



**UNIVERSIDAD DE CIENFUEGOS SEDE: “CARLOS RAFAEL RODRIGUEZ”
FACULTAD DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**TRABAJO DE DIPLOMA EN OPCIÓN AL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO**

Título: Obtención de jarabe fructosado a partir de jarabe de glucosa en la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosa, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa).

Autora: Zulay Suárez Sarduy

Tutor: MSc. Ing. Fernando Lorenzo Sarría Quesada

Cienfuegos 2018



PENSAMIENTO



*Se alcanza el éxito convirtiendo cada paso en
una meta y cada meta en un paso.*

C.C. Cortéz



DEDICATORIA



*A mis padres, por haberme dado la vida,
por educarme con tanto amor y dedicación,
por todo el esfuerzo que hicieron para que
yo cumpliera mis metas.*



AGRADECIMIENTOS

A mis padres, porque sin ellos nada hubiera sido posible.

A mi tutor Fernando Lorenzo Sarria Quesada, por haber confiado en mí para este trabajo y contribuir así a mi formación.

Al profesor Ramón Corona, por haberme recomendado con Sarria para desarrollar la tesis en la fábrica.

A mi novio, que siempre me brindó su apoyo incondicional.

A mi abuela, que siempre creyó en mí.

A mi hermano y mi cuñada, que siempre estuvieron al tanto.

A mis tíos, por toda su ayuda y preocupación.

A todo el que de una forma u otra contribuyó a la realización de este trabajo.



RESUMEN

Resumen

En el desarrollo de la investigación se realiza un diseño experimental factorial 2^k , a partir de cuyos resultados se establece la metodología a escala de laboratorio para la obtención de jarabes de fructosa a partir de glucosa mediante un proceso de isomerización en la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa); motivado lo anteriormente planteado a partir del supuesto que no existen antecedentes en la obtención de jarabe de fructosa mediante isomerización de glucosa en el proceso tecnológico de la empresa. Se realiza una descripción del flujo tecnológico actual para la producción de jarabe de glucosa vía enzimática el cual presenta todas las condiciones para que asimile el escalado industrial de la producción según propuesta tecnológica de trabajos anteriores. Mediante un análisis de costo-beneficio desde las aristas económica, medioambiental y social se propone la implementación de este proyecto para ser desarrollado y realizar la producción industrial del jarabe de fructosa como parte de la ampliación de surtidos en el programa de diversificación concéntrica de la empresa así como el incremento de la satisfacción de la demanda de varios clientes nacionales y las perspectivas como rubro exportable del país con un proceso tecnológico no agresivo desde el punto de vista ambiental.



ABSTRACT



Abstract

In this work It is carried out a 2^k factorial experimental and based on the results it was established a laboratory-scale methodology to obtain fructose syrups from glucose through an isomerization process in the Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa); motivated by the fact that there is no background in obtaining fructose syrup through isomerization of glucose in the technological process of the company. It was made a description of the current technological flow designated to the production of glucose syrup via enzymatic, which presents all the conditions to assimilate the industrial scale-up of the production according to the technological proposal of previous works. Through a cost-benefit analysis from the economic, environmental and social edges, the implementation of this project is proposed to be developed and to carry out the industrial production of fructose syrup as part of the expansion of assortments in the company's concentric diversification program, as well as the increase in the satisfaction of the demand of several national clients and the perspectives as exportable item of the country with a technological process that is not aggressive from the environmental point of view.



ÍNDICE

Índice	
Introducción	14
CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO	5
1.1 Edulcorantes	5
1.2 Almidón	6
1.3 Monosacáridos	7
1.4 Disacáridos	7
1.5 Glucosa	8
1.6 Fructosa	10
1.6.1 Procesos de obtención de fructosa	12
1.6.2 Producción de jarabes con alto contenido de fructosa	13
1.6.3 Otras experiencias de procesos de obtención de jarabe de fructosa a nivel mundial	14
1.7 Enzimas	16
1.7.1 Inmovilización de enzimas	17
1.8 Proceso de isomerización de glucosa a fructosa.	19
1.9 Mercado actual de la fructosa	20
CONCLUSIONES PARCIALES	22
Capítulo 2: Análisis experimental	24
2.1 Caracterización de la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa)	24
2.2 Descripción del flujo tecnológico actual del proceso de producción de jarabe de glucosa por hidrólisis enzimática de almidón de maíz.	25
2.3 Metodología del caso de estudio	29
2.4 Materiales y Métodos	29
2.5 Diseño experimental	30
2.6 Proceso de obtención de jarabes glucosados desarrollados a nivel de laboratorio. ..	31
2.7 Determinación de las variables respuestas para el jarabe glucosado	32
2.7.1 Grados Brix	32
2.7.2 Equivalente de Dextrosa (ED)	33
2.7.3 pH	33
2.7.4 Proteínas	33
2.7.5 Rendimiento de hidrólisis	33
2.8 Diseño experimental para la obtención de jarabe fructosado	34
2.9 Isomerización de glucosa a fructosa	34
2.10 Análisis de costo beneficio	35



2.11 Impacto económico, ambiental y social para la obtención de jarabe de fructosa. ..	36
Conclusiones Parciales.....	38
Capítulo 3: Análisis de resultados.....	40
3.1 Diseño experimental y resultados de la obtención del jarabe glucosado a nivel de laboratorio	40
3.2 Diseño experimental y especificaciones del jarabe de fructosa obtenido mediante la isomerización de la glucosa.....	43
3.3 Análisis de costo beneficio	48
Conclusiones Parciales.....	50
CONCLUSIONES GENERALES	52
RECOMENDACIONES:.....	54
Bibliografía.....	56
Anexos	60

INTRODUCCIÓN

Introducción

A partir de 1970, por el elevado precio en el mercado internacional de los azúcares, la investigación se ha enfocado en la generación y desarrollo de alternativas de agentes endulzantes o también denominados sustitutos del azúcar; entre estos se encuentran la panela, edulcorantes naturales como el jarabe de maíz rico en fructosa, edulcorantes artificiales como el aspartame, la sacarina, la miel y la estevia(Tovar, 2011).

Los edulcorantes se encuentran entre los principales insumos de interés industrial y por su capacidad endulzante son utilizados en la elaboración de una gran variedad de alimentos y bebidas. Los tipos más comunes y conocidos son los azúcares, siendo los más usados en la industria la glucosa, la sacarosa y la fructosa. Cada endulzante tiene sus beneficios y limitaciones dependiendo de las condiciones de uso. La fructosa es el de mayor poder endulzante de los mencionados anteriormente, además reduce los valores calóricos de estos productos, por lo que se emplea en la elaboración de dietéticos(Naranjo, 2006).

La industria de los jarabes de fructosa tomó gran auge debido a que la fructosa tiene capacidad edulcorante 30% mayor que la sacarosa, 2,5 veces mayor que la glucosa y es 2 veces más soluble que la glucosa; a su vez posee menos niveles calóricos, esto permite tener diversas aplicaciones en los tratamientos de muchas enfermedades(Salcedo, 2009).

Actualmente existen varias formas de obtener la fructosa, entre las que se destacan: la hidrólisis de la sacarosa como parte del azúcar invertido; la hidrólisis del almidón para obtener glucosa y su posterior isomerización a fructosa y la oxidación del D-manitol o del D-glucitol (sorbitol); además de otro método que en la actualidad está recibiendo mucha atención, el que involucra la obtención de este azúcar a partir de las fructanas (polímero de fructosa) presentes en algunas plantas(Vázquez, 2009).

Existen varias investigaciones y proyectos realizados con anterioridad sobre la obtención de jarabes fructosados a partir de la glucosa producida de la hidrólisis de almidones de diferentes fuentes, como por ejemplo: jarabes fructosados obtenidos a partir del almidón de yuca, con un grado de conversión del 46% a temperatura de 60 °C y pH de 7,5(Salcedo, 2009); jarabes fructosados obtenidos a partir de almidón de plátano con una conversión media de 41,3%, usando la enzima glucosa isómeras (Uribe,

2008); jarabes de fructosa obtenidos a partir de almidón de ñame, utilizando enzima inmovilizada Sweetzyme IT de Novozymes, alcanzándose porcentajes de conversión de 71,46% y 67,28% para dos especies respectivamente(Tovar, 2011).

En Cuba, sin embargo, la producción de estos jarabes se encuentra limitada al proceso de hidrólisis de la sacarosa como parte del azúcar invertido, utilizando la enzima invertasa como catalizador biológico, con lo cual no se satisface la demanda de dicho producto.

La Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa), única de su tipo en el país y segunda en América Latina, es capaz de obtener a partir del maíz, una amplia gama de productos entre los cuales se destacan como producciones fundamentales las glucosas ácida y enzimática y el almidón de maíz (maicena). Además, como producciones alternativas se elaboran las natillas saborizadas, arepas, panetelas y siropes. Las producciones fundamentales se utilizan como materia prima para la elaboración de otros productos esenciales para el desarrollo económico del país y para la alimentación del pueblo, tales como el sorbitol, caramelos, helados, confituras y otros, los cuales en su mayoría sustituyen importaciones.

En esta entidad se utiliza la fructosa como materia prima fundamental para la elaboración de siropes para refrescos, pero este producto se está adquiriendo a precios elevados con costos adicionales para su gestión y transportación. Teniendo en cuenta estas afectaciones económicas se plantea el siguiente problema científico.

Problema científico

No existen antecedentes de la obtención de jarabe de fructosa mediante el proceso de isomerización en el proceso tecnológico de la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa).

Hipótesis

Si se obtiene jarabe de fructosa de una forma eficiente, se podrá diversificar la cartera de productos y disminuir los costos económicos de la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa).

A partir del problema planteado y por la importancia que tendría este trabajo para la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz



(GydeMa) y por la connotación en la economía, el problema anterior se concreta con los siguientes objetivos.

OBJETIVOS ESPERADOS.

Objetivo general.

- 1- Obtener jarabe de fructosa a nivel de laboratorio mediante isomerización, en la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa).

Objetivos específicos

- 1- Establecer los fundamentos que sustentan los procesos tecnológicos para la isomerización de glucosa en la obtención de jarabe de fructosa.
- 2- Diseñar un estudio experimental para evaluar las condiciones de operación, a nivel de laboratorio, del proceso de isomerización de siropes de glucosa en la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa).
- 3- Evaluar los indicadores económicos de factibilidad considerando los resultados obtenidos en las pruebas experimentales desarrolladas.



Capítulo 1

CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO

Una de las materias primas de mayor utilidad en los procesos industriales de alimentos son los agentes edulcorantes. Este tipo de industria utiliza en su proceso de producción diversas materias primas, como el azúcar común o sacarosa, glucosa, lactosa, fructosa, jarabes u otro agente que produzca la sensación de dulzor agradable al paladar en los productos listos para consumir.

1.1 Edulcorantes

Se conoce como edulcorantes a las sustancias que imparten sabor dulce en un alimento. Estos se clasifican como naturales, químicos, biotecnológicos y químico-biológicos; siendo la sacarosa (natural) sin lugar a dudas el de mayor consumo mundial (Paz, 2002).

La utilización de materias primas ricas en carbohidratos tanto para la producción de biocombustibles, como para la producción de edulcorantes, tales como el maíz y caña de azúcar, propone buscar fuentes alternativas de materias primas. (Salcedo, 2009)

Respecto a los edulcorantes sintéticos, hay estudios que demuestran que son nocivos para la salud. Los edulcorantes calóricos proporcionan el sabor dulce y el volumen al alimento al cual se le han añadido. Asimismo, proporcionan frescura y contribuyen a la calidad del producto. Los edulcorantes calóricos actúan como conservantes en las mermeladas y gelatinas, y dan un sabor más intenso a las carnes procesadas. Proporcionan fermentación para los panes y salsas agridulces, aumentan el volumen de las cremas heladas y dan cuerpo a las bebidas carbonatadas. Algunos edulcorantes calóricos se fabrican al procesar los compuestos del azúcar y otros se producen de manera natural. En algunos casos, los edulcorantes no calóricos se emplean en lugar de los calóricos. Ellos no proporcionan calorías, pero sí el sabor dulce. Todos los edulcorantes no calóricos son químicamente procesados.

Los agentes edulcorantes son de gran utilidad como materia prima en la industria alimenticia en sus variados procesos de producción, entre los más usados se encuentra el azúcar común o sacarosa, glucosa, lactosa, fructosa, jarabes u otro agente que produzca la sensación de dulzor agradable al paladar en los productos listos para consumir.

Clasificación de los edulcorantes.

Existen varias formas de clasificar los edulcorantes, (Badui, 1993) entre las que destacan las siguientes:

- . De acuerdo a su origen se clasifican en edulcorantes naturales y sintéticos.
- . En base a su aporte calórico se clasifican en edulcorantes calóricos y no calóricos.
- . En base al requerimiento de insulina se clasifican en insulina dependiente e insulina independiente.
- . En base a su poder edulcorante se clasifican en edulcorantes de alta intensidad y de baja intensidad.

1.2 Almidón

El almidón es el principal polisacárido de reserva de la mayoría de los vegetales y la fuente de calorías más importante consumida por el ser humano. 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.

Los almidones representan un componente importante en un largo número de productos agroindustriales como el cereal (maíz, arroz, trigo) cuyo contenido de polisacáridos varía de 30 a 80%; legumbres (frijol, guisantes, haba) con 25–50%; tubérculos (papa, yuca) con 60–90%, como también algunas frutas tropicales como el plátano, cuyo contenido en base seca cuando está verde puede llegar a ser de 70%.

La mayoría de los almidones contienen alrededor del 25% de amilosa. Los dos almidones de maíz comúnmente conocidos como ricos en amilosa que existen comercialmente poseen contenidos aparentes de masa alrededor del 52 % y del 70-75% (Ruiz, 2015). En la amilosa las unidades de D-glucosa se presentan como anillos de piranos, la unidad de disacárido que se repite es la maltosa; es un polímero de cadena lineal o recta, que contiene 500 o más unidades de D-glucosa por moléculas, unidas mediante enlaces α -(1,4) glucosídicos. El peso molecular de la amilosa varía según su clase botánica. (Suárez, 2004)

En los últimos años se ha realizado la hidrólisis enzimática de almidón para la obtención de maltodextrinas y jarabes a nivel industrial ya que se producen jarabes de mayor calidad, pues se tiene un mayor control de la reacción, una mayor especificidad

de los productos obtenidos, menores requerimientos energéticos y la ausencia de sabores indeseables, lo cual ha desplazado a la hidrólisis ácida que era utilizada anteriormente(Sandoval, 2008).

