección de los Intercambiadores de Calor.

Criterios	Tubo y coraza	Placa plana	Doble tubo
Presión Máxima	30.7 MPa	2 MPa	100 MPa
Temperatura máxima	600 °C	260°C	150°C
Área de transferencia de calor máxima	800 m ²	1500 m ²	10 m ²
Caída de presión	0,6 y 1	0,5-1,5	0,2 y 0,6
Tamaño	De 10 a100 m ² por concha, son adaptables y flexibles	De 0,25 a 200 m ² , construcción modular estándar
Dimensiones	Espesor máximo de la concha: 2 in DI: 57-108 mm DE: 76- 159 mm	DI: 6 mm, los más comunes son 12 o 17,25 mm
Mantenimiento	Más difícil	Fácil	Necesita de espacio.
Costo de adquisición	Caros	Caros	Baratos

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Teniendo en cuenta las condiciones especificadas en la tabla y las requeridas para el proceso se seleccionan dos de tubo y concha, su diseño es sencillo y cumple con los requisitos que hay que tener en cuenta.

3.2 Balances de masa.

Los balances de masa son de vital importancia en todas las industrias químicas, mediante estos se puede conocer las cantidades de producto final e intermedios. Partiendo de que los tanques instalados en la Fábrica de Glucosa tienen una capacidad para llegar a obtener 45m³ de jarabes, los balances se realizan partiendo de 14,29 T de sorgo diarias el cual contiene 10 T de almidón, ya que según lo que reporta en la literatura el 69-75 % de este está constituido por almidón.

Datos:

$$\rho \text{ (jarabes glucosados)} = 1030 \text{ Kg/m}^3$$

Leyenda para el balance de masa:

HS: harina de sorgo

AG: agua

EA: enzima Bialfa T añadida

HC: hidróxido de calcio

AC1: ácido clorhídrico añadido para ajustar el pH en la licuefacción

SHA: suspensión para licuar

SL: solución licuada

EG: enzima Glucozyme 2X

SS: solución para sacarificar

AC2: ácido clorhídrico para ajustar el pH en la sacarificación

LS: licor sacarificado

S: sólidos insolubles separados en la filtración

JG: jarabes glucosados

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Tabla 3.3 Balances de Masa.

Equipo	Datos	Ecuaciones	Resultados
Tanque para preparar la suspensión para licuar	HS=14285,7 Kg AG=33333,3 Kg EA=266,7 Kg HC=14,3 Kg AC1=842,5 Kg	B. Total SHA=HS+AG+EA+HC+AC1	SHA=48742,5 Kg
Reactor para la Licuefacción	SHA=48742,5 Kg	B. Total SHA =SL	SL=48742,5 Kg
Tanque para preparar la solución a sacarificar	SL=48742,5 Kg EG=107,5 Kg AC2=421,2 Kg	B. Total SS=SL+EG+AC2	SS=49271,2 Kg
Reactor para la Sacarificación	SS=49271,2 Kg	B. Total SS=LS	LS=49271,2 Kg
Filtro	S=6,74 % LS S=3320,87	B. Total JG=LS-0,0674 LS	JG=45950,3 Kg JG=45 m ³

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

3.3 Balances de energía.

En los procesos también se requiere del conocimiento de las corrientes energéticas en cada parte del mismo. Es por esto que también se realizan balances teniendo en cuenta todos los principios establecidos.

Leyenda de los Balances de Energía.

M_{SL} : masa de la solución licuada

CP_{ML} : calor específico de la mezcla licuada

T_1 : temperatura de la suspensión harina-agua antes de ser calentada

T_2 : temperatura de la suspensión después de calentada

v_1 : calor latente cedido por el vapor en el calentamiento de la suspensión harina-agua

mv_1 : vapor consumido en el calentamiento de la suspensión licuada

AG : agua necesaria para el enfriamiento de la solución licuada

T_{1AG} : temperatura inicial del agua para enfriar la solución licuada

T_{2AG} : temperatura final del agua que enfrió la solución licuada

M_{LS} : masa del licor sacarificado

CP_{LS} : calor específico del licor sacarificado

T_{1SS} : temperatura inicial de la solución que se va a sacarificar

T_{2LS} : temperatura final del licor sacarificado

v_2 : calor latente cedido por el vapor en el calentamiento del licor sacarificado

mv_2 : vapor consumido en el calentamiento del licor sacarificado

Q : calor ganado en el calentamiento de la suspensión harina-agua

Q_s : calor que requiere la solución en la sacarificación

$t_{1\text{reacción}}$: tiempo para la licuefacción

$t_{2\text{reacción}}$: tiempo para la sacarificación

Q_p : calor que puede perderse durante la licuefacción

Q_p' : flujo de calor que puede perderse en la licuefacción

mv_L : masa de vapor que se utiliza para mantener la temperatura en la licuefacción

Q_{ps} : calor que se puede perder durante la sacarificación

Q_{ps}' : flujo calórico que se puede perder durante la sacarificación

mv_s : masa de vapor que se utiliza para mantener la temperatura en la sacarificación

mv_3 : vapor usado en la desactivación de la enzima al terminar la sacarificación

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Tabla 3.4 Balances de energía.

