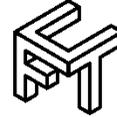




Universidad de Matanzas
Facultad de Ciencias Técnicas



EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DEL CONTENIDO DE ALMIDÓN Y SU DESDOBLAMIENTO CON ALFA AMILASA EN EL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE AZÚCAR CRUDO

Tesis Presentada como Requisito Parcial
para la Obtención del Título de
Máster en Ingeniería Asistida por Computadora

Autor: Ing. Adielis Jimenez Cárdenas

Tutores: Ing. Jesús D. Luis Orozco, DrC

Lic. Leissy Gómez Brisuelas, DrC

Matanzas, [2017]

DECLARACIÓN DE AUTORIDAD Y NOTA LEGAL

Yo, Adielis Jimenez Cárdenas, declaro que soy el único autor de la siguiente tesis, titulada Evaluación del comportamiento del contenido de almidón y su desdoblamiento con alfa amilasa en el proceso de producción de azúcar crudo y, en virtud de tal, cedo el derecho de copia de la misma a la Universidad de Matanzas, bajo la licencia *Creative Commons* de tipo *Reconocimiento No Comercial Sin Obra Derivada*, con lo cual se permite su copia y distribución por cualquier medio siempre que mantenga el reconocimiento de sus autores, no haga uso comercial de la obra y no realice ninguna modificación de ella.

Matanzas, [día] de [mes] de [año].

Adielis Jimenez Cárdenas

RESUMEN

En la investigación se evalúa el comportamiento del almidón y su desdoblamiento con la enzima alfa amilasa, en un proceso de producción de azúcar crudo y se verifica si incide en otros parámetros de calidad. Se estudia su comportamiento en las etapas de extracción, purificación, evaporación y cristalización, así como la influencia de estas en el almidón. Los parámetros que se analizan para conocer la influencia de la enzima sobre la calidad del proceso son: contenido de almidón, cenizas, color y reductores, los cuales se miden en el azúcar crudo. El almidón entra al proceso junto a la caña y durante la clarificación se remueve alrededor de un 70 %. De igual forma, en la etapa de evaporación por efecto de la temperatura se produce su gelatinización, lo cual aumenta la viscosidad de las mieles y se ocluye en el cristal alrededor de un 7 % con respecto al contenido de entrada al proceso. Se establece que aproximadamente el 66 % del almidón participa como núcleo del cristal de azúcar crudo. Además, se determina que el nivel de alfa amilasa que permite obtener mejores resultados en el desdoblamiento de los almidones, es de 0,05 g/100mL. Se comprueba que en los azúcares reductores influye la acción de la enzima, mientras el color y las cenizas no se afectan de forma significativa. En la investigación se verifica que no existen penalizaciones económicas por efecto del contenido de almidón.

Palabras claves: almidón; desdoblamiento; alfa amilasa; producción de azúcar crudo.

ABSTRACT

In the investigation it is evaluated the behavior of the starch and it is unfolding with the alpha amylase enzyme, in a process of raw sugar production and it is verified if influence in other quality parameters. The behavior in the extraction stages, purification, evaporation and crystallization it is studied, as well as the influence in the starch. The following parameters that it is analyzed: starch content, ashy, color and reducers, which are measured in the raw sugar. The starch enters to the process next to the cane and during the clarification, it is removed around 70 %. In the evaporation stage for effect of the temperature their gelatinization it is development, that which the viscosity of the honeys increases and it is occluded in the glass around 7 % with regard to the entrance content to the process. En la investigación se verifica que no existen penalizaciones económicas por efecto del contenido de almidón. It is settles down that approximately 66 % of the starch participates as nucleus of the raw sugar glass. Also, it is determined the level of alpha amylase that allows to obtain better results in the unfolding of the starches, is of 0,05 g/100mL. In the reducers sugars it influences the action of the enzyme, meanwhile the color and the ashes it is not affected significantly. In the investigation it is proved that not exist economic penalizations for starch content effect.