A nivel mundial, son importantes fuentes de almidón el maíz, trigo, patata y mandioca. A escala local, o para aplicaciones especiales, se obtiene también almidón de la cebada, avena, centeno, sorgo, sagú, guisante, batata y arrurruz. El almidón es un compuesto de almacenamiento, localizado en raíces, tubérculos, frutas y semillas de plantas(Baron, 2013).

1.3 Monosacáridos

Los monosacáridos o azúcares simples son los glúcidos más sencillos, no se descomponen en otros compuestos más simples. El principal monosacárido es la glucosa, la principal fuente de energía de las células. Los monosacáridos son sustancias blancas, con sabor dulce, cristalizables y solubles en agua. Se oxidan fácilmente transformándose en ácidos por lo que se dice que poseen poder reductor. Se clasifican atendiendo al grupo funcional en aldosa con grupo aldehído y cetosas con grupo cetónico(Ruiz, 2015).

1.4 Disacáridos

Los disacáridos están formados por la unión de dos monosacáridos generalmente hexosas y son los oligosacáridos de mayor importancia biológica, están formados por la unión de dos hexosas, este enlace recibe el nombre de enlace glucosídico. Las propiedades de los disacáridos son similares a la de los monosacáridos: son sólidos cristalinos de color blanco, sabor dulce y solubles en agua. Los principales disacáridos de interés biológico son la maltosa (o azúcar de malta) y la lactosa (o azúcar de la leche) (Ruiz, 2015).

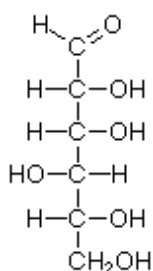
La sacarosa es un disacárido compuesto por una molécula de glucosa y una de fructosa. Es dextrógira o dextrorrotatoria, lo cual significa que gira a la derecha $+66,5^\circ$ el plano de la luz polarizada. Al calentar en un medio ácido o por acción de la enzima invertasa se descompone para formar (+) D-glucosa y D-fructosa, una mezcla de mayor dulzor que gira a la izquierda -20° el plano de la luz polarizada (levógira, levorrotatoria), invirtiéndolo de derecha a izquierda y por eso se llama azúcar invertido y al proceso inversión o hidrólisis. La sacarosa se obtiene a partir de la caña de azúcar o de la

remolacha azucarera. Es estable al aire, pero en polvo se torna higroscópica, absorbiendo hasta el 1% de humedad. Es fermentable, pero a concentraciones altas (aproximadamente 17%) resiste a la descomposición bacteriana. Además de ser un agente edulcorante se utiliza como preservante, antioxidante, excipiente, agente granulador y tenso activo en jabones, productos de belleza y tintas(Páramo, 2014).

Sus propiedades físicas de caramelización, su higroscopia relativamente baja y su estabilidad en muchos procesos para alimentos le hacen ser ideal como edulcorante en muchos alimentos, bebidas y productos de confitería.

1.5 Glucosa

La **glucosa**, también llamada **dextrosa**, es el azúcar más predominante en las plantas y los animales, y es el azúcar presente en la sangre. La forma lineal de la glucosa es un aldehído polihídrico. En otras palabras, es una cadena de carbonos con varios grupos hidroxilos y un grupo aldehído(Samora, 2018).



La glucosa es un carbohidrato, y es el azúcar simple más importante en el metabolismo humano, se llama un azúcar simple o un monosacárido, porque es una de las unidades más pequeñas que tiene las características de esta clase de hidratos de carbono. El jarabe de maíz es principalmente glucosa. La glucosa es una de las principales moléculas que sirven como fuentes de energía para las plantas y los animales. Se encuentra en la savia de las plantas y en el torrente sanguíneo humano, donde se conoce como "azúcar en la sangre". La concentración normal de glucosa en la sangre es de aproximadamente 0,1%, pero se vuelve mucho más alta en personas que sufren de diabetes.

Cuando se oxida en el cuerpo en el proceso llamado metabolismo, la glucosa produce dióxido de carbono, agua, y algunos compuestos de nitrógeno, y en el proceso, proporciona energía que puede ser utilizada por las células. El rendimiento energético es de aproximadamente 686 kilocalorías, que se puede usar para hacer trabajo o ayudar a

mantener el cuerpo caliente. Esta cifra de energía es el cambio en la energía libre de Gibbs ΔG en la reacción, la medida de la cantidad máxima de trabajo obtenible a partir de la reacción.

Las características de los jarabes se obtienen según las condiciones de hidrólisis y el medio utilizado para dicha hidrólisis, por lo que 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 dextrosa equivalente(ED).

Se le llama jarabes glucosados a hidrolizados a partir de un ED 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(Páramo, 2014).

La industria del jarabe de glucosa y almidón usa la expresión dextrosa equivalente o ED, como:

$$ED = \frac{\text{Número de enlaces glucosídicos rotos}}{\text{Número inicial de enlaces glucosídicos presentes}} \cdot 100$$

°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%.

Equivalentes de dextrosa (ED): indicativo del contenido de azúcares reductores de un edulcorante, calculado como dextrosa y expresado como porcentaje de los sólidos totales.

El ED representa el porcentaje de hidrólisis de los enlaces glucosídicos presentes. La glucosa pura tiene una ED de 100, y el almidón tiene una ED igual a cero. Durante la hidrólisis del almidón, la ED indica que tanto de almidón ha sido desdoblado.

Tabla 1.1. Cuadro estándar de un jarabe de glucosa obtenido mediante hidrólisis enzimática de almidón (Sandoval, 2008).

Componentes	% en base seca
Glucosa	94-96

Maltosa	2-3
Maltotriosa	0.3-0.5
Oligosacáridos	1-2
Materia seca en jarabe	35-37

La principal fuente para la obtención de jarabes de glucosa, entre otros productos relacionados ha sido el almidón de maíz. Sin embargo, desde hace algunos años se ha utilizado almidones de otras fuentes como son la yuca, papa, arroz, amaranto y plátano entre otras (Sandoval, 2008).

Los jarabes de glucosa y dextrina son fabricados principalmente del almidón que se extrae del maíz. La literatura sobre los procedimientos a utilizar, en su mayoría se refiere al almidón de maíz y su hidrólisis. Generalmente se le conoce a los hidrolizados de maíz como siropes de maíz solamente y no como jarabes de dextrina glucosa (Paz, 2002).

Durante el proceso de obtención de jarabe de glucosa se involucran dos etapas enzimáticas: (Sandoval, 2008)

1. La licuefacción del almidón por la enzima α -amilasa.
2. La sacarificación, donde se emplea la enzima glucoamilasa.

1.6 Fructosa

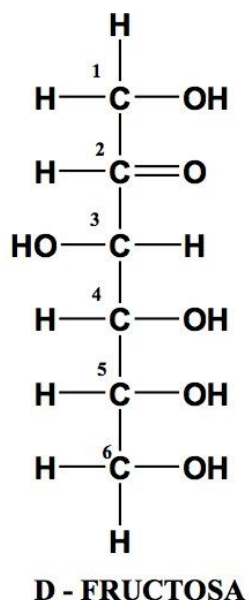
Este endulzante natural, es un hidrato de carbono simple que cumple la función de edulcorante. Se obtiene extrayéndolo de las frutas, miel y de la mayoría de las verduras. Encontrándose también en el néctar de las flores, esto explica porque se encuentra en la miel. La podemos encontrar en muchas frutas, como manzana, higos, uvas. Y también en productos vegetales como el tomate, la zanahoria, la col etc. Puede estar presente libre, como por ejemplo en la miel.

Se utiliza como edulcorante para los diabéticos ya que tomado en dosis moderadas no precisa insulina para ser metabolizado. A diferencia del azúcar refinado que se absorbe instantáneamente produciendo una subida y una bajada rápida de energía, la fructosa, es metabolizada y guardada, en parte, por el hígado en forma de glucógeno como reserva

para cuando necesitemos hacer un esfuerzo. La fructosa produce escasos efectos en el nivel de glucosa en la sangre y no estimula la secreción de insulina. Ideal en dietas que necesiten tener lo más equilibrado posible los niveles de insulina (diabéticos, deportistas y sobre todo personas que quieren adelgazar).

La fructosa es una hexosa isómera de la glucosa, pero a diferencia de ésta que es una aldohexosa, la fructosa es una cetohexosa. La fructosa es otro monosacárido muy abundante en la naturaleza y además se forma durante la degradación de la glucosa.

La fructosa también puede formar un hemiacetal interno, pero como el carbonilo (el grupo cetónico) está en el carbono 2, la reacción es entre el oxígeno del carbono 2 y el hidroxilo del carbono 5 (el átomo de carbono asimétrico más alejado del carbonilo). De tal manera que se forma un pentágono y no un hexágono como con la glucosa, quedando fuera del anillo dos átomos de carbono, el 1 y el 6. A esta estructura se le llama forma piranosa. De esta reacción surge un nuevo centro asimétrico: el carbono 2. En la Fórmula 8.9 se aprecia la formación del hemiacetal interno, lo que produce la α -D-fructopiranososa y la β -D-fructopiranososa. (Guerra, 2017)



La fructosa cuenta con grandes ventajas como son:

- La fructosa, al tratarse de un carbohidrato, constituye una importante fuente de energía para el cuerpo humano.

- La fructosa no aumenta la glucosa de la sangre.
- Tradicionalmente la fructosa se ha utilizado como edulcorante para los diabéticos.
- La fructosa endulza más que el azúcar blanco o refinando y aporta sólo 4 kilocalorías por gramo.
- Se sabe que la fructosa es metabolizada y guardada en parte por el hígado en forma de glucógeno, como reserva para cuando necesitamos hacer un esfuerzo.

El dulzor de la glucosa y la fructosa, en relación con la sacarosa es muy diferente entre los dos isómeros. La glucosa es 85% tan dulce como la sacarosa y la fructosa es 180% más dulce que la sacarosa.

1.6.1 Procesos de obtención de fructosa

La fructosa puede obtenerse de varias formas entre las que destacan la hidrólisis de la sacarosa como parte del azúcar invertido; la hidrólisis del almidón para obtener glucosa y su posterior isomerización a fructosa y la oxidación del D-manitol o del D-glucitol (sorbitol). Actualmente otro método para producir fructosa y que está recibiendo mucha atención, involucra la obtención de este azúcar a partir de las fructanas (polímero de fructosa) presentes en algunas plantas (Vázquez, 2009).

Todos los procesos para la producción de fructosa que han sido planteados desde los comienzos de los años 60, usan almidón de maíz como materia prima. En general estos procesos industriales se basan principalmente en: un proceso enzimático típico que produce un jarabe de glucosa de 94% en peso seco y 6% de oligosacáridos. En segundo lugar, la isomerización de la glucosa usando un proceso enzimático catalítico que produce un jarabe del 42% en fructosa, 52% de glucosa y 6% oligosacáridos (Naranjo, 2006).

Normalmente, el enriquecimiento de la fructosa se lleva a cabo en una columna empacada con un lecho de una resina de intercambio catiónico, la cual separa la fructosa de la glucosa y otros indeseables productos de la isomerización. Al final de este paso se ha obtenido un jarabe enriquecido, denominado como *VeryEnrichedFructoseCornSyrup* (VEFCS), el cual contiene aproximadamente 90% de fructosa en base sólida. Esta fracción VEFCS, la cual también contiene glucosa y algunos oligosacáridos, es usada como alimento para una separación final y un paso de purificación el que consiste en la cristalización de la fructosa de la solución acuosa o de una solución acuoso-alcohólica.

Luego, la centrifugación, el lavado y secado de los cristales para obtener finalmente la fructosa cristalina anhidra (Silva, 2006).

La industria de los jarabes de fructosa tomó gran fuerza debido a que la fructosa tiene capacidad endulzante mayor que la sacarosa y que la glucosa y es 2 veces más soluble que la glucosa; a su vez posee menos niveles calóricos, lo que le permite tener amplia aplicación en los tratamientos de diversas enfermedades. En el mundo, la mayor parte de la fructosa se obtiene de la hidrólisis del almidón de maíz a glucosa seguido por la isomerización de glucosa a fructosa, sin descartar lo que se produce de otras fuentes ricas en carbohidratos, aunque la azúcar de caña continua siendo el edulcorante de mayor preferencia, hasta mediados de los 90 se apreció una tendencia de su sustitución por otros, ya sean calóricos o artificiales (Salcedo, 2009).

1.6.2 Producción de jarabes con alto contenido de fructosa

Estos jarabes, de importante valor comercial, se han logrado obtener por hidrólisis enzimática del almidón de maíz principalmente. Están constituidos por una mezcla del 42 al 90% de fructosa y el resto de glucosa. El método tradicional para su producción requiere por lo menos de tres enzimas; α -amilasa, glucoamilasa y glucosa isomerasa; así como, de varias etapas de separación, purificación conversión, decoloración y concentración, de esta manera se obtienen jarabes con una concentración de fructosa superior al 42%.

Con objeto de simplificar el proceso de elaboración y disminuir el costo del mismo, se han explorado varias alternativas entre las que destacan la inmovilización de enzimas, la optimización del proceso tradicional de producción y recientemente, se está recurriendo al uso de plantas que producen y acumulan fructanas como fuentes más viables para la producción industrial, tanto de jarabes con alto contenido de fructosa como de fructosa cristalina (Vázquez, 2009).

Los jarabes con alto contenido de fructosa constituyen un producto transparente y líquido, que permite alcanzar notables propiedades de pureza. Son jarabes muy dulces; si consideramos el poder endulzante de la sacarosa como 100, el de la fructosa es de 180.