Equipo	Datos	Ecuaciones	Resultados
Reactor para licuefacción	T1=25 °C T2=90 °C CP _{ML} =3,65 KJ/Kg°C v1=2151,1 KJ/Kg M _{SL} =48742,5 Kg	Qg+Qc=0 Qg=-Qc Qg=M _{SL} *CP _{SL} *ΔT Qc=mv1* v1	mv ₁ =5375,9 Kg
Chaqueta del reactor para la licuefacción	Q=11564156 Kj Pérdidas=10% Q t _{1reacción} =2h v1=2151,1 KJ/Kg	Qp=0,1*Q Qp'= Qp/t _{1reacción} mv _L = Qp'/ v	Qp=1156415,6 Kj Qp'=578207,7Kj/h mv _L =268,7Kg/h
Intercambiador de calor para el enfriamiento de la solución licuada	CP _{SL} =3,65 CP _{AG} =4,18 KJ/Kg°C T1 _{AG} =28°C T2 _{AG} =48°C T1 _{SL} =90 °C T2 _{SL} =30 °C	Qg+Qc=0 AG*CP _{AG} *(T2 _{AG} -T1 _{AG})=SL*CP _{SL} *(T1 _{SL} -T2 _{SL})	AG= 127387 Kg
Reactor para la sacarificación	T1 _{SS} =30 °C T2 _{LS} =60 °C CP _{LS} =3,54 KJ/Kg°C v2=2151,1 KJ/Kg M _{LS} =48850 Kg	Qg+Qc=0 Qg=-Qc Qg=M _{LS} *CP _{LS} *ΔT Qc=mv2* v2	mv ₂ =2411,7 Kg
Chaqueta del reactor para la sacarificación	Q _S =5187867,6 Kj Pérdidas=10% Q _S t _{2reacción} =48h v=2151,1KJ/kg	Qps=0,1* Q _S Qps'= Qps/ t _{2reacción} mv _s = Qps'/ v	Qps=518786,7 Kj Qps'=10808,0 Kj/h mv _s =5,0 Kg/h
Intercambiador de calor para inactivar la enzima de la sacarificación	CP _{LS} =3,54 V2 =2151,1 KJ/kg T1 _{LS} =60 T2 _{LS} =85	Qg+Qc=0 Qg=-Qc Qg=M _{LS} * * ΔT Qc=mv2* v2	mv ₃ =2009,7 Kg

3.4 Diseño de los intercambiadores seleccionados.

3.4.1 Diseño del intercambiador de calor de tubo y concha para inactivar la enzima.

Datos:

Selección de los fluidos:

Concha: Vapor

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Tubos: Solución acuosa.

Tabla 3.5 Datos para el fluido caliente.

Parámetro	Valor
T1(°C)	137
T2(°C)	137
Masa Vapor(Kg/seg)	0,55
Calor latente (KJ/kg)	2151,1
Densidad (Kg/m ³)	940,38
Viscosidad (cP)	0,002
k(W/m°C)	1,2
k(BTU/h-pie ² °F)	0,21
Cp(KJ/Kg°C)	4,26
Flujo másico(Kg/seg)	0,55
W(lb/h)	4413,35
at(pie ²)	0,19
G(lb/h*pie ²)	23126,55
μ(lb/pie*h)	0,03

Tabla 3.6 Datos para el fluido frío

Parámetro	Valor
t1(°C)	60
t2(°C)	85
Densidad (Kg/m ³)	1060
Viscosidad (Pa*seg)	0,01
k(w/m ² °C)	0,61
Cp(KJ/Kg°C)	3,54
k(BTU/h-pie ² °F)	0,10
Flujo volumétrico (m ³ /h)	46
Flujo volumétrico (m ³ /seg)	0,01
Flujo másico (Kg/seg)	13,54
Flujo másico (lb/h)	107272
at(pie ²)	0,22
G(lb/h*pie ²)	469292,1
μ(lb/pie*h)	5,92

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Tabla 3.7 Resultados del diseño.

Nomenclatura	Datos	Ecuación	Resultado	Referencia
Q	W= 13,5 Kg/seg Cp=3,54 KJ/kg ⁰ C t ₁ =60 ⁰ C ; t ₂ =85 ⁰ C		Q=	(Kern 1988)
Δt verdadera	Δt ₁ =77 ⁰ C Δt ₂ =52 ⁰ C	MLDT=————	Δt verd= 63,68 ⁰ C	(Kern 1988)
Área de TC	Δtverd= 69,23 ⁰ C Ud=568 w/m ² °C	————	A _{tc} = 33,13 m ²	(Kern 1988)
A de TC tubo	L=16,4 pie Sup. de TC=0,01(m ² /pie)			(Kern 1988)
# de tubos				(Kern 1988)
Área de TC real			A _{TCreal} = 32,6 m ²	(Kern 1988)
Ud	Q=1198683W Δtverd=69,23 ⁰ C A _{TCreal} = 32,6 m ²	————		(Kern 1988)

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Tabla 3.8 Datos del intercambiador de calor seleccionado

Parámetro	Valor
N tubos reales	109
N de pasos por los tubos	1
diámetro de la coraza(pulg)	12
arreglo triangular 1plg	
A real TC(m ²)	32,60
Ud real(W/m ² °C)	577,24
DI(pulg)	0,62
DE(pulg)	0,75
DI(pie)	0,05
DE(pie)	0,06
A flujo de un tubo(pulg ²)	0,302
A flujo de un tubo(pie ²)	0,0020

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Tabla 3.9 Resultados del rechequeo.

Nomenclatura	Datos	Ecuación	Resultado	Referencia
	$\mu=2,45 \text{ cP}$ $k= 0,61 \text{ KJ/m}^0\text{C}$ $jH=20$ $Re=4089,36$ $Pr=14,21$ $Di=$	—		(Kern 1988)
	Coraza: Vapor			(Kern 1988)
		—		(Kern 1988)
		—		(Kern 1988)
			$\text{m}^2\text{C/W}$	(Kern 1988)
		—	$\text{m}^2\text{C/W}$	(Kern 1988)
		—		(Kern 1988)

3.4.2 Diseño del intercambiador de calor para enfriar la solución licuada.

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Tabla 3.10 Datos para el fluido frío.