Keywords: Starch cleavage; unfolding; alpha amylase; sugar raw production

TABLA DE CONTENIDO

Introducción	1
Capítulo 1 Estado del Arte	6
1.1 Proceso de producción de azúcar crudo. Parámetros de calidad	6
1.1.1 Generalidades de la caña de azúcar	7
1.1.2 Proceso de producción de azúcar crudo. Etapas Principales	9
1.1.3 Parámetros de calidad en el proceso de producción de azúcar crudo	14
1.2 Caracterización del almidón. Propiedades	16
1.3 Influencia del almidón en la producción de azúcar crudo	19
1.4 Tecnologías de control del contenido de almidón en la industria azucarera	22
1.4.1 Hidrólisis enzimática del almidón	25
1.5 Conclusiones parciales del capítulo	28
Capítulo 2 Materiales y Métodos	29
2.1 Descripción general del proceso objeto de estudio	29
2.1.1 Definición de las etapas del proceso objeto de estudio	29
2.2 Determinación del comportamiento del almidón en el proceso	33
2.2.1 Selección de las etapas y corrientes objeto de estudio	33
2.2.2 Análisis experimental del contenido de almidón en el proceso	35
2.2.3 Análisis experimental del contenido de dextrana en el proceso	35
2.2.4 Construcción de las curvas de referencia. Determinación de almidón y dextrana en jugos y azúcar crudo	36
2.3 Determinación de la influencia de las etapas del proceso de producción de azúcar crudo en el contenido del almidón	37

2.3.1 Procedimiento para verificar el comportamiento de las etapas del proceso en el almidón.....	38
2.3.2 Determinación del porcentaje de remoción de almidón en la etapa de clarificación.....	38
2.3.3 Determinación del porcentaje de retención de almidón en azúcar crudo	39
2.4 Determinación de la influencia de la enzima alfa amilasa en el desdoblamiento del almidón. Repercusión en el proceso	41
2.4.1 Desdoblamiento del almidón con alfa amilasa. Procedimiento	41
2.4.2 Incidencia del desdoblamiento en parámetros de calidad del azúcar crudo	42
2.4.3 Localización de los almidones en el azúcar crudo.....	42
2.5 Valoración e incidencia en el proceso del contenido de almidón y desdoblamiento	43
2.5.1 Teoría del muestreo.....	43
2.5.2 Caracterización estadística de la toma de muestras en el caso estudio.....	45
2.5.3 Ajuste de las curvas de referencias de almidón en jugo y azúcar crudo. Análisis de regresión lineal.....	46
2.5.4 Procedimiento para determinar diferencias entre los niveles de alfa amilasa y los parámetros de calidad. Análisis de varianza	48
2.6 Valoración económica	50
2.6.1 Normas de calidad del azúcar	50
2.7 Conclusiones parciales del capítulo	51
Capítulo 3 Análisis de los Resultados.....	52

3.1 Curvas de referencias para obtener almidón y dextrana en el proceso. Validación	52
3.1.1 Obtención y ajuste de la curva de referencia de almidón en jugo	52
3.1.2 Obtención y ajuste de la curva de referencia de almidón en azúcar crudo ..	54
3.1.3 Obtención y ajuste de la curva de referencia de dextrana en jugo	55
3.1.4 Obtención y ajuste de la curva de referencia de dextrana en azúcar crudo .	56
3.2 Comportamiento del almidón en el proceso de producción de azúcar crudo	57
3.2.1 Registro del contenido de almidón en el proceso	58
3.2.2 Proyección del contenido de almidón en el proceso	59
3.2.3 Comportamiento del contenido de almidón en las etapas del proceso	60
3.3 Influencia de las etapas del proceso en el contenido de almidón	65
3.3.1 Determinación del porcentaje de remoción de almidón en la etapa de clarificación.....	66
3.3.2 Determinación del porcentaje de retención de almidón en azúcar crudo	66
3.3.3 Localización del almidón en el cristal de azúcar crudo	67
3.4 Desdoblamiento del almidón con la enzima alfa amilasa. Repercusión en el proceso	68
3.4.1 Comportamiento del desdoblamiento del almidón en azúcar crudo	69
3.4.2 Influencia de la enzima alfa amilasa en el desdoblamiento del almidón.....	69
3.4.3 Influencia de la enzima alfa amilasa sobre el contenido de cenizas	71
3.4.4 Influencia de la enzima alfa amilasa en el color del azúcar crudo.....	74
3.4.5 Influencia del desdoblamiento en los azúcares reductores	76
3.5 Valoración económica del contenido de almidón en el azúcar final	79

3.6 Conclusiones parciales del capítulo	80
Conclusiones	82
Recomendaciones	84
Referencias Bibliográficas	85
Anexos	91

INTRODUCCIÓN

El análisis de la calidad en el proceso de producción de azúcar crudo resulta de vital importancia para el desarrollo de la agroindustria azucarera, al garantizar el incremento del rendimiento de esta actividad en los países productores de azúcar, y a su vez el desarrollo del país.