En una época, el azúcar de mesa era el edulcorante preferido. El azúcar de mesa (o sacarosa) está compuesto en partes iguales de dos moléculas de azúcar: glucosa y

fructosa, la fructosa es la más dulce de las dos. Los fabricantes de alimentos, que buscaban reemplazar el azúcar por un producto más económico, recurrieron al jarabe de maíz. El problema era que el jarabe de maíz (hecho con almidón de maíz) sólo contenía glucosa. Sin la fructosa, no es tan dulce como el azúcar. Luego de muchos experimentos, los científicos finalmente perfeccionaron el proceso de convertir aproximadamente la mitad de la glucosa en fructosa. El resultado fue un jarabe de maíz “con alto contenido de fructosa”, al que se denominó como tal simplemente porque el jarabe de maíz común no tiene fructosa. Muchas personas se sorprenden al saber que el jarabe de maíz con alto contenido de fructosa tiene aproximadamente la misma proporción de glucosa y fructosa que el azúcar de mesa común.

1.6.3 Otras experiencias de procesos de obtención de jarabe de fructosa a nivel mundial

- Jarabe obtenido a partir del Tiquisque

La investigación realizada por el Centro de Investigaciones en Productos Naturales, de la Universidad de Costa Rica, sobre la “Producción de Jarabe de Fructosa con Enzimas Inmovilizadas en un Proceso Continuo a partir de Tiquisque” logró producir jarabe de fructosa partiendo de una fuente no tradicional de almidón: el Tiquisque (*Xanthosomasagittifolium*). El jarabe de fructosa se produjo por tratamiento enzimático con una isomerasa (*Sweetzyme IT*) inmovilizada usando como sustrato jarabe de glucosa producido previamente. Se evaluó el efecto del flujo del jarabe a través de la enzima inmovilizada (0,5 y 1,0 mL/min), la concentración del jarabe de glucosa (40 y 45°Brix) y la temperatura (55 y 60 °C), utilizando un diseño factorial 2^3 . Los jarabes obtenidos experimentalmente presentaron un mayor contenido de fructosa que el jarabe comercial (HFCS----42) (Salazar & Peñaranda, 2012).

- Jarabe obtenido a partir almidón de yuca

Por otra parte, este trabajo desarrolla una investigación con el objetivo de producir y evaluar el rendimiento de jarabes de fructosa a nivel de laboratorio, a partir de jarabes de glucosa obtenido por medio de hidrólisis enzimática de almidones extraídos de dos variedades de yuca, C. Orense y C. M Tai-8. Para el desarrollo del trabajo, se

implementó un diseño experimental de múltiple factor categórico completamente al azar con dos factores, el factor concentración de sustrato en cinco niveles (10, 20, 30, 40 y 50 % p/v de concentración de almidón) y el factor variedad de yuca en dos niveles (C. Orense y C. M Tai-8), con tres repeticiones, en un total de 30 unidades experimentales. Se lograron obtener jarabes fructosados con un grado de conversión del 46% a partir de jarabes glucosados con una concentración de 34,7 p/p, los resultados demostraron el efecto de inhibición significativo de los iones de calcio sobre la actividad enzimática, a condiciones de temperatura de 60 °C y pH 7,5 (Salcedo, 2010).

- Jarabe obtenido a partir almidón de ñame

En este trabajo realizado por Jairo.G Salcedo se evaluó el rendimiento de la producción de jarabes de fructosa a partir del almidón extraído de dos especies de ñame. Se estableció un diseño experimental multifactorial categórico completamente al azar con dos factores: concentración de sustrato en cinco niveles: 10, 20, 30, 40, 50% p/v, y la especie de ñame en dos niveles: Dioscorea alata, var. Diamante y Dioscorea rotundata, var. Espino. Para la obtención de fructosa, inicialmente se prepararon jarabes de glucosa por medio de hidrólisis enzimática del almidón de ñame, utilizando las enzimas de Novozymes®, alfa-amilasa Termamyl 120L (etapa de licuefacción) y aminoglucosidasa (AMG) 300L (etapa de sacarificación). Los mejores resultados se alcanzaron a una concentración de sustrato del 30% p/v para ambas especies de ñame, las cuales presentan concentraciones de 220,57 y 210,36 g de fructosa/L, con conversiones de glucosa a fructosa de 71,46% y 67,28% para ñame Espino y Diamante respectivamente (Salcedo, 2010).

- Jarabe obtenido a partir del plátano maduro

Se estudió el efecto de factores tales como la relación fruta: agua, concentración de enzima alfa-amilasa y concentración de enzima amiloglucosidasa en la obtención del jarabe de glucosa y fructosa a partir de plátano maduro de desecho (*Musa paradisiaca*) mediante la hidrólisis enzimática del almidón. El contenido de azúcares reductores en el producto sin concentrar fue de 88,25 mg/ml, el contenido de glucosa de 18,9 mg/ml, el contenido de fructosa de 14,76 mg/ml, el rendimiento volumétrico de 10 %, la

viscosidad aparente de 562,5 centipoises (10- 3 Pas), los sólidos solubles finales fueron de 74 °Brix y un valor de pH de 4,4(Moreno, 2015).

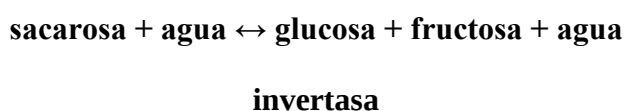
1.7 Enzimas

Las enzimas son catalizadores biológicos (proteínas), entre sus características se encuentra la capacidad de acelerar ciertas reacciones químicas. Su importancia ha ido en aumento en los últimos años, ya que están presentes en procesos industriales destinados a la producción de fármacos, aditivos, detergentes, bebidas, por mencionar algunos casos. Recientemente se emplea en industrias tal como la cervecera, enzimas inmovilizadas, con la finalidad de reutilizar el catalizador y poder incrementar la productividad (Páramo, 2014).

Según (Páramo, 2014) una de las principales ventajas de las enzimas además de las de índole económica o biotecnológica, se asocia a su gran especificidad de acción, lo cual evita reacciones laterales imprevistas. Así mismo, se pueden trabajar en condiciones moderadas: presión atmosférica, temperaturas bajas o medias y pH de 3 a 10, obviamente las condiciones varían en función de la enzima que se trate.

Las enzimas no sólo son importantes en biología, sino en la industria. Las enzimas ofrecen dos ventajas importantes para los procesos de fabricación y productos comerciales; primero, permiten incrementos muy grandes en las velocidades de reacción, aun a la temperatura ambiente; segundo, son relativamente específicas y se pueden utilizar para identificar reactantes seleccionados. Posiblemente la mayor desventaja de las enzimas industriales sea su suministro relativamente escaso (y consecuentemente su costo más elevado comparado con los tratamientos químicos tradicionales).

Las enzimas son proteínas que aceleran las reacciones termodinámicamente posibles en los seres vivos. La mayoría de las enzimas son de origen globular. La sacarosa es hidrolizada a fructosa y glucosa por una enzima, que se conoce con el nombre de invertasa. Esta reacción se puede representar de la siguiente manera:



La enzima glucosa isomerasa transforma la glucosa en fructosa que es más soluble y más dulce. Se usa en la elaboración de jarabes. Fue descubierta en 1957 por Marshall y Koi, en *Pseudomonasbydrophila*. Actualmente hay una extensa gama de preparaciones comerciales de glucosa isomerasa. Cabe señalar que la glucosa isomerasa, es una de las raras enzimas no hidrolíticas usadas en la industria, se utiliza por lo general en forma inmovilizada (Páramo, 2014). Según este propio autor, se requieren procesos de separación para obtener fructosa pura, pero no para la obtención de jarabes con 42% de fructosa, porque éstos presentan propiedades similares a las de los jarabes de azúcar invertido. Estos se producen en algunos países industrializados por acción de esta enzima; inicialmente la producción en gran escala de jarabes fructosados se llevó acabo usando células completas o enzima soluble.

1.7.1 Inmovilización de enzimas.

Las enzimas son biocatalizadores de origen biológico. Para llevar a cabo procesos en los que son utilizadas las enzimas como catalizadores, es importante considerar el mantenimiento y la estabilidad estructural de estas para reutilizarlas, aumentar la eficiencia de producción y facilitar la recuperación de la enzima al final de la reacción. Una enzima inmovilizada es aquella que se encuentra confinada en un espacio definido en el que se retiene su actividad catalítica y puede ser reutilizada continuamente. Se han desarrollado varias técnicas para la inmovilización de enzimas, las cuales permiten su uso y aplicación en muchas áreas como en la producción de alimentos, farmacéuticos, biomedicina, como biosensores en métodos analíticos, entre otras. Lo anterior ha sido de gran impacto al minimizar los costos de operación y la fácil recuperación de la enzima y la recuperación del producto(Cedillo, 2014).

La inmovilización de enzimas permite una mejora significativa de su estabilidad, lo que hace posible su empleo en la producción industrial de productos químicos, farmacéuticos, alimentos; en el tratamiento de residuos; en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, y otras muchas aplicaciones. En esta revisión se analizan los diferentes métodos de inmovilización de enzimas, y el efecto sobre las propiedades catalíticas y la estabilidad de los biocatalizadores obtenidos.

Según (Arroyo, 1998) la inmovilización de enzimas es un proceso en el que se confina o localiza a la enzima en una región definida del espacio, para dar lugar a formas insolubles que retienen su actividad catalítica y que pueden ser reutilizadas

repetidamente. Posteriormente esta definición se ha ampliado a aquel proceso por el cual se restringen, completa o parcialmente, los grados de libertad de movimiento de enzimas, orgánulos, células, etc. por su unión a un soporte. Este proceso tiene ciertas ventajas e inconvenientes tales como:

Ventajas

1. El aumento de la estabilidad de la enzima
2. La posible reutilización del derivado, por lo que disminuyen los costes del proceso.
3. La posibilidad de diseñar un reactor enzimático de fácil manejo y control, adaptado a la aplicación de la enzima inmovilizada. Estos reactores con enzimas inmovilizadas permiten el empleo de cargas elevadas de enzima, la cual mantendrá su actividad durante más tiempo. Estos sistemas pueden incluir el reciclado, lo que permite la obtención de productos con mayor pureza.

Inconvenientes

1. La alteración de la conformación de la enzima respecto de su estado nativo.
2. La gran heterogeneidad del sistema enzima-soporte donde pueden existir distintas fracciones de proteínas inmovilizadas con un diferente número de uniones al soporte.
3. Siempre suele haber una pérdida de actividad de la enzima durante la movilización.
4. El biocatalizador es más caro que la enzima nativa.

En general, los métodos de inmovilización se suelen clasificar en dos grandes categorías: Retención física y Unión química.

Métodos de inmovilización de enzimas por Retención física:

- Atrapamiento
- Inclusión en membranas dividida en: Microencapsulación y Reactores de membrana

Métodos de inmovilización de enzimas por Unión química:

- Unión a soportes
- Adsorción

- Unión covalente
- Reticulado

1.8 Proceso de isomerización de glucosa a fructosa.

La reacción de isomerización de glucosa hasta fructosa es reversible, de pseudoprimer orden, lo que indica que las constantes de Michaelis-Menten en ambos sentidos son prácticamente iguales, y, por tanto, que la afinidad de ambos isómeros por la enzima es muy próxima (Rubio, 1994) y se produce una mezcla de glucosa y fructosa, la velocidad de conversión depende de la enzima usada y de las condiciones de la reacción, como la temperatura, pH y tiempo de reacción.

(Gaily, 2013) plantean que la cinética de isomerización enzimática usando la enzima glucosa isomerasa se ajusta en el rango de temperatura de 40-70°C, pH de 7,5-8,5. El jarabe de glucosa que se utiliza para la isomerización debe presentar un ED de 90-92 y una concentración de sólidos solubles de 35 a 45.

Con la tecnología actual de isomerización enzimática, la conversión de glucosa a fructosa es económicamente limitada al 42 % de fructosa. La concentración de fructosa en el sirope puede ser mejorada mediante la remoción de la glucosa o por la aplicación de métodos de separación cromatográfica multietapa (Gaily, 2013) ; (Salazar & Peñaranda, 2012)

En el mundo, la mayor parte de la fructosa se obtiene de la hidrólisis del almidón de maíz a glucosa seguido por la isomerización de glucosa a fructosa, sin descartar lo que se produce de otras fuentes ricas en carbohidratos, aunque la azúcar de caña continúa siendo el edulcorante de mayor preferencia (Salcedo, 2009).

Actualmente, la producción industrial de jarabe de fructosa se lleva a cabo manteniendo la glucosa en contacto con la enzima glucosa isomerasa durante un período de 2 a 3 días aproximadamente para el caso de una producción discontinua. Para llevar a cabo la isomerización mediante un proceso continuo se deben mantener los jarabes en contacto con la enzima inmovilizada durante un tiempo de 15 a 20 horas (Gaily, 2013) (Salcedo, 2009).

1.9 Mercado actual de la fructosa

Desde 1970 el Jarabe de Maíz de Alta Fructosa (JMAF) ha desplazado la sacarosa, convirtiéndose en el endulzante más ampliamente utilizado a nivel mundial. El mismo ha cobrado relevancia en el mundo como un producto sustituto del azúcar y que, desde su introducción hasta la fecha, ha venido ganando participación en el mercado de edulcorantes. Debido a la necesidad de obtener sustancias de bajo costo y alto rendimiento. Su importancia, desde su aparición en el mercado, resultó trascendental, por ser este un producto sustituto del azúcar para el consumo en los hogares, y principalmente para su consumo industrial en la elaboración de alimentos y bebidas.

Los principales países productores de estos jarabes son Estados Unidos, Japón y algunos de la Unión Europea, estas naciones concentran las 80 plantas productoras de JMAF que dominan el mercado (Uribe, 2008).