Parámetro	Valor
t1(°C)	28
t2(°C)	48
Masa agua(Kg/seg)	17,6
Densidad (Kg/m ³)	1000
Viscosidad (cP)	0,01
k(W/m°C)	1,8
k(BTU/h-pie ² °F)	0,33
Cp(kJ/kg°C)	4,19
Flujo másico(Kg/seg)	17,69
W(lb/h)	140126,8
at(pie ²)	0,37
G(lb/h*pie ²)	373321,9
μ(lb/pie*h)	0,032

Tabla 3.11 Datos para el fluido caliente

Parámetro	Valor
T1(°C)	90
T2(°C)	30
Densidad (Kg/m ³)	1090
Viscosidad (Pa*seg)	0,002
k(w/m ² °C)	0,61
Cp(kJ/Kg°C)	3,65
k(BTU/h-pie ² °F)	0,107
Flujo volumétrico (m ³ /h)	22,36
Flujo volumétrico (m ³ /seg)	0,006
Flujo másico(Kg/seg)	6,77
Velocidad (m/seg)	0,006
Velocidad (pie/seg)	0,020
W (lb/h)	53619,28
at(pie ²)	2,13
G(lb/h*pie ²)	25095,45
μ(lb/pie*h)	6,17

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Tabla 3.12 Resultados del diseño.

Nomenclatura	Datos	Ecuación	Resultado	Referencia
Q	W= 6,77 Kg/seg Cp=3,65 KJ/kg ⁰ C t ₁ =90 ⁰ C ; t ₂ =30 ⁰ C			(Kern, 1988)
Δt verdadera	Δt ₁ =42 ⁰ C Δt ₂ =2 ⁰ C	MLDT=————	Δtverd=13,14 ⁰ C	(Kern 1988)
Área de TC	Δtverd=13,14 ⁰ C	————	A _{tc} = 198,68m ²	(Kern 1988)
A de TC tubo	L=16,4pie Sup. de TC=0,024(m ² /pie)			(Kern 1988)
# de tubos				(Kern 1988)
Área de TC real			A _{TCreal} = 206,67m ²	(Kern 1988)
Ud	Q= Δtverd13,14 ⁰ C A _{TCreal} = 206,67 m ²	————		(Kern 1988)

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Tabla 3.13 Datos del intercambiador de calor seleccionado

N tubos reales	518
N de pasos por los tubos	2
diámetro de la coraza(pulg)	35
arreglo en cuadro 1(1/4)plg	
A real TC(m ²)	206,66
Ud real(W/m ² °C)	546,04
DI(pulg)	0,87
DE(pulg)	1
DI(pie)	0,072
DE(pie)	0,08
Aflujo de un tubo(pulg ²)	0,59
Aflujo de un tubo(pie ²)	0,004
Aflujo de un tubo(m ²)	0,0038
A flujo total (m ²)	0,992

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Tabla 3.14 Resultados del rechequeo.

Nomenclatura	Datos	Ecuación	Resultado	Referencia
	$\mu=0,013 \text{ cP}$ $k=1,8744 \text{ KJ/m}^0\text{C}$ $jH=150$ $Re=294,82$ $Pr=15,26$ $Di=0,072 \text{ pie}$	—		(Kern 1988)
	$\mu=0,01324 \text{ cP}$ $k= 1,8744 \text{ kJ/m}^0\text{C}$ $jH=32$ $Re=4026$ $Pr=406,8$ $De=0.99$	—		(Kern 1988)
		—		(Kern 1988)
		—		(Kern 1988)
			$\text{m}^2\text{C/W}$	(Kern 1988)
		—		(Kern 1988)
		—		(Kern 1988)

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

3.5 Análisis económico del proceso.

El análisis económico que se realiza tiene como objetivo comparar el proceso de obtención de jarabes glucosados a partir de harina de sorgo con el que se obtiene a partir de almidón de sorgo, que incluye la etapa de extracción de almidones previamente, como se hace en la actualidad, pero a partir de maíz. Para el análisis es válido recordar que ya el equipamiento principal de la fábrica por ambas vías está. Solo hay que realizar la modificación de añadirle dos intercambiadores de calor de tubo y concha como fueron diseñados y el molino ya seleccionado para la obtención de jarabes glucosados a partir de la harina de sorgo, y dos cribas para el que parte de la extracción de almidones, como propone **Nieblas 2015** para este último caso.

3.5.1 Análisis económico de la obtención de jarabes glucosados a partir de harina de sorgo.

Como fue planteado en los balances se parte de procesar 14 300 Kg de sorgo con los que se obtienen 45 950,3 Kg de jarabe. La fábrica plantea que el plan para el año es de 1070000 Kg y que pueden cumplir con la misma en 60 días. Por lo que se deben realizar 22 producciones al año para satisfacer las necesidades existentes.

Costo de adquisición del equipamiento

Índice actual.....580,1

Índice original.....356 año 1991 ((Peters, 1991)

Tabla 3.15 Costo de adquisición del nuevo equipamiento a instalar.

Equipos	No de Equipos	Costo original (\$)	Costo actual (\$)
Molino de martillo	1	10000	1629,49
Intercambiadores de calor	2	18000	29330,90

CTI = Costo Fijo de Inversión (CFI) + Inversión de Trabajo (IT)

CTI = CFI + IT

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

IT = 15 % CTI

CFI = Costos directos+ C.indirectos + Derecho de contrato + Contingencia

Tabla 3.16. Estimación del Costo Total de Inversión.