Para estudiar la calidad del material producido, se tiene en cuenta que el procesamiento de la caña de azúcar comienza en el campo; donde la variedad de la caña, el suelo en el cual se cultiva y el grado de madurez, representan los primeros elementos a analizar.

El jugo de caña está compuesto por azúcares, no azúcares y agua. Entre los primeros, la sacarosa es el principal constituyente, siguiéndole en concentraciones decrecientes, la glucosa, fructosa y los oligosacáridos. Los no azúcares son: sales de ácidos orgánicos e inorgánicos, ácidos carboxílicos, aminoácidos, proteínas, almidón, ceras y grasas (Zossi et al, 2010).

En investigaciones iniciales se emplean como indicadores de calidad del jugo, la concentración de sólidos disueltos (°Brix), la concentración de sacarosa en jugo (% pol) y la pureza. Luego, en diversos estudios establecen que la calidad se reconoce en la molienda por la cantidad de azúcar recuperable que se obtiene por tonelada de caña molida, lo cual depende de características, como: alto contenido de sacarosa, bajo contenido de materiales extraños, bajo contenido de sólidos solubles diferentes a la sacarosa, y bajos niveles de fibra (Larrahondo, 1995; Zhou, *et al.*, 2008).

Larrahondo (1995), en su investigación establece que los principales factores que afectan la calidad del jugo de caña después del corte son: grado de quema y altura del corte. El grado de quema influye en los azúcares reductores, los cuales aumentan con el deterioro de la caña de azúcar e incrementan el color del cristal de azúcar. Mientras que, con la introducción mecanizada del corte, aumenta la cantidad de materia extraña generalmente formada por cogollo y hojas. El cogollo tiene una alta incidencia en los niveles de color y de impurezas, como polisacáridos solubles, y representa la principal fuente de entrada de almidón al proceso.

Según Zossi, *et al.* (2010), aunque el color del jugo de la caña de azúcar no influye en la recuperación de la sacarosa, es importante en la calidad del azúcar crudo, porque incide en los costos de refinación.

Si se analiza las impurezas como polisacáridos solubles, Zhou, *et al.* (2008) estudian la calidad de los jugos de caña, y reconocen que el almidón es un polisacárido que reduce y dificulta la filtración durante el proceso y se incorpora en los cristales de azúcar crudo. Además, indica que la introducción del almidón al proceso de producción de azúcar se incrementa debido a la molienda de caña verde o inmadura, a causa de la introducción de máquinas cosechadoras integrales.

En los estudios que establece Rein (2007) sobre la calidad de algunas variedades de caña, se analiza el comportamiento del almidón, y determina que este incrementa la viscosidad, inhibe la cristalización y causa problemas durante el proceso de refinación.

El almidón, constituyente natural de la caña de azúcar, es un polisacárido formado por cadenas de amilosa y amilopectina, ambos polímeros de glucosa; que la planta emplea

como compuesto de almacenamiento alternativo de energía. Se forma en la caña de azúcar durante la ausencia de luz solar y es convertido en sacarosa en presencia de esta (Zossi, *et al.*, 2010).

En el proceso de molienda, gran parte del almidón que es insoluble en la caña, se solubiliza por efecto del calor y pasa a los jugos (Rein, 2007). Zossi, *et al.* (2010) expresan que a pesar de que un gran porcentaje del contenido de almidón puede ser eliminado durante el proceso de clarificación y cristalización, algunos estudios indican que entre un 30% y 40% de este polisacárido puede ocluirse en el cristal de azúcar crudo. Además, causan problemas durante el proceso de elaboración de azúcar, entre estos, los principales son: el aumento de viscosidad de jugos y mieles por efecto de la gelatinización de los gránulos de almidón, así como también el incremento en la pureza de las melazas.

En investigaciones, sobre el contenido de almidón, se muestra que el nivel de almidón en el azúcar crudo entre 200 y 250 mg/L, disminuye la calidad del producto (Alencar, *et al.*, 2011).