El crecimiento promedio anual de la producción mundial de fructosa durante el período de 2006/2007-2010/2011 fue de 3,5%, ubicándose en niveles de 467,2 mil toneladas para el último ciclo. La oferta de fructosa en el mundo en el período de 2006/07 a 2010/11 se incrementó un 19,2% en promedio anual. Por último, el consumo se ha incrementado a una tasa promedio de 19,2% para el período mencionado. La industria azucarera de los Estados Unidos se caracteriza comercialmente por precios altos y fuertes barreras a la entrada en forma de aranceles, y un consumo mayor a la producción. Lo anterior, ha ocasionado una importante penetración de la fructosa en el mercado norteamericano (Secretaría de Economía, 2012).

De esta forma, la fructosa en el mundo no sólo ha penetrado en el mercado que antes tenía el azúcar, sino que ha ganado mercado en forma acelerada, esto es, si se compara con las menores tasas de crecimiento de la producción y consumo de azúcar en el mundo en los más recientes ciclos. De continuar esta tendencia, la fructosa continuará ganando y consolidando su mercado a nivel mundial.

Principalmente, Estados Unidos ha desarrollado la industria de los edulcorantes a partir del almidón de maíz ya que cuenta con importantes ventajas en costos de producción, abundancia de materia prima, transporte, almacenamiento y tecnología de proceso; aunado a que las cotizaciones de los jarabes fructosados siempre han sido de 10 a 20 % inferiores al precio del azúcar (Uribe, 2008).

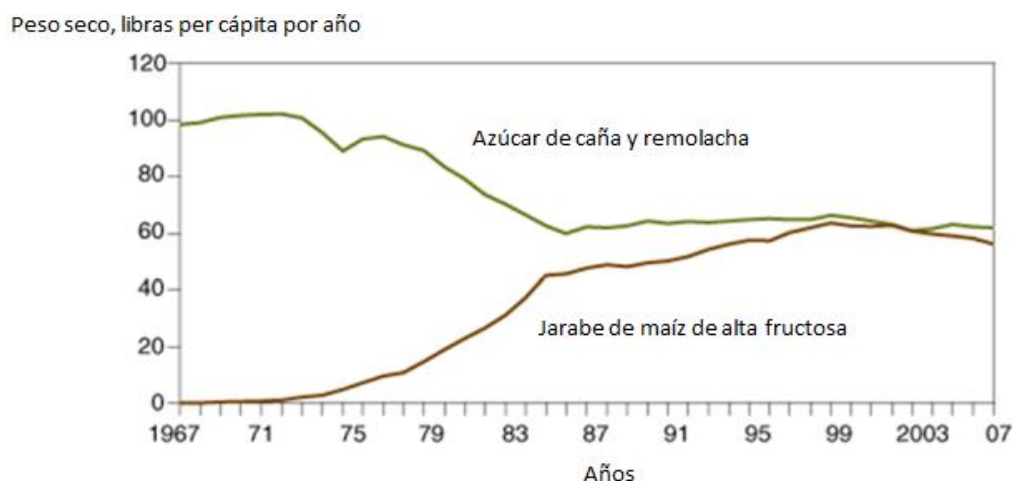


Figura 6: Consumo de jarabes de maíz de alta fructosa y sacarosa en Estados Unidos.

Fuente: (Parker, 2010).

Según(Chávez, 2014), la producción de azúcar en México se ha mantenido en los últimos años, y su dinámica de crecimiento la ubica en 0,02% en promedio anual durante el período de 2000/01-2009/10. En contraste, la producción de JMAF se ha incrementado a una tasa promedio de 15,6% anual, y su participación en la producción de edulcorantes en México ha pasado de 3,3% a 8,3%. Lo anterior, no sólo es debido a la pérdida de productividad y competitividad de la industria azucarera, sino que también es debido a la presencia y mayor dinámica de crecimiento del JMAF, como producto sustituto en el consumo de edulcorantes en México, principalmente en los sectores de alimentos y bebidas.

CONCLUSIONES PARCIALES

1. La fructosa presenta el mayor poder endulzante entre todos los edulcorantes naturales más conocidos.
2. El proceso de isomerización de jarabes de glucosa es una solución viable para la obtención de jarabes de fructosa.
3. La inmovilización de enzima garantiza la especificidad de la acción de esta sobre los sustratos que se tratan y permiten una disminución apreciable de los costos de producción.



Capítulo 2

Capítulo 2: Análisis experimental

2.1 Caracterización de la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa)

La Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa) perteneciente a la OSDE LABIOFAM del Ministerio de la Agricultura, es única de su tipo en el país y se encuentra localizada en la Zona Industrial #2 del Reparto Pueblo Griffo, en la provincia de Cienfuegos, exactamente en la periferia noreste de la ciudad cabecera. Limita al norte con la Empresa DIVEP, al este con la Fábrica de hielo, Almacenes de Productos Frescos y con la Línea de Ron HRL, por el oeste con la Carpintería en Blanco y el Taller de Ómnibus Escolares y al sur con el asentamiento poblacional de Pueblo Griffo.

Esta empresa se puso en marcha en 1981, luego de un período inversionista que duró 6 años, con equipamiento proveniente de las firmas Alfa Laval de procedencia sueca y la DDS Kroyer de Dinamarca.

La misma se construyó con el objetivo de producir diariamente 90 toneladas de sirope de glucosa, 9 toneladas de gluten, 7 toneladas de germen, 19 toneladas de licor de remojo y 21,5 toneladas de forraje, cifras que nunca se han podido alcanzar debido a la falta de un suministro estable del maíz que es su materia prima fundamental, a la falta de piezas de repuestos y de un mantenimiento adecuado por lo que actualmente después de más de 35 años de explotación cuenta con una capacidad instalada de un 38 % con respecto a la de diseño.

El proceso tecnológico de la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa) está compuesto por varias plantas: la Planta de producción de Almidón, la Planta de producción de Siropes de Glucosa, la Planta de Mezclas Secas, Planta de Producción de Concentrado Proteico para Alimento Animal y la planta de producción de Siropes para Refrescos a partir de Fructosa. Además de contar con un sistema de facilidades auxiliares comunes a todas las plantas como son: el sistema de generación de vapor, que dispone de dos calderas de tubos de fuego con una capacidad de 8 y 12 toneladas de vapor por hora respectivamente. El abasto de agua potable se realiza mediante un complejo de cisternas con una capacidad de almacenamiento de 4500 m³ y un tanque elevado desde el cual por gravedad se abastece

la industria. Así como una planta de tratamiento de residuales, donde se procesan los residuales líquidos generados tanto en el proceso industrial como los sanitarios y albañales.

2.2 Descripción del flujo tecnológico actual del proceso de producción de jarabe de glucosa por hidrólisis enzimática de almidón de maíz.

En este proceso se utilizan dos enzimas, cuyo uso a nivel industrial en la producción de alimentos ha adquirido relevancia; debido no solo a las ventajas de índole económico o tecnológico que ofrecen, sino debido a su gran especificidad de acción que hace que no se produzcan reacciones colaterales imprevistas, así como a que permiten trabajar en condiciones moderadas de presión atmosférica, temperatura y pH, lo que evita alteraciones de los componentes más lábiles de los alimentos, además las enzimas se pueden inactivar fácilmente cuando culminen su misión en el proceso. Sobre la actividad de las enzimas influyen diferentes factores, que deben ser adecuadamente controlados en las condiciones industriales, como son: la temperatura, el pH, los iones calcio y la concentración de materia seca del sustrato sobre el cual actúan.

A continuación, se describen las etapas fundamentales del proceso de producción de glucosa enzimática en la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa):

Primeramente se procede a preparar la lechada de almidón, con el objetivo de garantizar que la suspensión acuosa del almidón de maíz se encuentre en los rangos de parámetros establecidos (pH y dosificación de enzima) para dar paso a la etapa de conversión. Esta suspensión que presenta una densidad de 17- 17,5 °Bé, un contenido de proteínas de 0,8%, una temperatura de 29-35°C llega al tanque C1140 A, que presenta agitación, donde se le añade el carbonato de sodio (Na_2CO_3), con densidad de 10 – 13 °Be para ajustar el pH de 6,5-6,7. Luego se adiciona una alfa amilasa termoestable, la enzima Bialfa T, cuya dosificación se realiza mediante una bomba dosificadora de 25-30 ml/min y se efectúa cuando la etapa de conversión está lista para recibir la suspensión acuosa de almidón de maíz.

El objetivo principal de la etapa de conversión es desdoblar las cadenas carbonadas del almidón en glucosa mediante la hidrólisis enzimática. Este proceso comprende tres

etapas conocidas como gelatinización del almidón, licuación o licuefacción del almidón y sacarificación (Monteagudo, 2012).

Por medio de calentamiento a temperaturas entre 105 a 115°C en un reactor continuo con altas presiones se lleva a cabo la licuefacción del mismo, el ataque de la enzima ocurre simultáneamente con la gelatinización para evitar que ocurran valores picos de viscosidad y obtener equivalentes de dextrosa (ED) entre 5 y 7 (Monteagudo, 2012). Para esta operación se utiliza el reactor de flujo pistón (C-7200), cuyo consumo de vapor es de 1 600 kg/h y su presión de trabajo de 20-25 kg/cm². El tiempo de retención aproximado en el reactor es de 5-7 min.

El reactor se pone en marcha y se corre con agua hasta que alcance la temperatura deseada. Se cierra la válvula C-6 218 y se comienza a recircular la suspensión acuosa proveniente del tanque C-1 150. El operador fiscalizado por el laboratorio realiza la prueba de yodo para determinar si el producto se encuentra convertido; si el resultado es de color violeta se puede evaluar la prueba de positiva y se acciona posteriormente la válvula de adelanto C-6 219.

A la salida del convertidor el producto en proceso presenta una concentración de 34-40°Brix, un ED de 5-7, pH entre 6,5 y 6,7; un aspecto turbio y color amarillento.

Posteriormente se procede a la etapa de dextrinización, con el objetivo de formar dextrinas, que serán un excelente sustrato para la enzima sacarificadora y una pequeña formación de glucosa.

Para esta operación se utiliza el tanque reactor número 1 de sacarificación C-1 610/1, con una capacidad de 45 m³, provisto de agitación y térmicamente aislado.

El hidrolizado llega a este reactor, procedente de la etapa de conversión, luego de disminuir su temperatura hasta 95°C, donde alcanza un tiempo de retención de 2 horas aproximadamente, equivalente a un 35% de su volumen total para llegar al reboso. Se logra un ED de salida de 10 a 15, con un óptimo en 12, para pasar posteriormente a la etapa de sacarificación. Cuando se está terminando de convertir un ciclo, el producto que queda por debajo del reboso se le da una hora y media de retención en el reactor y después se extrae por debajo para el tanque de sacarificación que se esté llenando.

A la salida de esta etapa el hidrolizado debe tener un ED entre 10 y 15, una concentración de 34 a 40°Bx, un pH de 6,5-6,7 y una temperatura de 80 a 90°C, para

pasar a la posterior etapa de sacarificación, cuyo objetivo tecnológico principal es completar la hidrólisis en aras de obtener un jarabe con alto contenido de glucosa y lograr los parámetros establecidos de equivalentes de dextrosa (ED) en un tiempo de 24 a 48 horas.

Con este fin se utiliza la enzima glucogénica GLUCOZYME 2X. Se utilizan en esta etapa tanques isotérmicos C-1 610/ del 2 al 6 provistos de agitación, con capacidad de 45 m³. Se utilizan serpentines para mantener la temperatura de trabajo.

Antes de comenzar la sacarificación de un tanque se deben tener los parámetros de pH y temperatura en rangos para la actividad de la enzima amiloglucosidasa (AMG). Para el ajuste de pH en el hidrolizado, que debe estar entre 4,5 y 4,7; se utiliza ácido clorhídrico de 26 a 30 % de pureza, cuya dosificación se realizará a partir de los resultados emitidos a escala de laboratorio.

Para lograr la temperatura de trabajo en el hidrolizado, que debe estar comprendida entre 60 y 61°C se circula agua fresca a través del serpentín del tanque dispuesto a sacarificar, utilizando agitación constante. Cuando el hidrolizado presenta condiciones óptimas de pH y se alcanza la temperatura deseada se detiene la circulación de agua y se procede a realizar la dosificación de la enzima AMG. Los litros de enzima a añadir serán calculados a partir del contenido de materia seca en el hidrolizado.

Durante el proceso de sacarificación se debe mantener la temperatura de trabajo, la cual es muestreada y analizada por el laboratorio. El tiempo de retención en los tanques de sacarificación oscila entre 24 y 48 h, siempre que el ED continúe aumentando. Cuando el mismo se mantenga fijo en dos ocasiones por la secuencia de análisis establecida o comience a disminuir, estando por encima de 92 se comienza a inactivar la enzima de este tanque. A la salida de esta etapa el producto en proceso debe presentar un ED de 92 como mínimo, una concentración de 34 a 40°Bx, un pH de 4,5 a 4,7; una temperatura de 60 a 61°C y un color amarillento.

Posteriormente se procede a inhibir la acción catalítica de la enzima GLUCOZYME 2X, cuando los valores de ED en la etapa de sacarificación sean los deseados. Por regla general, manteniendo el licor sacarificado a 80°C durante 20 minutos se destruye toda actividad de la amiloglucosidasa (Monteagudo, 2012).

Con este objetivo se utiliza un intercambiador de tubos de 9 m³/h de capacidad. El hidrolizado sacarificado se impulsa por la bomba R – 3 301 hacia el intercambiador de tubos, luego se abre el suministro de vapor para obtener temperaturas de 75-80°C, con el fin de inhibir la actividad de la enzima GLUCOZYME 2X. Posteriormente el hidrolizado inactivado se envía a los tanques intermedios R -1 510, R – 1 640 y al tanque número 7 de sacarificación, para ser utilizado en el proceso de refinación. A la salida de esta etapa el producto en proceso presenta características muy similares a las expuestas en el acápite anterior, con la excepción de la temperatura, que en este caso es de 75 a 80°C.

Aunque el almidón que se utiliza para la hidrólisis es relativamente puro, siempre contiene una pequeña cantidad de impurezas, provenientes del agua de proceso, así como de los productos de la reversión. Luego la lechada de almidón se debe refinar con el objetivo de eliminar las grasas y proteínas insolubles del hidrolizado, facilitando la decoloración del mismo.