Estimación de los Costos Directos		
Componentes	%	Costo (\$)
Costo del equipamiento (E)		30960,39
Instrumentación y control	26% E	8049,7
Instalación	39%E	12074,55
Instalaciones eléctricas	10% E	3096,03
Tuberías	31% E	9597,72
Facilidades de servicio	55% E	17028
CD		80806,62
Estimación de los Costos Indirectos		
Componentes	%	Costo (\$)
Ingeniería y supervisión	32% E	9907,32
CI		9907,32
CD + CI		90713,95
Otros Componentes	%	Costo (CUP)
Derecho de contrato	5% (CD + CI)	4535,69
Contingencia	10% (CD + CI)	9071,39
Costo Fijo de Inversión (CFI)		104321,04
Costo Total de Inversión(CTI)		122730,64

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Costo total de producción (CTP)

La estimación del costo total de inversión se realizó utilizando los factores de proporción y las ecuaciones correspondientes a la Tabla 17 del Peters. Para la estimación del costo total de producción se utilizaron los factores de proporción y las ecuaciones correspondientes que se encuentran en la Tabla 27 del Peters.

Tabla 3.17 Estimación del Costo Total de Producción.

Elementos de Costos	%	Base	Costo (\$/año)
Materias Primas	-	-	160070,39
Mano de Obra	-	-	64800
Utilidades	-	-	4187,41
Supervisión	0,1	Mano de Obra	6480
Mantenimiento y reparación	0,02	Inv. Fija	2086,42
Suministros	0,1	Mto y Rep.	208,64
Cargos de Laboratorios	0,05	Mano de Obra	3240
Costos Variables			241072,87
Impuestos	0,01	Inv. Fija	1043,21
Seguros	0,004	Inv. Fija	417,28
Costos Fijos			1460,49
Costos exteriores	0,5	MO+Sup+ Mto	36683,21
Costos de Fabricación			279216,57
Administración	0,15	MO+Sup+ Mto	11004,96
Distribución y venta	0,02	C. Total Prod	5690,99
Investigación y Desarrollo	0,02	C. Total Prod	5690,99
Gastos Generales			23097,53
Costo Total de Producción.			302314,09

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

Cálculo de la ganancia.

Tabla 3.18 Cálculo de la ganancia.

Producto	Precio (\$/Kg)	Cantidad Anual (Kg/año)	Valor del Producto (\$/año)
Jarabes glucosados	1,53	1002265,00	1528454,13
Ganancia (\$)			1 226 140,39

Indicadores de factibilidad

Tabla 3.19 Indicadores de factibilidad.

Indicador	Valor
Valor Actual Neto (VAN)(\$)	16440487.98
Plazo de Recuperación al Descuento (PRD)(años)	0,4

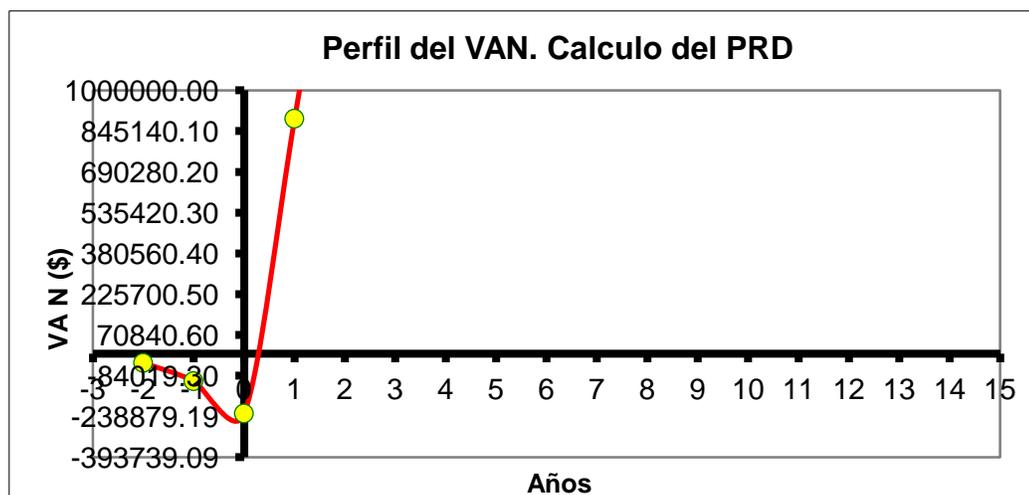


Figura 3.2 Período de recuperación de la inversión para obtener jarabes directamente del sorgo.

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

3.5.2 Análisis económico de la producción de jarabes glucosados teniendo en cuenta la extracción de almidón.

Para ver en qué medida es factible eliminar la extracción de almidones del proceso se tomaron de Nieblas 2015 los costos y equipos que hubo que añadir. Esto fue posible debido a que ella realizó el análisis para una capacidad similar a la utilizada anteriormente, es decir, parte de 25 T de sorgo y llega a obtener 10 T de almidón. Aquí se partió de 14,3 T de sorgo, del cual el 70% en peso está constituido por almidón como se reporta en la literatura, lo que quiere decir que se está trabajando con 10 T.

En la Tabla 3.20 se resumen los principales resultados obtenidos con la adición de esta etapa.

Tabla 3.20 Obtención de jarabes con extracción de almidón previamente.