También Zhou, *et al.* (2008) en su investigación declaran que cuando no se cumple con los parámetros establecidos de calidad para la venta de azúcar crudo o refino, se producen pérdidas económicas en la producción y se penaliza.

De acuerdo con estas investigaciones, otros estudios se realizan para definir métodos de eliminación o reducción de los efectos del almidón. Una de las soluciones que propone Zhou, *et al.* (2008) es la selección de variedades de caña sobre la base del contenido de almidón, pero aun así persiste la presencia del almidón en el proceso.

En objeto de minimizar los efectos negativos del almidón se demuestran métodos para su modificación química y física, sin embargo, se emplean principalmente, enzimas hidrolasas (amilasas) para modificar el almidón (Eggleston, *et al.*, 2003).

Según Zhou, *et al.* (2008) explican que la degradación del almidón por hidrólisis enzimática se produce a bajas concentraciones de alfa amilasa, esto produce un incremento del tiempo de retención; y a la vez provoca una degradación ácida no deseada de sacarosa y aumentan los azúcares reductores.

Aunque las tecnologías y operaciones que se aplican para la eliminación del almidón representan un gran avance, aún no constituyen una solución eficaz en la eliminación del contenido de almidón. Aun así, el tratamiento más eficaz consiste en adicionar alfa amilasa para hidrolizar el almidón presente en el jugo, según expone Penados (2004) y Eggleston, *et al.* (2015).

Los criterios e investigaciones que se realizan, muestran evidencias de la influencia del almidón en la industria azucarera y su posterior desdoblamiento con la enzima alfa-amilasa, sin embargo no se localizó en la bibliografía especializada estudios completos del comportamiento de este polisacárido en el proceso de producción de azúcar crudo, así como de la incidencia de la aplicación de la enzima alfa amilasa en el desdoblamiento de los almidones, razón por la cual se realiza esta investigación.

En consideración a los elementos planteados el Problema Científico que motiva la investigación es el siguiente:

Es necesario conocer el comportamiento del contenido de almidón en las etapas del proceso de producción de azúcar crudo y las consecuencias de la aplicación de la enzima alfa amilasa en su desdoblamiento.

La investigación permite establecer la Hipótesis siguiente:

La evaluación del contenido de almidón en las diferentes etapas del proceso permitirá conocer su comportamiento y la influencia de la enzima alfa amilasa en su desdoblamiento, para establecer su regulación y control en el proceso.

Se propone como Objetivo General para el desarrollo de la investigación:

Evaluar el comportamiento del contenido de almidón y la influencia de la alfa amilasa en su desdoblamiento en el proceso de producción de azúcar crudo.

El cumplimiento del objetivo general se corrobora con los Objetivos Específicos siguientes:

1. Caracterizar el proceso objeto de estudio
2. Definir el comportamiento del contenido de almidón en el proceso.
3. Valorar el efecto de la enzima alfa amilasa en el desdoblamiento de los almidones.
4. Determinar la influencia del uso de la enzima alfa amilasa en los parámetros de calidad seleccionados.

CAPÍTULO 1. ESTADO DEL ARTE

En este capítulo se establece la información para profundizar en las siguientes temáticas: proceso de producción de azúcar crudo, caracterización del almidón y sus propiedades, influencia del almidón en el proceso de producción de azúcar crudo y tecnologías de control del contenido de almidón en la industria azucarera. La investigación se realiza mediante búsqueda bibliográfica en bibliotecas científico técnicas y en las diferentes bases de datos disponibles en internet, a través del uso de buscadores existentes, como: Google, AltaVista, Scirus, entre otros. Además, se emplean bases de datos remotas (EBSCO, ScienceDirect, entre otros) y bibliotecas virtuales de química e ingeniería química.

1.1 Proceso de producción de azúcar crudo. Parámetros de calidad

El azúcar crudo es de vital importancia para la industria alimenticia, pero un producto con alto rendimiento se garantiza a partir de procesar una materia prima de calidad. El procesamiento de la materia prima con las condiciones adecuadas, también hace posible que la producción sea eficiente y disminuyan las pérdidas. En función de ello, se establece la caracterización de la caña de azúcar, se describe el proceso de producción de azúcar crudo y se establecen las condiciones para garantizar un producto final con alto rendimiento.