El hidrolizado procedente del tanque de alimentación R-1 110 pasa al tanque R-1 510, donde se le añade el carbón activado micro pulverizado para adsorber las sustancias coloreadas o proteínas aún disueltas que permanecen en el hidrolizado y que provocarían el incremento del color del producto final, la cantidad de carbón activado añadido oscila entre 0,6 a 1,5% del contenido de materia seca del hidrolizado (Labiofam, 2015). En estas condiciones se mantiene el hidrolizado por espacio de 30 minutos a una hora.

La adición del carbón se realiza de forma manual a razón de 8 kg, cada media hora, el cual se emplea como agente decolorante. Posteriormente sigue hacia el tanque R-1 640 con el objetivo de aumentar el tiempo de retención del hidrolizado con el agente decolorante para aumentar la eficiencia del mismo.

A continuación, el flujo llega al Filtro Oliver R-9 310 de capacidad de trabajo de 10 m³/h, que consta de una tambora recubierta con tela que rota dentro de un dispositivo que contiene el líquido a filtrar. El mismo presenta una capa de tierra infusoria (dicalite), que actúa como agente filtrante en la capa del filtro con espesor de 60 mm, en el cual quedan retenidas las proteínas y grasas, más el carbón activado adicionado en el paso anterior. La tambora del filtro en su girar permite que con el auxilio de una cuchilla todas las impurezas que se adhieran en su capa filtrante, caigan constantemente

a un tornillo sinfín; esto es posible gracias a un sistema de vacío que permite un alto grado de absorción a través del filtro, para lo cual se utiliza una bomba de vacío de con una capacidad de trabajo de 270 m³/h y una presión de trabajo de 53 936.57 Pa. Las impurezas extraídas se transportan con el tornillo sinfín hacia una tolva de desecho para su posterior evacuación en camiones.

El líquido decolorado y filtrado pasa al tanque R-1 120 para un ajuste final de pH de 4,4-5,2; con carbonato de sodio, en una solución de 10-13°Bé, mediante un control automático. El producto refinado, de aspecto transparente o ligeramente opalescente sin partículas, presenta un ED de 92 como mínimo, un pH de 4,4-5,2; de 34-40°Bx, un patrón de color de 3 como máximo y un olor y sabor característicos.

2.3 Metodología del caso de estudio

En este trabajo se pretende obtener jarabe de fructosa a partir del jarabe glucosado obtenido del almidón de maíz, desarrollando un diseño de experimento factorial compuesto en pantalla del tipo 2^k, donde k sería el número de variables independientes para dos niveles, realizándose 4 experimentos con 4 réplicas conformando un total de 8 experimentos.

2.4 Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en el laboratorio de la Fábrica de Glucosa de Cienfuegos, el almidón de maíz se obtuvo a partir de las producciones de dicha fábrica.

Se preparó una suspensión al 30% p/p almidón-agua en beakers de 2L de capacidad, adicionando agua destilada al almidón previamente pesado; en volumen de 1000 ml se añadieron 300g de almidón. En los procesos de licuefacción-sacarificación del almidón fueron empleadas enzimas comerciales. En la etapa de licuefacción se utilizó Bialfa-T. Esta enzima produce jarabes con ED entre 15-25%, trabajando óptimamente a pH entre 5-7 y son termoestables (trabajan de 95-105 0 C), aunque resisten hasta 110 0 C y presentan una actividad enzimática de 120000UB/gramo. En la etapa de sacarificación se utilizó la enzima Glucozyme 2X, que es una amiloglucosidasa que trabaja a pH en el rango de 4-5,5 y su temperatura óptima es de 58-60 °C reportando una actividad para dichas condiciones de trabajo de 400 AGU/ml.

Se tomaron 200 ml de jarabe glucosado(Salcedo, 2009) el cual se llevó a una concentración de iones Mg₊₂ a 100 ppm y una concentración de sulfito (SO₂) a 100

ppm. El pH se ajustó a 7.5 con carbonato de sodio (Na_2CO_3). El catalizador utilizado fue la enzima glucosa isomerasa inmovilizada Sweetzyme IT. El proceso se realizó en un recipiente a una temperatura de 58-60°C regulada por un baño termostático y se le adicionaron 10 gr de enzima. Se recolectaron muestras cada 60 minutos durante 15 horas a las cuales se les determinó el contenido de glucosa.

2.5 Diseño experimental

Las variables independientes tomadas para los experimentos fueron la concentración de la enzima α -Amilasa (Bialfa T) y la concentración de la enzima Amiloglucosidasa (Glucozyme 2X) como muestra la tabla 2.1.

Tabla 2.1 Variables independientes y sus niveles

Variables	Niveles
Concentración de α -Amilasa (X 1)	0,3-0,5% p/p
Concentración de Amiloglucosidasa (X 2)	0,375-1% p/p

Los niveles de concentración de la enzima α -Amilasa y Amiloglucosidasa fueron tomados teniendo en cuenta los experimentos reportados en la literatura y sobre la base de los mejores resultados obtenidos en trabajos precedentes.

Tabla 2.2 Características del almidón de maíz

Características físico-químicas	
Humedad en %	13 máx.
Cenizas en % (base seca)	0,30 máx.
Proteínas en % (base seca)	0,80 máx.
pH	5,0-7,0
Propiedades organolépticas	
Aspecto	Polvo fino libre de impurezas.
Olor	Característico
Color	Blanco

Tabla 2.3 Matriz del diseño experimental

Experimentos	X ₁ (%)	X ₂ (%)
1	-	-
2	+	-
3	-	+
4	+	+
5	-	-
6	+	-
7	-	+
8	+	+

2.6 Proceso de obtención de jarabes glucosados desarrollados a nivel de laboratorio.

La metodología seguida para el desarrollo del experimento consta de las siguientes etapas:

1. Licuefacción
2. Sacarificación
3. Refinación y filtración

Etapas de hidrólisis o licuefacción: Se adaptó un beakers de 2 L como biorreactor, en el cual se depositó de 1.5 L de agua destilada y 450 g almidón quedando una solución al 30% de concentración. Luego se adicionó carbonato de sodio para ajustar el pH hasta 6.5 para lo que se utilizó un pH-metro y seguidamente se calentó la solución a una temperatura de maceración de 50-52°C, para agregar la dosis de enzima α -amilasa que corresponda según la matriz experimental. Posteriormente el biorreactor se introdujo en un Baño María a 90 °C, y se sumerge en la suspensión un agitador mecánico garantizándose así un mezclado homogéneo por 2 horas; desarrollándose una licuefacción-gelatinización simultáneas, obteniéndose un jarabe licuificado. El almidón licuificado es enfriado a temperatura ambiente y se ajusta el pH a 4.5 con ácido clorhídrico para pasar a la etapa de sacarificación.

Etapla de sacarificación: Después de ajustar el pH, al almidón licuificado, se calienta hasta 60°C para agregar la dosis de enzima Amiloglucosidasa que corresponda según la matriz experimental. Posteriormente se coloca en el Baño María a una temperatura mantenida de 60°C durante 48 horas al culminar el tiempo establecido se calienta la suspensión a 95°C durante 5 min para inactivar la enzima.

Etapla de refinación y filtración: El jarabe sacarificado es filtrado empleando carbón activado para decolorar, tierra de infusorio como agente filtrante, papel de filtro y embudos de vidrio, sobre un erlenmeyer quedando retenido en el papel de filtro con la tierra de infusorio grasas y proteínas insolubles que interfieren con el producto final, obteniéndose así un jarabe transparente o ligeramente opalescente con olor y sabor característico.

Tabla 2.4 Especificaciones físico-químicas y organolépticas del jarabe de glucosa.

Concentración de solidos solubles (°Brix)	65 mín.
Equivalente de dextrosa (ED)	92 mín.
pH	4,4-5,2
Proteínas(mg/ml)	0,01-0,1
Color	Incoloro
Olor	Líquido viscoso, transparente sin turbidez
Aspecto	Característico
Sabor	Característico, ligeramente dulce.

2.7 Determinación de las variables respuestas para el jarabe glucosado

Durante cada etapa del proceso se tomaron muestras en intervalos de una hora y luego se procedió a la determinación del °Brix y el ED.

2.7.1 Grados Brix

Los grados °Brix determinan el cociente total de materia seca disuelta en un líquido. La escala °Brix se utiliza en el sector de alimentos para medir la cantidad aproximada de azúcares, esta escala se aplica mediante el valor de la densidad multiplicado por 1.000

(grados europeos de la escala Plato). Para la determinación de los °Brix se utiliza un refractómetro (MARCA ATAGO).

2.7.2 Equivalente de Dextrosa (ED)

Es el grado de conversión a glucosa, se define como el porcentaje de azúcares reductores de jarabe, calculado como dextrosa en base seca, entre mayor sea el ED mayor será su dulzura y menor su viscosidad.

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

$$ED = \frac{FD * 250 * 10}{Bx * Pm * mLcons}$$

Donde:

FD: Factor de dextrosa según los mL consumidos.

°Brix: Grados Brix.

Pm: Peso de la muestra.

mLcons: Mililitros consumidos.

2.7.3 pH

El pH se determina por el método potencio métrico, utilizando para ello el pH metro (MARCA HANNA 213)

2.7.4 Proteínas

El método consiste en mineralizar la muestra con ácido sulfúrico concentrado y alcalinizar con hidróxido de sodio. El amoníaco liberado es arrastrado por destilación y recogido sobre ácido bórico. La posterior valoración con HCl permite el cálculo de la cantidad de proteínas inicialmente en la muestra.

2.7.5 Rendimiento de hidrólisis

El rendimiento se determina al concluir las etapas de licuefacción y sacarificación respectivamente, en función de los azúcares reductores finales e iniciales de los procesos de hidrólisis y la cantidad de almidón procesada inicialmente.

2.8 Diseño experimental para la obtención de jarabe fructosado

Las variables independientes tomadas para este experimento fueron la concentración de la enzima Glucosa Isomerasa y el Equivalente de dextrosa como muestra la tabla 2.5. Los niveles tomados para las variables independientes fueron seleccionados a partir de experimentos reportados en la literatura y teniendo en cuenta las condiciones futuras para el escalado industrial.

Tabla 2.5 Variables independientes y sus niveles

Variables	Niveles
Concentración de glucosa isomerasa (X 1)	0,2-1 % p/p
Equivalente de Dextrosa (X 2)	91,5-95 %

Tabla 2.6 Matriz del diseño experimental

Experimentos	X ₁ (%)	X ₂ (%)
1	-	-
2	+	-
3	-	+
4	+	+
5	-	-
6	+	-
7	-	+
8	+	+

2.9 Isomerización de glucosa a fructosa

Se vierte en un recipiente el jarabe de glucosa obtenido con una concentración mínima de Mg⁺² y SO₂ de 100 ppm respectivamente, luego se le ajusta el pH a 7,5 con Carbonato de Sodio (Na₂SO₃), y se calienta a una temperatura de 58-60 °C en el Baño María para adicionar la concentración correspondiente de la enzima glucosa isomerasa inmovilizada según la matriz experimental, y se deja en reposar durante 15 horas. El jarabe fructosado obtenido fue analizado por HPLC. Las determinaciones por HPLC se realizaron siguiendo la técnica operatoria establecida en el Centro de Ingeniería

Genética y Biotecnología para el análisis de carbohidratos. Se aplicaron 20 μ L de muestra en una columna Aminex HPX 42-C (BioRad, Richmond), con un flujo de trabajo de 0,5 mL/min, una presión de aproximadamente 52 bar y una temperatura de trabajo de 85°C. El solvente utilizado fue agua purificada y desionizada. Se empleó un detector de índice de refracción KnauerDifferential-Refractometer. Los resultados se analizaron con ayuda del paquete informático ScanProt, serial 2.1.1.1, CIGB, 2017.

Tabla 2.7 Especificaciones de calidad del jarabe de fructosa.

Especificaciones de calidad	Valor y unidad de medida
Concentración de solidos solubles	68 °Brix mínimo
Glucosa	52 %
Fructosa	42 % mínimo
Oligosacáridos	6 %
pH	3,3-4,3
Dulzor relativo a la sacarosa	180

2.10 Análisis de costo beneficio

Un **análisis de costo beneficio** es un estudio del retorno, no sólo financiero de nuestras inversiones, sino también de aspectos sociales y medioambientales de lo que el proyecto tiene alguna o toda influencia. El análisis de costo beneficio también actúa como herramienta de comunicación entre los miembros del equipo. Da la explicación necesaria y contrastada en datos para exponer las razones por las que llevar a cabo el proyecto o seguir o no con el mismo. Partiendo de que dicho análisis es una técnica para evaluar los resultados del esfuerzo invertido, es sencillo entender que aquellos proyectos en los que el esfuerzo es menor que el beneficio, tendrán éxito en su conclusión.

- **Análisis de costos:** Se considera el enfoque del método de costeo TCO (Total Cost of Ownership) en el cual se discriminan los costos en directos e indirectos para cada uno de los componentes de costo de los proyectos del organismo.

- **Análisis de beneficios:** Se consideran para el análisis del cálculo de los beneficios económicos y las dimensiones de los beneficios sociales, económicos y de gestión, tomando en cuenta los resultados generados a los actores involucrados.
- **Análisis del retorno:** El método desarrollado para medir el impacto de las iniciativas es a través del cálculo del retorno de la inversión para cada una de la iniciativas o proyectos considerando como máximo una duración de 10 años.

La relación costo-beneficio (B/C), conocida también como índice neto de rentabilidad, es un cociente que se obtiene al dividir el Valor Actual de los Ingresos totales netos o beneficios netos (VAI) entre el Valor Actual de los Costos de inversión o costos totales (VAC) de un proyecto.

$$B/C = VAI / VAC$$

Según el análisis de costo-beneficio, un proyecto será rentable cuando la relación costo-beneficio es mayor que la unidad.

Los métodos comunes para el Análisis de Costo / Beneficio incluyen:

- Punto de Equilibrio
- Período de Devolución
- Valor Presente Neto
- Tasa Interna de Retorno.