Costo total del equipamiento (\$)	42203,9
Costo total de producción (\$/año)	445211,52
Ganancia (\$/año)	1083242,61
Valor Actual Neto (VAN)(\$)	14470552,38
Plazo de Recuperación (PRD)(años)	0,6

Como puede apreciarse de la Tabla 3.18 y 3.20, se obtienen ganancias anuales en los dos procesos de producción de jarabes a partir de sorgo de \$ 1 226 140,39 para la primera alternativa partiendo de harina y \$1 083 242,61 para cuando se parte de almidón, dando una diferencia entre ellas de \$142 897,78. El tiempo de recuperación de la inversión de una con respecto a la otra es casi despreciable, aproximadamente de 3 meses, sin embargo la alternativa partiendo de harina es la mejor no solo por la ganancia que aporta a la fábrica, sino que trae ahorros para el proceso al eliminar la etapa de extracción de almidón y todo lo que se deriva de esta producción adicional.

3.6 Conclusiones parciales

- La modificación que habría que realizarle al equipamiento en la fábrica de glucosa de Cienfuegos para el completamiento de la tecnología en la producción de jarabes glucosados a partir de harina de sorgo, sería adicionar dos intercambiadores de calor de tubo y concha, uno para enfriar la solución licuada y

Capítulo 3 Propuesta tecnológica. Análisis económico.

otro para inactivar la enzima en la sacarificación, además de un molino para poder obtener la harina de sorgo.

- Se diseñaron los dos intercambiadores de calor de tubo y concha obteniéndose un área de transferencia de calor de 32,6 m² con un 26% de área en exceso para el que se usa en la inactivación de la enzima y otro con 206,6 m² con un 28,37 % para enfriar la solución que se licúa.
- El análisis económico realizado de la obtención de jarabes glucosados a partir de harina de sorgo arrojó que el proceso es rentable con un Valor Actual Neto (VAN) de \$ 16 440 487,98 un Período de Recuperación (PRD) de 0,4 años.
- Eliminando la etapa de extracción de almidón se obtiene una ganancia de 1 226 140,39 \$/año para la producción de jarabe de sorgo.

Conclusiones

1. Las tres variables independientes estudiadas en el proceso de obtención de jarabes glucosados a partir de harina de sorgo por vía enzimática: relación sólido/líquido, concentración de Bialfa T y tiempo de sacarificación, resultaron ser significativas en las principales variables respuestas analizadas: Brix y ART, influyendo de forma positiva en el proceso, demostrándose en los óptimos que arrojó el análisis estadístico realizado, los cuales resultaron ser 30% p/p, 2% p/p y 48 horas de tiempo de sacarificación respectivamente.
2. Los jarabes glucosados obtenidos en comparación con los elaborados a partir de almidón de sorgo y maíz presentaron características organolépticas de buena calidad: líquido sin turbidez, libre de olores extraños y con sabor dulce, además de las características físico-químicas que son bastante aceptables.
3. La modificación del equipamiento de la Empresa Glucosa de Cienfuegos para establecer la producción de jarabes de sorgo es pequeña en comparación con los resultados que trae a la fábrica sustituir el sorgo por el maíz y además eliminar la etapa de extracción de almidones.
4. El análisis económico realizado demuestra que el proceso de obtención de jarabes glucosados es factible, obteniéndose un Valor Actual Neto (VAN) de \$ 16 440 487,98, un Período de Recuperación de 0,4 años con una ganancia de 1 226 140,39 \$/año mientras que al incluir en el proceso la extracción de almidones se obtiene un VAN de \$ 14 470 552,38, un PRD de 0,6 años y una ganancia de 1 083 242,61 \$/año.
5. La ventaja de utilizar sorgo en esta producción es que es una materia prima más barata y de alta disponibilidad en el país y su conversión a jarabes podría ahorrar maíz, que es materia de importación, además de que se podrían aumentar las producciones anuales.

Recomendaciones

1. Estudiar el proceso teniendo en cuenta la evaporación en la etapa de refinación. Si el jarabe se concentra los ART y los grados Bx aumentan, lo que conlleva a usar menos cantidad de enzima en el proceso disminuyendo de esta manera los costos de producción.
2. Realizar el proceso con las dos formas que ya se han estudiado: con extracción de almidón y sin esta etapa, usando las mismas enzimas. De esta manera podrá realizarse una mejor comparación, ya que en el estudio de Nieblas 2015 se puede notar que la cantidad de enzima que hubo que utilizar es mucho menor con respecto a la usada en este para lograr buenas propiedades en el producto final. Esto indica que el tipo de enzima influye grandemente en los resultados que se puedan lograr.