1.1.1 Generalidades de la caña de azúcar

El proceso de producción de azúcar crudo comienza en el campo, a partir de la cosecha de la caña de azúcar. El tronco de la caña de azúcar está compuesto por una parte sólida llamada fibra y una parte líquida, el jugo, que contiene agua y sacarosa.

Según Larrahondo (1995), en el jugo se encuentran azúcares como: la sacarosa, azúcares reductores: glucosa y fructuosa, además de sales orgánicas e inorgánicas y compuestos no azúcares (proteínas, almidones, gomas, ceras y grasas).

Rein (2007), expresa que la caña está conformada por tres componentes, cada uno con dos subcomponentes. Uno de estos es la fibra, que consiste de fibra vegetal y materia insoluble que no es fibrosa, pero se incluye y a veces se mide como cenizas. En la caña, también se encuentran los sólidos disueltos que se conocen como grados Brix, que representan la materia en caña soluble en agua; sacarosa que se mide en forma aproximada como polarización o pol y no sacarosas que es el material soluble que se halla en solución conocidos como no azúcares. Por último, el agua, donde la sacarosa y no sacarosa están disueltos, además del agua libre de Brix que está ligada a la estructura celulósica de la caña y, por tanto, no se encuentra disponible como solvente y no se extrae en el proceso de molienda.

Rivera y Chaves (2003), establecen que la composición química de la caña de azúcar depende de varios factores que intervienen en forma directa e indirecta, y varía entre, regiones, condiciones del clima, variedad, edad de la caña, estado de madurez de la plantación, entre muchos otros.

Las características de la caña es necesario conocerlas, debido a que el objetivo de la cosecha es entregar tallos de caña de azúcar de buena calidad. Según Rivera y Chaves (2003), a la vez que se corta y se descogolla la caña, se quita también las hojas, la caña cortada a mano es mucho más limpia que la que se obtiene de las máquinas, pero el costo de la mano de obra obliga a los productores a utilizar maquinaria.

Los problemas existentes en la molienda de la caña suceden en la mayoría de las ocasiones debido a la materia extraña y esta se incrementa con el corte mecanizado, la cual consiste en material diferente a tallos de caña aprovechables por la industria con bajos contenidos de sacarosa, es decir material del que no se puede extraer azúcar.

Esta materia extraña está dividida en dos tipos: vegetal y mineral. La vegetal está constituida por cogollos, hojas secas y verdes, malezas, tallos secos y raíces. Mientras la mineral representa a la arena, la tierra y las piedras con las que viene la caña de azúcar (Grisales, 2006).

La remoción de las puntas, hojas o cogollos resulta muy conveniente para el proceso, estas impurezas contienen poca sacarosa y tienen un alto contenido de almidón y de azúcares reductores que disminuyen el rendimiento de azúcar. El residuo de las puntas absorbe sacarosa y sale del tren de molinos con más sacarosa de la que contenía originalmente al entrar a los mismos.

1.1.2 Proceso de producción de azúcar crudo. Etapas Principales

La fabricación de azúcar implica la aplicación de varios procesos para convertir el jugo de caña en cristales y depurarlos de manera natural de impurezas. En la anexo 1, se muestra el diagrama general de la producción de azúcar crudo.

El proceso de fabricación de azúcar crudo consta de las siguientes etapas: extracción o molienda, alcalización, calentamiento, clarificación, evaporación, cristalización y centrifugación (van der Poel, *et al.*, 1998). Según Hugot (1986), el proceso comienza en el pesaje mediante básculas de las unidades que transportan la caña de azúcar, en esta parte se determina la calidad de la materia prima. La caña que llega a la fábrica se descarga sobre las mesas de alimentación, luego se somete a un proceso de preparación que consiste en romper y desfibrar las celdas de los tallos por medio de desfibradoras o desmenuzadoras para poder pasar al proceso de extracción del jugo (Ayala, 2012).

Etapas de extracción y molienda

Según Morales, *et al.* (2010), la caña preparada se somete al proceso de molienda para extraer el jugo de caña mediante la presión que ejercen los rodillos del tándem de molinos. Del 60 al 70% del jugo se extrae por la presión que ejerce el primer molino, subsecuente el flujo disminuye y el jugo remanente en el bagazo se extrae por una combinación de lixiviación y presiones periódicas en los molinos restantes. Este método de extracción por lixiviación es conocido como imbibición, según Cardona (2009). Acerca de la imbibición, Pedrosa (1983) establece que el valor de la temperatura de agua de imbibición tiene que estar entre 75 y 80 °C, lo cual facilita la extracción y evita el desarrollo microbiano. Sin embargo, Posada (1987) y Rein (2007) recomiendan que la

temperatura del agua de imbibición no debe exceder de los 85 °C para evitar que el derretimiento de las ceras de la caña ocasione que patinen las mazas de los molinos.