2.11 Impacto económico, ambiental y social para la obtención de jarabe de fructosa.

Impacto económico

Los resultados del análisis costo beneficio, permiten definir este trabajo como un proyecto económicamente viable. La obtención de jarabe de fructosa a nivel de laboratorio ofrece la posibilidad de comenzar la producción en gran escala de dicho jarabe, que permitan satisfacer la demanda de varios clientes nacionales y las perspectivas como rubro exportable del país.

Impacto ambiental

Desde el punto de vista ambiental se puede afirmar que el proyecto es no agresivo, pues demuestra que sus operaciones no implican un impacto negativo al entorno, ya que no se emiten gases de efecto invernadero, ni de otros gases que contaminen la atmósfera del ambiente industrial ni de sus alrededores. Además, no tiene una alta carga contaminante por generación de residuales líquidos. Los agentes químicos requeridos para garantizar la actividad enzimática y las propiedades finales del producto, no representan ni por las cantidades empleadas ni por sus propiedades una carga contaminante que constituya un riesgo ambiental. Por otra parte, el proceso de obtención de jarabe de fructosa por isomerización es, desde el punto de vista ambiental, superior a los procesos clásicos de inversión de sacarosa, dada la reducción de índices de consumo en los parámetros fundamentales, con valores significativos en el agua y la corriente eléctrica.

Impacto social

En términos sociales, el jarabe de fructosa está reconocido como un edulcorante con ventajas relativas en su consumo, tanto por el discreto descenso de los niveles calóricos, como por su capacidad de ser absorbido por el metabolismo sin la demanda de insulina exigida por la glucosa. Al nivel de la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa), el trabajo significaría un incremento de la productividad del trabajo y un mayor aprovechamiento de los recursos humanos, con el correspondiente impacto social para una empresa que aspira al liderazgo en su tipo, en el país y en América Latina. Además, la implementación del proyecto permitirá ampliar la cartera de productos de la entidad, al incorporar el jarabe de fructosa como uno de sus producciones líderes, dada la importancia que varias empresas de la Zona Especial de Desarrollo Mariel le han conferido, corroborado por las demandas crecientes para los próximos 10 años. Otra ventaja significativa es el incremento de los volúmenes de jarabe de fructosa, lo cual incide directamente en el aumento de la cantidad de productos destinados al consumo de la población.

Conclusiones Parciales

1. La efectividad de la isomerización depende de la calidad con que se obtenga el jarabe glucosado y de la concentración de glucosa isomerasa empleada.
2. La etapa de isomerización podrá implementarse bajo las condiciones de sacarificación del proceso actual.
3. Los análisis de cromatografía de alta resolución constituyen una herramienta robusta en la validación de los procedimientos de obtención de jarabe de fructosa planteados.
4. La metodología a aplicar para el análisis de costo beneficio, determina la viabilidad de un proyecto, por tanto, es imprescindible para la toma de decisiones de cualquier tipo de empresa, organización o institución.



Capítulo 3

Capítulo 3: Análisis de resultados

3.1 Diseño experimental y resultados de la obtención del jarabe glucosado a nivel de laboratorio.

La tabla 3.1 muestra el diseño de la matriz experimental para la obtención de jarabe glucosado según los niveles de concentración de las enzimas Bialfa T y Glucozyme 2X, referidos en el capítulo anterior representadas como X_1 y X_2 respectivamente.

Tabla 3.1 Diseño de la matriz experimental para la obtención de jarabe glucosado.

Experimentos	X_1 %	X_2 %
1(--)	0,36	0,69
2(+/-)	0,72	0,69
3(--+)	0,36	0,92
4(+++)	0,72	0,92
5(--)	0,36	0,69
6(+/-)	0,72	0,69
7(--+)	0,36	0,92
8(+++)	0,72	0,92

En las Tablas 3.2 y 3.3 se reportan los resultados del °Brix obtenidos mediante un refractómetro, el ED y el pH a través del pH metro, en las etapas de licuefacción y sacarificación respectivamente. En la primera etapa los almidones son transformados en dextrinas, las cuales son sacarificadas posteriormente hasta obtener glucosa, jugando un papel importante en las variables °Brix y ED (%) la influencia de las enzimas Bialfa T y Glucozyme 2X, se observa como a mayor concentración de las enzimas mayores valores de °Brix y ED (%).

Tabla 3.2 Resultados de la etapa de licuefacción

Exp.	X_1 (%)	°Brix	ED (%)	pH
1	0,36	26,1	22,98	6,4
2	0,72	28	25,89	6
3	0,36	25	23,5	6,2

4	0,72	27,2	25	6,5
5	0,36	26,2	23,8	5,9
6	0,72	27,1	24,5	6,2
7	0,36	26,7	24	6,45
8	0,72	23,6	25,45	6,5

Tabla 3.3 Resultados de la etapa de sacarificación

Exp.	X ₂ (%)	°Brix	ED (%)	pH
1	0,69	28,7	91,5	4,46
2	0,69	29	91,7	4,54
3	0,92	32	94,8	4,7
4	0,92	31	95	4,5
5	0,69	29	91,4	4,48
6	0,69	29,4	91,3	4,38
7	0,92	32,4	94,7	4,52
8	0,92	30	95	4,5

En las Figuras 3.1 y 3.2 se reportan los resultados del análisis de la influencia del °Brix y el ED en las etapas de licuefacción y sacarificación respectivamente.

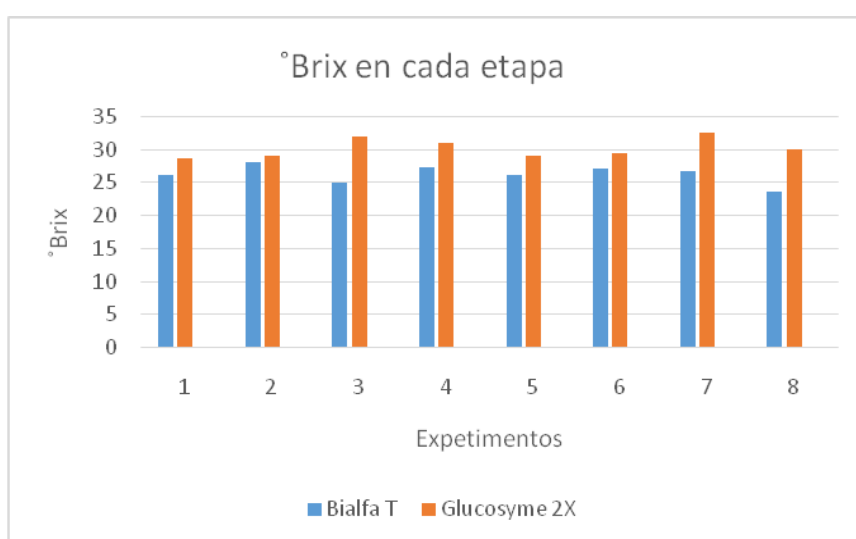


Fig. 3.1 Influencia de las enzimas en el valor final del °Brix.

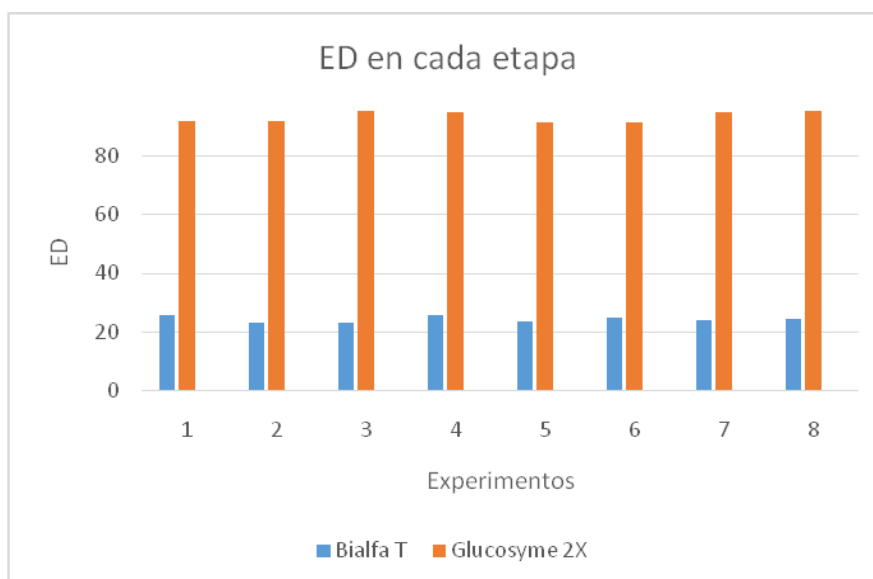


Fig. 3.2 Influencia de las enzimas en el valor final del ED.

Como se puede apreciar en las Fig. 3.1 el comportamiento del °Brix en las etapas de licuefacción y sacarificación es prácticamente invariable.

Sin embargo, en la Fig. 3.2 se observa que al adicionar la concentración de enzima Glucosyme 2X en la etapa de sacarificación, aumenta considerablemente el Equivalente de Dextrosa del jarabe glucosado, correspondiéndose los valores más elevados para los experimentos 4 y 8 en los que se trabaja con el punto máximo del diseño experimental.

La Tabla 3.4 muestra las especificaciones finales del jarabe glucosado obtenido después de la filtración, estando dentro de los parámetros requeridos para la isomerización de glucosa a fructosa.

Tabla 3.4 Especificaciones del jarabe glucosado.

Experimentos	°Brix	ED(%)	pH	Proteína(mg/mL)
1	31	91,5	4,46	0,02
2	32	91,7	4,54	0,01
3	28,7	95	4,7	0,015
4	31	94,8	4,5	0,02
5	30	91,4	4,48	0,011
6	32	91,3	4,38	0,03
7	32,4	94,7	4,52	0,025

8	29,2	95	4,5	0,01
---	------	----	-----	------

La tabla 3.5 representa la composición en % de área bajo la curva para los diferentes tiempos de retención del jarabe glucosado obtenido a nivel de laboratorio, para su posterior isomerización de glucosa a fructosa.

Tabla 3.5 Composición en % de área bajo la curva para los diferentes tiempos de retención.

Muestra / Tiempo de Retención	Composición en % de área bajo la curva para los diferentes tiempos de retención					
	7.7	9.5	10.33	11.41	13.32	15.94*
1	6.02	2.17	2.24	1.49	9.33	78.35
2	7.51	2.84	3.1	0	9.25	76.65
3	7.94	2.84	3.22	0	9.31	75.44
4	6.92	2.54	2.86	0	9.05	77.79
5	6.34	2.29	2.24	1.59	8.46	78.2
6	5.86	2.45	9.14	0	13.39	68.73
7	0.94	0	1.77	0	1.83	94.16
8	0.98	0.83	2.17	0	2.09	93.03

El tiempo de retención (TR) de 15.94 min se corresponde con la composición en % de glucosa bajo la curva, para el resto de los compuestos de las muestras no se contaba con patrones por lo que no son identificables, aunque se puede asociar con grados de polimerización (GP): por ejemplo, TR=13,32/ GP=2; TR=11,41/ GP=3; TR=10,33/ GP=4; TR=9,5/ GP=5; TR=7,70/ GP=6.

3.2 Diseño experimental y especificaciones del jarabe de fructosa obtenido mediante la isomerización de la glucosa.

La tabla 3.6 muestra el diseño de la matriz experimental empleada para la obtención del jarabe fructosado donde X₁ representa la concentración de enzima glucosa isomerasa que se mueve en valores de 0,2-1 % y X₂ los valores de ED del jarabe glucosado que se encuentran entre 91,5-94,7 y la tabla 3.7 refleja las especificaciones que presentan los jarabes de fructosa que fueron analizado por el HPLC. Los mejores resultados fueron obtenidos en los experimentos 1 y 5 en los que se emplean las concentraciones mínimas de enzima glucosa isomerasa y equivalente de dextrosa respectivamente, contribuyendo a una mayor rentabilidad del proyecto.

Tabla 3.6 Matriz experimental

Experimentos	X ₁ %	X ₂
1(--)	0,2	91,5
2(+)	0,95	91,5
3(-)	0,2	94,7
4(++)	0,95	94,7
5(--)	0,2	91,5
6(+)	0,95	91,5
7(-)	0,2	94,7
8(++)	0,95	94,7

Tabla 3.7 Especificaciones del jarabe fructosado.

Muestras	Sacarosa%	Fructosa%	Glucosa%	pH	Concentración de sólidos solubles °Brix
1	1,48	45,58	52,94	3,45	68,70
2	0,39	45,66	53,95	3,54	68,78
3	0,08	45,12	54,80	4,00	69,00
4	3,97	42,09	53,94	3,85	68,92
5	0,77	45,45	53,68	3,58	71,00
6	0,25	44,73	55,03	3,70	69,34
7	0,76	46,14	53,10	4,23	69,23
8	3,10	43,44	53,46	3,77	69,50

A continuación, se muestran los cromatogramas 1, 2 y 3 correspondientes a las muestras de jarabe fructosado 1, 5 y 8 respectivamente, como parte de los resultados del análisis del jarabe fructosado por el HPLC, como se puede apreciar cada máximo corresponde al porcentaje de sacarosa, glucosa y fructosa presente en la muestra.