Referencias Bibliográficas

- AGRICULTURA, D. D. 2015. *El sorgo y el mijo en la nutrición humana* [Online]. [Accessed].
- BIRCH, G. G. & GREEN, L. F. Molecular structure and function of food carbohydrate. In: BANKS, W., GREENWOOD, C. T. & MUIR, D. D. (eds.) *The structure of starch*. New York- Toronto.
- BLANCO, J. C. 2002. *Producción de jarabes especiales de alta fructosa (HFS) a partir de jarabes de glucosa obtenidos de tres variedades de yuca (armenta, amarga y chile) cultivadas en la región Guanenta (Santander)*. Universidad Industrial de Santander.
- BRAUTLECHT, C. A. 1953. Starch: its Sources, Production and Uses. *Reinhold Publishing Corporation*, 319-323.
- COPELAND, L., BLAZEK, J., SALMAN, H. & CHIMNG TANG, M. 2009. Form and functionality of starch. *Food Hydrocolloids*, 23, 1527–1534.
- CORRADINI, E. 2005. Comparative studies of corn thermoplastic starches with different amylose content. *Polímeros*, 15, 268-273.
- CHAVIANO, M. 2005. El sorgo: Contribución al desarrollo sostenible y ecológico de la producción popular de arroz. *Agricultura Orgánica*, 1, 8-11.
- DAVIS, A. B. & HOSENEY, R. C. 1979. Grain sorghum condensed tannins. I. Isolation, estimation, and selective adsorption by starch. *Cereal Chem*, 56, 310-329.
- DEATHERAGE, W. L., MCMASTERS, M. M. & RIST, C. E. 1955. A partial survey of amylose content in starch from domestic and foreign varieties of corn, wheat and sorghum and from some other starch-bearing plants. *Trans. Am. Assoc. Cereal Chem.*, 13, I-42.
- DENDY D, D. B. 2001. *Cereales y productos derivados: química y tecnología*. Zaragoza: Acribia.
- DÍAZ, Y. 2014. *Perfeccionamiento del proceso de malteado de sorgo para la producción de maltinas para enfermos celíacos*. Universidad Central "Martha Abreu" de Las Villas.
- DREHER, M. L., DREHER, C. J. & BERRY, J. W. 1984. Starch digestibility of foods. A nutritional perspective. 20, 47-71.
- FERNÁNDEZ, A. 2002. *Estudio de la hidrólisis enzimática en la producción de un jarabe con alto contenido de maltosa a partir del almidón de Sagú (Maranta Arundinacea)*. Universidad de Costa Rica San José.
- FUJILL, M., MURAKAMI, S. & YAMADA, Y. 1981. *Biotechnol bioeng*, 18.
- GARCÍA, M., QUINTERO, G., RODOLFO, R. & AGUSTÍN, M. 1993. *Biología Alimentaria*. 525-534.
- GERENA, F. M. 2013. *Obtención de jarabes azucarados a partir de la hidrólisis química de residuos de cáscaras de naranja (citrus sinensis l var valencia) y papa (solanum tuberosum) variedad diacol capiro (r-12) para ser empleados como edulcorantes en la industria de alimentos*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia "UNAD".
- GONZÁLEZ, J. F. 2015. *Obtención de maltina a partir de sorgo malteado como materia prima fundamental*. Universidad Central "Martha Abreu" de Las Villas.
- GUADIX, A., GUADIX, E., PAEZ, M. P. & GONZÁLEZ, P. Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas.
- [HTTP://WWW.FAO.ORG](http://www.fao.org). [Accessed].

Referencias Bibliográficas

- [HTTP://WWW.KSGGRAINS.COM/SORGHUM/MILOMANIA](http://www.ksggrains.com/sorghum/milomania). [Accessed].
- ILLANES, F. A. 1994. Biotecnología de enzimas. *Ediciones universitarias de la universidad católica de Valparaíso*.
- JAMBUNATHAN, R. & SUBRAMANIAN, V. 1998. Grain quality and utilization of sorghum and pearl millet.
- KERN, D. Q. 1988. Procesos de transferencia de calor
- KNORR, D., HEINZ, V. & BUCKOW, R. 2006. High pressure application for food biopolymers. *Biochimica et Biophysica Acta 1764*, 619–631.
- KUSUNOKI, K. & KAWAKAMI, K. 1982. *Biotechnol Bioeng*, 24.
- LEHNINGER, A. L. 1995. *Las Bases Moleculares de la Estructura y Función Celular*, Barcelona.
- MALEKZADEH R, S. A., FAHID A. 2005. Coeliac disease in developing countries: Middle East, India and North Africa. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 19, 351-358.
- MEDINA MACOLA, J. 2015. *El sorgo una opción en la producción de jarabes dextrinizados*. Universidad de Cienfuegos "Carlos Rafael Rodríguez".
- MERA, I., HOYOS, J. L., CARRERA, J., FORERO, C. L. & VELASCO, R. V. N. 2003. Caracterización enzimática de alfa-amilasa y glucoamilasa en la hidrólisis de almidón de yuca (manihot esculenta). *Revista biotecnología I*. Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- MORALES, A. S., ALVAREZ, B. H. & SANCHEZ, C. C. 2008. Dynamic models for the production of glucose syrups from cassava starch. Short communication. *food and bioproducts processing*, 25 –30.
- MORALES, Y. & SÁNCHEZ, I. A. 2004. *Diseño conceptual y comparación técnica de los procesos de hidrólisis ácida y enzimática para la producción de glucosa a partir de almidón de yuca* Universidad Industrial de Santander.
- NAGODAWITHANA, T. & REED, G. 1993. Enzymes In Food Processing. *Academic press, Inc. Harcourt Brace & company*, 1,2,3 y 6.
- NIEBLAS MORFA, C. 2015. *Análisis de la producción de almidón y jarabes glucosados a partir del sorgo para la industria alimenticia*. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
- OCHOA, M. & HERAZO, G. 2008. BIOETANOL: Alcohol Carburante Recuperado.
- ORDÚZ, J. & VERGEL, C. 1987. *Estudio de las variables de proceso para el diseño de un reactor tubular para hidrólisis ácida continua de almidones*. Universidad Industrial de Santander.
- PARDO, M. & RIBERA, P. 2001. *Diseño de un biorreactor para la hidrólisis enzimática de almidones*. Universidad Nacional de Colombia.
- PÉREZ, A. H. 2009. *Empleo de forrajeras proteicas y sorgo energético en la dieta porcina* [Online]. [Accessed].
- PETERS, M. 1991. Plant desing and economics for chemical Engineers.
- PURSEGLOVE, J. W. 1972. Tropical crops: monocotyledons. *Longman Group Limited*, 1, 334.