Etapas de alcalización

El jugo color verde oscuro procedente de los molinos es ácido y turbio, por ello se introduce en la etapa de alcalización; proceso que consiste en agregar hidróxido de calcio (Ca(OH)_2), al jugo con el objetivo de neutralizar su acidez; proceso fundamental para lograr una clarificación eficiente y evitar la destrucción de azúcares e inversión de la sacarosa. Cuando el pH es menor de 7 la clarificación es deficiente y la pérdida por inversión aumenta; mientras, cuando el pH es mayor de 8 se produce la destrucción de los azúcares reductores, exceso de incrustaciones en los evaporadores, aumento de producción de mieles, aumento de color, y azúcar de baja calidad (Rein, 2007).

Etapas de calentamiento

Según Pérez (2009) y Morales, *et al.* (2010), la temperatura del jugo alcalizado a la salida de los calentadores está entre 103 y 105 °C con el objetivo de favorecer el proceso de coagulación en la etapa de clarificación. Rein (2007) establece que la temperatura del jugo tiene que ser superior al punto de ebullición, que se comprende entre 102 y 104 °C, por encima de este intervalo de temperatura se produce destrucción de los azúcares, formación de color y caída excesiva del pH.

Etapas de clarificación

En la etapa de clarificación se busca eliminar las impurezas solubles e insolubles presentes en el jugo. Se separa el jugo en dos partes, el jugo clarificado y los precipitados

sedimentables, espumas y lodos. Los lodos son el sedimento o precipitado que contiene sales insolubles, fosfatos de calcio, ceras, gomas y sacarosa (Morales, *et al.*, 2010). Según Herrera (2011), la clarificación del jugo tiene como objetivo producir un precipitado de composición compleja que contiene sales insolubles de cal, albúmina coagulada, ceras, grasas y gomas que contiene el jugo de caña, debido a que estas son precursoras de color y turbiedad. Con la coagulación de las impurezas se desencadenan reacciones químicas que hacen posible las colisiones entre partículas, estas tienen lugar tras la adición de la cal, la cual reacciona con sustancias cargadas negativamente presentes en el jugo para formar compuestos insolubles o macromoléculas de lodos, que finalmente son las que se extraen para que el jugo quede claro. Las reacciones de precipitación inician con la formación del fosfato monocalcico ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$) y dicálcico (CaHPO_4), según Doherty y Rackemann (2009) y Greenwood, *et al.* (2011). Una vez que las impurezas coagulan, se introduce un proceso de floculación porque permite que estas sedimenten en un menor tiempo posible para poder producir un jugo claro y proseguir con el proceso de elaboración del azúcar.

Etapas de filtración

Para recuperar la sacarosa remanente, el precipitado que se forma en la clarificación se somete a un proceso de filtración, generalmente se emplea filtros rotatorios al vacío; en estos equipos se adiciona bagacillo y agua de lavado a la cachaza para facilitar la filtración. El filtro consiste en un tambor rotatorio cubierto de láminas de metal perforado, que se sumerge en un baño de cachaza. A medida que gira se aplica vacío, se adhiere una torta fina sobre el tambor, que pasa por duchas lavadoras con agua caliente, para obtener una mayor recuperación de sacarosa en el jugo filtrado. Después de lavada

la torta, se seca por la acción del vacío, el cual es retirado posteriormente para poder desprender la torta del tambor mediante raspadores (Herrera, 2011). Para obtener mejor eficiencia en el filtrado es necesario conocer que los jugos alcalinos filtran mejor que los jugos ácidos o neutros, por esta razón generalmente se agrega cal a la cachaza, antes de enviarlas a la filtración y el pH se establece entre 8 y 8,5. De la filtración se obtienen dos corrientes; un jugo filtrado de calidad intermedia que se recircula al tanque de alcalizar y un residual que se conoce como torta o cachaza (Hugot, 1986).