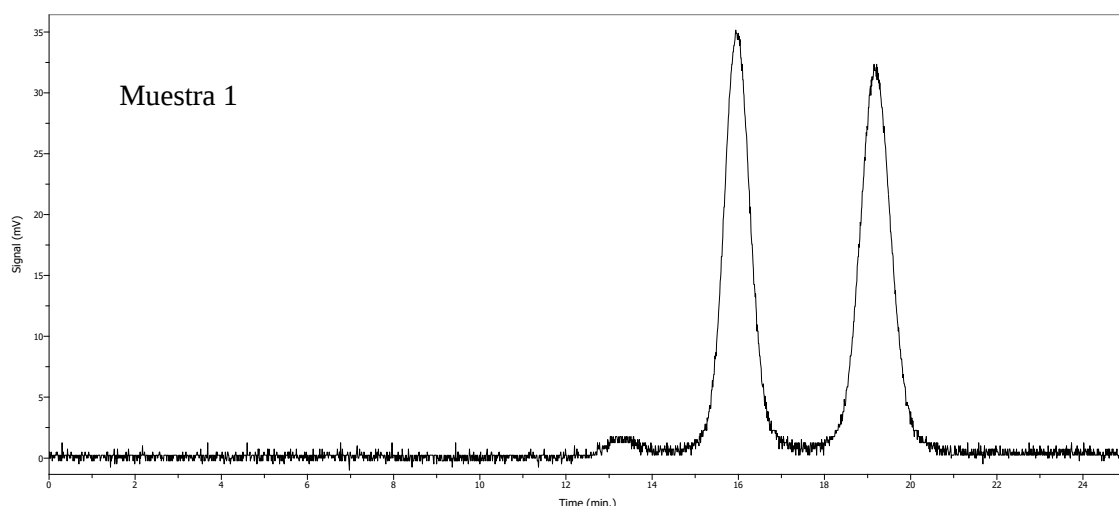


Fig. 3.3 Cromatograma 1

Los valores cercanos a un tiempo de 13 minutos presentan un pico similar en las 3 gráficas, lo cual sucede con los valores de tiempo cercanos a 9 minutos, esto al no contar con los patrones, puede asociarse a los comportamientos de diferentes grados de polimerización que tienen las diferentes sustancias y mezclas de que se traten.

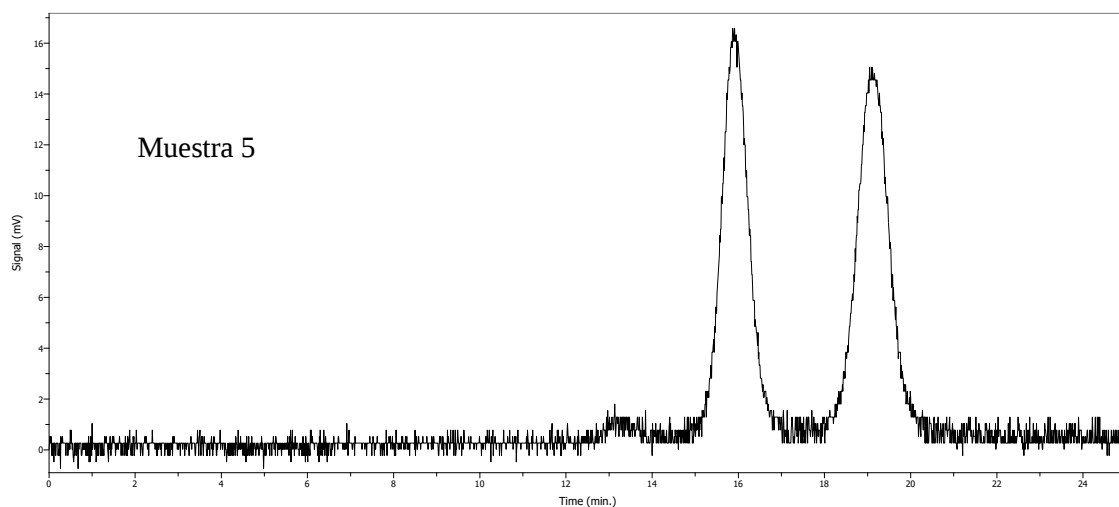


Fig. 3.4 Cromatograma 2

Para condiciones similares la gráfica anterior muestra comportamientos similares, pero debe significarse que las condiciones finales obtenidas son con un mínimo de recursos en las condiciones iniciales.

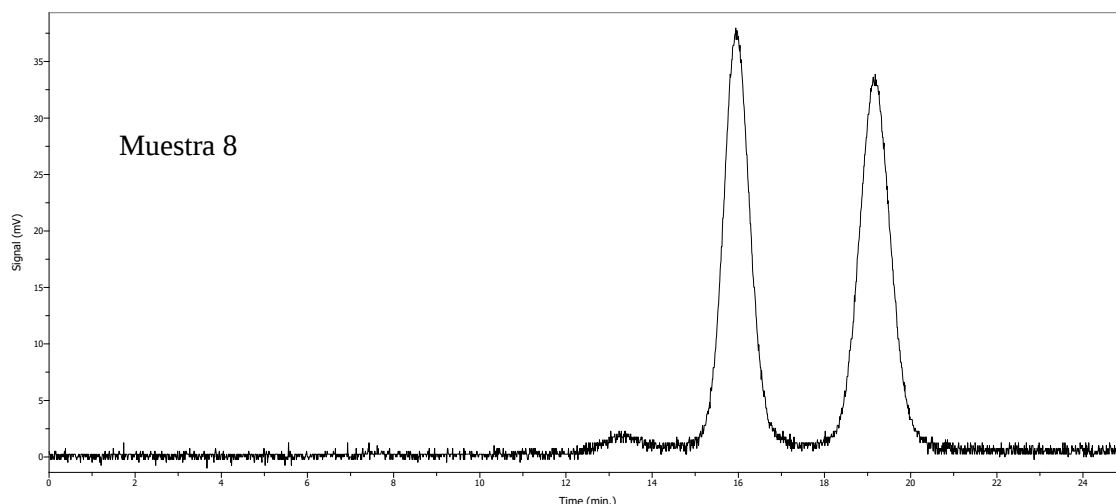


Fig. 3.5 Cromatograma 3

Utilizando el programa matemático Statgraphics se obtuvo la ecuación del modelo doble cuadrado ajustado para describir la relación entre % fructosa y concentración de enzima glucosa isomerasa (X_1). La ecuación del modelo ajustado es:

$$\% \text{ fructosa} = \sqrt{(2063,3 - 120,486 \cdot X_1^2)}$$

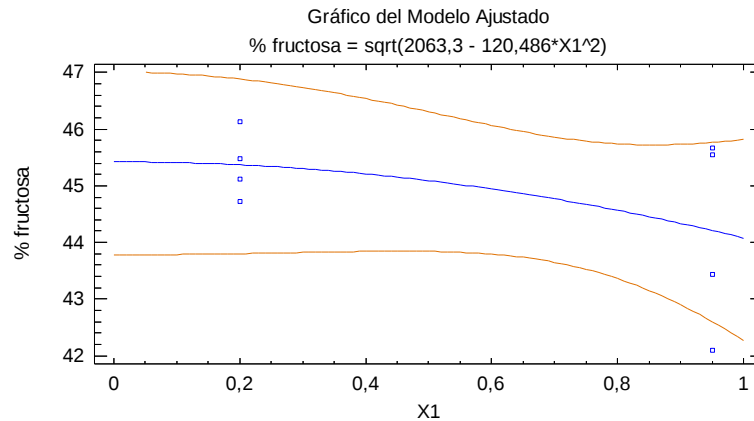
$$\% \text{ fructosa} = \sqrt{(2063,3 - 120,486 \cdot 0,2^2)}$$

$$\% \text{ fructosa} = \sqrt{(2063,3 - 120,486 \cdot 0,04)}$$

$$\% \text{ fructosa} = \sqrt{(2063,3 - 4,81944)}$$

$$\% \text{ fructosa} = 45,37$$

Se espera obtener un 45,37% de fructosa para el valor mínimo de la enzima glucosa isomerasa ($X_1=0,2$). El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo ajustado explica 21,6036% de la variabilidad en % fructosa. El coeficiente de correlación es igual a -0,46479.



También se obtiene la ecuación del modelo doble cuadrado ajustado para describir la relación entre % fructosa y ED (%) para cada muestra (X_2). La ecuación del modelo ajustado es:

$$\% \text{ fructosa} = \sqrt{(3481,74 - 0,170149 \cdot X_2^2)}$$

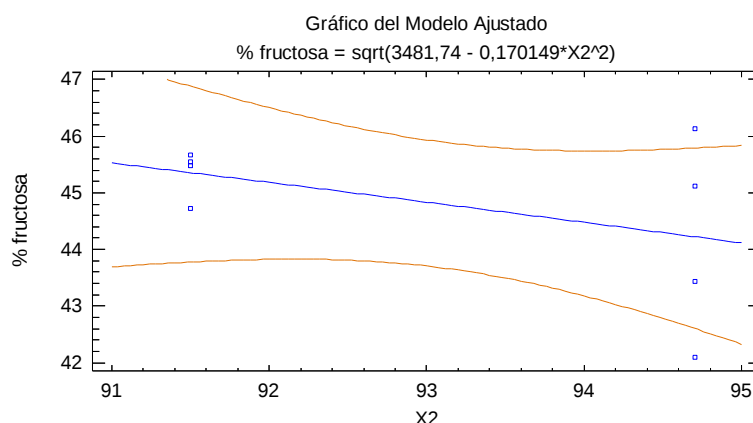
$$\% \text{ fructosa} = \sqrt{(3481,74 - 0,170149 \cdot 91,5^2)}$$

$$\% \text{ fructosa} = \sqrt{(3481,74 - 0,170149 \cdot 8372,25)}$$

$$\% \text{ fructosa} = \sqrt{(3481,74 - 1424,529965)}$$

$$\% \text{ fructosa} = 45,35$$

Se espera obtener un 45,35% de fructosa para el valor mínimo de ED ($X_2=91,5$). El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo ajustado explica 20,5613% de la variabilidad en % fructosa. El coeficiente de correlación es igual a -0,453446, indicando una relación relativamente débil entre las variables. A pesar de no ser estadísticamente significativo el valor de ED, desde el punto de vista operacional si es significativo.



Dado que trabajando con los valores mínimos de concentración de enzima glucosa isomerasa y ED % se obtienen valores óptimos de % de fructosa se puede afirmar que este modelo matemático es el adecuado para la obtención de jarabe fructosado.

3.3 Análisis de costo beneficio

Para el análisis de la rentabilidad del proceso de obtención de jarabe fructosado se practicó un análisis de costo beneficio entre el costo de fructosa por tonelada y el costo de la enzima glucosa isomerasa por tonelada.

Tabla 3.8 Costo beneficio

Costo	Beneficio	B/C
Costo de fructosa \$/t 864, 62	Costo de la enzima glucosa isomerasa \$/t 1176	1,36

Varios son los métodos y formas que permiten el análisis de la viabilidad de un proyecto. De trabajos anteriores (León, 2017) se tiene como referencia que se utiliza para la isomerización de glucosa a fructosa 0,08 t/año de enzima glucosa isomerasa, sin embargo, la realización de este trabajo comprueba que se puede obtener una isomerización con calidad utilizando la dosis mínima de la enzima glucosa isomerasa, ahorrándose así 0,012 t/año de dicha enzima. El resultado obtenido respalda la rentabilidad del proyecto, puesto que según el análisis de costo-beneficio, un proyecto será rentable cuando la relación costo-beneficio sea mayor que la unidad.

Desde la arista económica se obtiene un costo beneficio de 1,36 respecto al costo de una tonelada de fructosa y al costo de la enzima glucosa isomerasa para producir una tonelada de fructosa mediante isomerización de glucosa, lo cual corrobora la factibilidad de acometer la implementación del proyecto.

La disminución apreciable del uso de la materia prima, enzima glucosa isomerasa, es un elemento ambientalmente factible ya que reduce de manera significativa las cantidades de enzima a aplicar y por ende garantiza una mayor efectividad de la reacción fundamental de la operación, también tendrá una incidencia significativa en la disminución de los residuos del proceso, lo cual pudiese complementarse con la implementación de alternativas para la inmovilización de esta enzima.

La producción de jarabe de fructosa a partir de la isomerización de los jarabes de glucosa en la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa), permitirá intensificar el flujo tecnológico actual y garantizará el cumplimiento con uno de los surtidos que componen la diversificación concéntrica de la entidad.

La Zona Especial de Desarrollo Mariel (ZEDM), ha demandado para el año 2019, 230 toneladas de jarabe de fructosa, lo cual es solo un inicio de las potencialidades que puede generar la producción de este surtido en nuestro país.

Conclusiones Parciales

- 1- El método de análisis por Cromatografía de Alta Resolución permite la determinación con exactitud de la abundancia relativa de los monosacáridos, disacáridos y otras mezclas presentes en los jarabes de maíz.
- 2- La enzima glucosa isomerasa constituye una enzima efectiva en el proceso de conversión de jarabes de glucosa a jarabes de fructosa.
- 3- El análisis de costo beneficio efectuado corrobora la rentabilidad del proyecto planteado en la investigación.



Conclusiones

CONCLUSIONES GENERALES

- 1- El proceso de isomerización se ha erigido como método fundamental en la obtención de jarabes de fructosa a partir de los jarabes de glucosa obtenidos de la hidrólisis de almidón de cereales.
- 2- La enzima glucosa isomerasa ha demostrado una gran efectividad en los procesos de conversión para la obtención de jarabes de fructosa a partir de jarabes de glucosa.
- 3- Con la realización e implementación del diseño experimental quedaron evaluadas las condiciones óptimas de operación para la isomerización de glucosa a fructosa.
- 4- Los valores mínimos de concentración de enzima glucosa isomerasa $X_1 = 0,2$ % y Equivalente de Dextrosa $ED = 91,5\%$ resultaron ser los valores óptimos para alcanzar jarabes de fructosa al 45,35 %.
- 5- El análisis de costo beneficio efectuado corrobora la rentabilidad del proyecto planteado en la investigación desde las dimensiones medioambiental, económico y social.

RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES:

1. Realizar escalado industrial de la producción de jarabes de fructosa en la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa) a partir de los resultados de la propuesta tecnológica y los parámetros de operación obtenidos en esta investigación.
2. Evaluar las alternativas posibles para la inmovilización de enzimas en el flujo tecnológico de la Empresa Productora y Comercializadora de Glucosas, Almidón y Derivados del Maíz (GydeMa).