Referencias Bibliográficas

- RING, S. H., AKINGBALA, J. O. & ROONEY, L. W. 1982. Variation in amylose content among sorghums.
- RODRÍGUEZ, L. 2010. *Obtención de Bioetanol a partir de sorgo, empleando las Enzimas generadas del malteo del propio grano*. Universidad Central "Martha Abreu" de Las Villas.
- ROONEY, L. W. & SERNA SALDÍVAR, S. O. 2000. Sorghum. In: K.KULP & PONTE, J. (eds.) *Handbook of Cereal Science And Techonology*. New York.
- RUIZ, M. I. 2009. *Obtención de jarabes de glucosa a partir de almidón de yuca por medio de hidrólisis enzimática, para ser usados como sustrato en la producción de bioetanol*. Universidad Industrial de Santander
- SANCHEZ LÓPEZ, A. 2002. *Obtención de jarabes de glucosa por hidrólisis enzimática de almidón extraído de tres variedades de yuca (Amarga, Armenia y Chile). Cultivadas en provincia Guanenta (Santander)*.
- SERNA SALDÍVAR, S. O. 1997. Refinación de almidón y producción de jarabes glucosados a partir de sorgo y maíz. *Investigación y Desarrollo Tecnológico*.
- SERNA, S. O. 2011. Bioconversión de almidones en jarabes dextrinizados, maltosados, glucosados y fructosados. *Quinto Simposio Internacional de Innovación y Desarrollo de Alimentos*.
- SERNA, S. S. 2002. Avances Recientes en la utilización del sorgo en América Latina. *La Calera*.
- SIKABBUBBA, R. M. 1989. *The effect of alcohol soluble proteins an the digestibility of sorghum Thèse de maîtrise*. Kansas State University.
- SINGH, R. & AXTELL, J. D. 1973. High lysine mutant gene (hl) that improves protein quality and biological value of grain sorghum. 13, 535-539.
- TORRES, L. M. 2012. Concentración de enzimas amilolíticas en la hidrólisis del almidón de gengibre. *Ciencia Rural*.
- TORRES, L. M., LEONEL, M. & MISCHAN, M. M. 2012. Concentración de enzimas amilolíticas en la hidrólisis del almidón de gengibre. *Ciencia Rural*.
- URLICH, G. D. 1985. *Diseño y econoimía de los procesos de Ingeniería Química*. VELAMAR 2013.
- WHISTLER ROY, L. & PASCHALL EUGENE, F. 1984. STARCH: Chemical and Technology. 2 ed. New York and London: Editorial Academic Press.
- WURZBURG, O. B. 1987. Modified Starches: Properties And Uses.
- WWW.FEDEBIOCOMBUSTIBLES.COM/DOCS/BIOETANOL20%PPT_PDF. 2008. *Bioetanol: Alcohol Carburante* [Online]. Octubre del 2008. [Accessed].
- WWW.MONOGRAFÍAS.COM. *Preparación de soluciones buffer usadas en inmunología* [Online]. [Accessed].

Anexos**Anexo 1 Preparación de una solución buffer de acetato.**

Solución A (ácido acético 0,2M): disolver 11,55 ml de ácido acético glacial en agua destilada completando 1 litro.

Solución B (acetato de sodio 0,2 M): disolver 27,2 g de acetato de sodio (3 H₂O) en agua destilada completando 1 litro.

En dependencia del pH al que se quiera ajustar la solución con la que se va a trabajar se utilizan las proporciones que se muestran en la tabla.

Solución A (ml)	Solución B (ml)	Agua destilada (ml)	pH
463	37	500	3,6
440	60	500	3,8
410	90	500	4
368	132	500	4,2
305	195	500	4,4
255	245	500	4,6
200	300	500	4,8
148	352	500	5
105	395	500	5,2
88	412	500	5,4
48	452	500	5,6

Anexo 2 Determinación de azúcares reductores totales (ART).

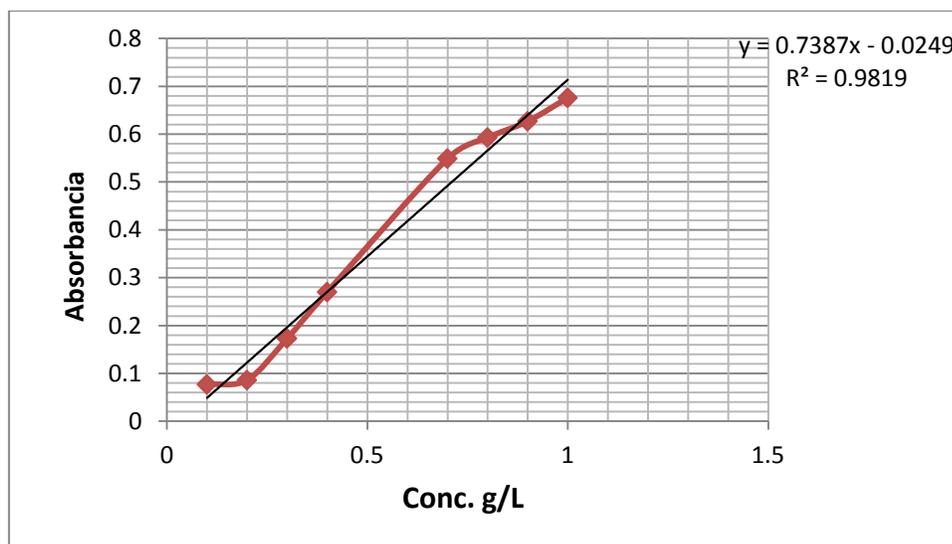
Fundamento del método

Este se basa en la relación lineal que existe entre la absorbancia y la concentración según la ley de Lambert - Beer, siendo la absorbancia medida proporcional a la concentración de azúcares reductores presentes en la muestra.

Procedimiento

1. Se añade a un tubo de ensayo 1 ml del sobrenadante centrifugado y 2 ml de la solución de reactivo 3,5 – Dinitrosalicílico mezclando bien.
2. Se colocan los tubos de ensayo en baño de agua hirviendo durante 5 minutos, extrayéndose posteriormente y dejándose enfriar hasta temperatura ambiente.
3. Se enrasan todos los tubos de ensayo hasta 10 ml con agua destilada y se lee en el espectrofotómetro a 540 nm contra un blanco preparado con 1 ml de agua destilada el cual debe sufrir la misma técnica operatoria. (Nieblas, 2015)

Para la confección de la curva de calibración se prepararon 10 soluciones a diferentes concentraciones de glucosa, midiéndose la absorbancia de las mismas, puede saberse la cantidad de glucosa obteniéndose del siguiente gráfico.



Anexo 3: Determinación del poder enzimático de las enzimas Bialfa T y Glucozyme 2X empleadas en el proceso.

La actividad enzimática se expresa en unidades (U). Una unidad representa la cantidad que libera un micromol de sustrato de glucosa en 15 minutos como se muestra a continuación:

ART (g/L): Azúcares reductores totales

V (L): Volumen de la solución preparada a la concentración deseada

M (glucosa)= $1,8 \cdot 10^{-4}$ g/ μ mol

Si se quiere obtener la actividad en función de los mililitros de enzima se divide entre la cantidad añadida en este caso 2,5 ml y se tendría la cantidad de Unidades/ml.

Anexo 4: Determinación de la acidez.

Fundamento del método.

La acidez de la muestra previamente diluida mediante valoración con solución de hidróxido de sodio usando fenolftaleína al 1 % como indicador se expresa como ácido clorhídrico.

Reactivos.

Solución de hidróxido de sodio 0.1 N, de concentración exacta.

Indicador de fenolftaleína al 1%.

Aparatos, utensilios y medios de medición.

Balanza técnica con límite máx. de 610 g y valor de división de 0,1 g.

Frasco cónico de 500 ml.

Probeta graduada de 250 ml.

Bureta de 25 ml graduada en 0,1 ml.

Procedimiento

Se pesan (50 ± 0.5 g) de sirope de glucosa en un frasco cónico de 500 ml y se diluyen con 200 ml de agua aproximadamente, se añade 1 ml de indicador de fenolftaleína al 1 % y se valora con soluciones de hidróxido de sodio 0,1 N hasta la aparición del primer color rosado permanente.

Expresión de los resultados.

Método para los cálculos.

$$\% \text{ Acidez} = (a \times 0,00365/m) \times 100$$

Donde:

a- volumen de solución de hidróxido sodio 0,1 N consumidos en la valoración en ml.

m- masa de la muestra, en g.

Anexo 5: Determinación de pH.

Este método se utiliza para la determinación del pH mediante el método potenciométrico en todos los tipos de sirope de glucosa.

Fundamentación del método.

Según la norma NC- 90-13-13:80. Aseguramiento Metrológico. Medidores de pH, Reglas generales para efectuar mediciones de pH.

Reactivos.

Según NC- 90-13-13:80. Aseguramiento Metrológico. Medidores de pH.

Reglas generales para efectuar mediciones de pH y NC-90-13-08:79.

Aseguramiento Metrológico Medidores de pH. Soluciones reguladoras de pH

Soluciones reguladoras de pH. Requisitos para la elaboración.

Aparatos utensilios y medios de medición.

- Balanza técnica con límite máximo de 610 g y valor de división de 0,1 g.
- Metro de pH exacto y confiable, equipado con electrodo de cristal y Calomer, o combinado, capaz de medir pH en un intervalo de 1 a 10, con precisión de 0,1 pH

Anexo 6: Análisis de varianza y efectos estimados de cada variable respuesta en la obtención de jarabes glucosados.

Efectos estimados para Bx (Grados)

Efecto	Estimado	Error Estd.	V.I.F.
promedio	18,1812	0,267073	
A:X1	2,8875	0,534147	1,0
B:X2	0,5625	0,534147	1,0
C:X3	1,4875	0,534147	1,0
AB	0,3875	0,534147	1,0
AC	2,2125	0,534147	1,0
BC	0,8375	0,534147	1,0
bloque	0,3875	0,534147	1,0

Análisis de Varianza para Bx

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:X1	33,3506	1	33,3506	29,22	0,0006
B:X2	1,26562	1	1,26562	1,11	0,3231
C:X3	8,85062	1	8,85062	7,76	0,0237
AB	0,600625	1	0,600625	0,53	0,4888
AC	19,5806	1	19,5806	17,16	0,0032
BC	2,80563	1	2,80563	2,46	0,1555
bloques	0,600625	1	0,600625	0,53	0,4888
Error total	9,13	8	1,14125		
Total (corr.)	76,1844	15			

Efectos estimados para ED (%)

Efecto	Estimado	Error Estd.	V.I.F.
promedio	55,04	1,65632	
A:X1	7,615	3,31263	1,0
B:X2	26,1	3,31263	1,0
C:X3	4,08	3,31263	1,0
AB	-4,58	3,31263	1,0
AC	16,245	3,31263	1,0
BC	4,655	3,31263	1,0
bloque	1,015	3,31263	1,0

Análisis de Varianza para ED

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:X1	231,953	1	231,953	5,28	0,0506
B:X2	2724,84	1	2724,84	62,08	0,0000
C:X3	66,5856	1	66,5856	1,52	0,2531
AB	83,9056	1	83,9056	1,91	0,2042
AC	1055,6	1	1055,6	24,05	0,0012
BC	86,6761	1	86,6761	1,97	0,1976
bloques	4,1209	1	4,1209	0,09	0,7671
Error total	351,153	8	43,8942		
Total (corr.)	4604,83	15			