Bibliografía

Bibliografía

- Arroyo, M. (1998). Inmovilización de enzimas. Fundamentos, métodos y aplicaciones, 4(7), 8p.
- Aguilar Rivera, N. (2012). Paradigma de la diversificación de la agroindustria azucarera de México. *Convergencia*, 19(59), 187-213 p.
- Arenas, G. L. D. (2015). Estudio del proceso de producción de hidrolizados de almidón de yuca acoplado hidrólisis enzimática y clarificación con membranas en continuo, Colombia, 25p.
- Baron, F. M. G. (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, 35-40p.
- Cedillo, L. R. (2014). Aplicaciones de las Enzimas Inmovilizadas. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 6(4)13-17p.
- Chávez, L. R. (2014). Cambio estructural en el mercado mexicano de los edulcorantes, México.
- Chiluisa, A. B. (2015). Estudio del efecto de la hidrólisis enzimática en la obtención de un jarabe de glucosa y fructosa a partir del plátano maduro (*Musa paradisiaca*).
- Coello, A. C. B., & Mendieta, A. E. P. (2011). *Obtención de jarabe de glucosa a partir del almidón de yuca*. Universidad de Guayaquil. Facultad Ingeniería Química, Ecuador.
- Cruz, J. E. M. (2016). *Sustitución de la hidrólisis ácida por la enzimática en la obtención de jarabes glucosados utilizando almidón de maíz como sustrato (Tesis de grado)*, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas.
- Fernández, J. G., & Córdoba, M. E. M. (2011). Estudio de los factores que afectan la hidrólisis enzimática y el proceso fermentativo para la producción de alcohol a partir de papa (*Solanum tuberosum*). *Revista Ingeniería*, 16(1) 12p.
- Gaily, M. H. (2013). Kinetics of a Three-Step Isomerization of Glucose to Fructose Using Immobilized Enzyme. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 4(2), 3p.
- Mera, J. C. C. (2005). Obtención de glucosa a partir de almidón de yuca *Manihot esculenta*, Paraguay.
- Lehninger. (2008). *Principles of biochemistry* (fifth ed.). New York, E.U.A.: W.H. Freeman and Company.
- León, V. V. (2017). *Propuesta tecnológica para la producción de jarabe de fructosa a partir de glucosa en la UEB Glucosa Cienfuegos (Tesis de grado)*, Universidad de Cienfuegos.
- Martín, J. C., & López, E. (2009). Modificación física del almidón de yuca y evaluación de la susceptibilidad a la hidrólisis enzimática por una alfa amilasa. *Revista colombiana de Química*, 38(3), 395-408p.
- Montes, M. d. C., & Magaña, I. (2002). Enzimas con aplicación industrial. *Avances y perspectivas*, 21, 279-282p.
- Naranjo, W. G. O. (2006). *Cristalización de fructosa a partir de preparados de almidón de yuca*. (Trabajo de grado para optar al título de Químico), Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia. Retrieved from

- <http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/515/2/120091.pdf>
(1981468)
- Páramo, E. D. (2014). Producción de edulcorantes por bioconversión
- Parker, K. (2010). High fructose corn syrup: Production, uses and public health concerns. *Biotechnology and Molecular Biology.*, 5, 71-78p.
- Paz, D. E. C. (2002). *Elaboración de jarabe de glucosa partiendo del almidón de camote*. Honduras.
- Peña, A., Molina, D., & Torres, R. (2009). *Hidrólisis de almidón de yuca mediante la utilización de preparaciones solubles e insolubilizadas de alfa-amilasa (Aspergillus Níger)*. Paper presented at the Memorias del IV Simposio de Química Aplicada, Armenia, Colombia. Recuperado de <http://www.uniquindio.edu.co/uniquindio/eventos/siquia/siquia2009pos4.pdf> (Septiembre, 2013).
- Puca, R. G. R. (2004). Tecnologías para la obtención de jarabe de glucosa a partir de yuca (Tesis de grado) Universidad Nacional de Ingeniería.
- Quitiguiña, C., & Santacruz, S. (2012). Obtención de jarabe de glucosa a partir de la hidrólisis enzimática de almidón de banano, Musa cavendish. *Revista Boliviana de Química*, 29(1), 55-62p.
- Ramírez, I. B. d. (1993). Análisis de alimentos. *Bogota, Colombia: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 313p. ISBN, 999270411.
- Rubio, R. R. (2001). Uso de la amilasa termoestable de Bacillus licheniformis en la digestibilidad in vitro del almidón de sorgo y maíz. *Agrociencia*, 35(4), 13p.
- Ruiz, A. C. L. (2015). *Obtención de jarabe a partir del almidón de maíz morado*. Callao, Colombia.
- Salazar, M. Q., & Peñaranda, A. H. (2012). Producción de jarabe de fructosa con enzimas inmovilizadas en un proceso continuo a partir de Tiquisque (Xanthosoma sagittifolium) *Ciencia y Tecnología* 28(1y2)15p.
- Salcedo, J. G. (2009). Producción de jarabes de fructosa por medio de la hidrólisis enzimática del almidón de yuca de las variedades Corpoica m tai-8 y corpoica oreense. *Dyna*, 76(160), 121-130p.
- Salcedo, J. G. (2010). Obtención de jarabe de fructosa a partir de hidrolizados enzimáticos de almidón de ñame (Dioscorea alata y Dioscorea rotundata). *Vitae*, 17, 243-251p.
- Samora, A. (Producer). (2018). Scientific Psychic. Retrieved from <http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohidratos1.html>
- Sandoval, A. A. (2008). *Tratamiento enzimático de la pulpa de plátano (Musa Paradisiaca) para la obtención de jarabe de glucosa y fibra dietética*, México.
- Serrano, P. O. V., & Sánchez, J. C. V. (2010). Determinación de los parámetros experimentales en la obtención de glucosa, a partir de la yuca del valle de Virú, Ecuador.
- Secretaría de Economía, M. (2012). *Análisis de la Situación Económica, Tecnológica y de Política Comercial del Sector Edulcorantes en México*. México: Dirección General de Industrias Básicas.
- Silva, E. A. B. d. (2006). Glucose Isomerization in Simulated Moving Bed Reactor by Glucose isomerase. *Brazilian Archives of Biology and Technology.*, 49, 491-502p.
- Tovar, C. R. V. (2011). *Producción de Jarabes Endulcorantes por Hidrólisis Enzimática del Almidón de Ñame* 5, 13p.



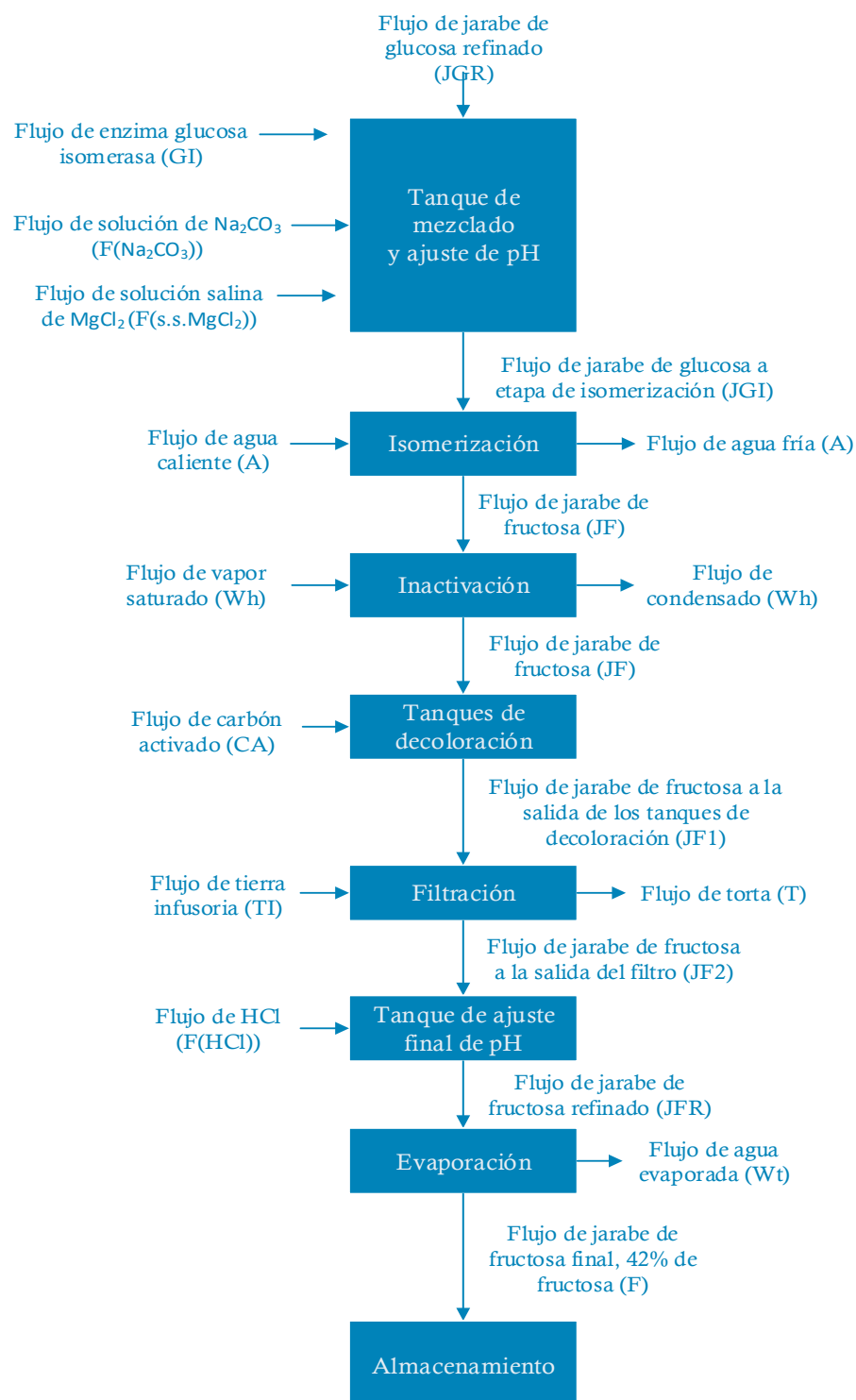
- Uribe, J. P. H. (2008). *Obtención de jarabe fructosado a partir de almidón de plátano (Musa paradisiaca L.). Caracterización parcial*, 33(6), 25p. Caracas, Venezuela.
- Vázquez, C. G. V. (2009). *Obtención de insumos de interés industrial a partir de las fructanas del agave mezcalero potosino, Colombia*.
- Velázquez, L. M. (2015). Extracción y caracterización de almidón de maíz (SEA MAYS) a partir de variedades amiláceas producidas en el Departamento de Itapúa. *Revista sobre Estudios e Investigaciones del Saber Académico*(5), 46-50p.



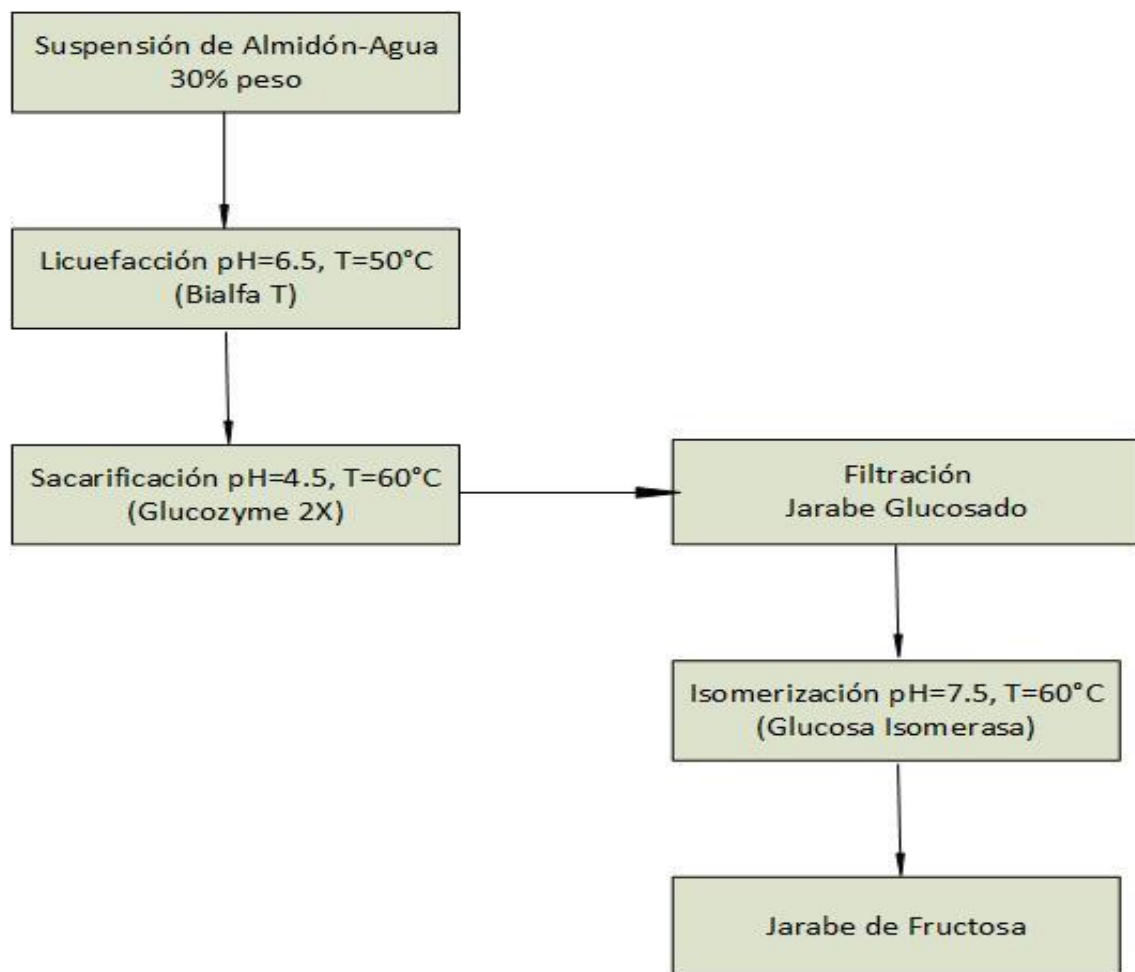
Anexos

Anexos

Anexo A: Diagrama de bloques del proceso de obtención de jarabe de fructosa a partir de jarabe de glucosa enzimática.



Fuente:(León, 2017)



Anexo E: Etapa de sacarificación del jarabe glucosado



Fuente: Elaboración propia