Etapa de evaporación

En esta etapa se evapora la mayor cantidad de agua contenida en el jugo claro, de forma tal que se logre su concentración sin llegar a la condición de saturación, para ello se requiere de un preevaporador y un cuádruple efecto (Hugot, 1986). Cardona (2009), plantea que el jugo clarificado se somete a evaporación en un conjunto de evaporadores en serie; donde se elimina gran parte del agua contenida en el jugo (alrededor del 80%), de lo cual resulta un material denso llamado meladura, según Pérez (2009), la meladura debe tener una concentración próxima a los 65 °Bx.

Etapa de cristalización

En la etapa de cristalización la meladura se envía a los tachos al vacío, donde se introducen núcleos de sacarosa previamente formados, de tamaño homogéneo para lograr un crecimiento de los cristales de azúcar de manera uniforme. Este proceso incluye, equipos que comúnmente se les llaman cristalizadores, donde se intenta lograr el agotamiento de la sacarosa contenida en la miel que acompaña al cristal, formado por enfriamiento (Hugot, 1986). El producto creado después de la formación de los cristales

del tamaño y pureza deseados, es conocido como masa cocida; en el tacho, la masa está sobresaturada de sacarosa, en una solución sobresaturada exenta de cristales no siempre el exceso de sacarosa disuelta se deposita o separa de la solución, pero si se agrega a la solución una porción de cristales de soluto, el exceso comienza a depositarse, es decir, a cristalizar. El proceso de cristalización consiste, después de haber alcanzado el estado de sobresaturación adecuado en dos etapas distintas: nucleación y crecimiento de los núcleos o cristales (Páez, 2013).

Etapas de centrifugación

En esta etapa la masa cocida se lleva hacia las centrífugas para separar el cristal de azúcar de la miel. Las centrífugas son equipos que giran a altas revoluciones por minuto y poseen en su interior una malla de finos agujeros que permiten solamente el paso de la miel, mientras que bloquea el paso de los granos de azúcar, los cuales permanecen atrapados en la parte interna de la malla. La miel obtenida al centrifugar la masa primera se conoce como miel primera y se utiliza para elaborar los cocimientos de la masa segunda, la cual se centrifuga en diferentes centrifugas a las usadas anteriormente. La miel obtenida al centrifugar la masa segunda se conoce con el nombre de miel segunda y se usa para elaborar otro tipo de masa, conocida como masa tercera y que al centrifugarla da una miel conocida como miel final o miel de purga, de la cual es muy difícil recuperar más sacarosa por el mecanismo de cristalización (Páez (2013), porque es un subproducto del proceso fabril y no retorna al proceso por su bajo contenido de sacarosa (Cardona, 2009).

1.1.3 Parámetros de calidad en el proceso de producción de azúcar crudo

La concentración de sólidos disueltos (°Brix), la concentración de sacarosa en jugo (% pol) y la pureza son indicadores de calidad del jugo. Sin embargo, investigaciones más recientes señalan que la calidad se reconoce en la molienda por la cantidad de azúcar recuperable que se obtiene por tonelada de caña molida. Ello depende en gran medida del alto contenido de sacarosa, bajo contenido de materiales extraños, bajo contenido de sólidos solubles diferentes a la sacarosa, y bajos niveles de fibra (Larrahondo, 1995; Zhou, *et al.*, 2008).

Según Larrahondo (1995), los principales factores que afectan la calidad del jugo de caña después del corte son: grado de quema y altura del corte. El grado de quema influye en los azúcares reductores, los cuales aumentan con el deterioro de la caña e incrementan el color del cristal de azúcar. El color del azúcar crudo es un parámetro de calidad importante, pues este incide en los costos de refinación para obtener azúcar blanca (Zossi, *et al.*, 2010).

Según Larrahondo (1995), el cogollo tiene alta incidencia en los niveles de color y de impurezas como los polisacáridos solubles, y representa la principal fuente de entrada de almidón al proceso. Esto último se debe al desarrollo del corte mecanizado, pues aumenta la cantidad de materia extraña generalmente formada por cogollo y hojas.

El almidón constituye una impureza que afecta negativamente el proceso de producción de azúcar crudo en cuanto a calidad y cantidad (Zhou, *et al.*, 2008). Según Kampen, *et al.* (1998) y Zhou, *et al.* (2008), el almidón es un polisacárido que dificulta el proceso de filtración, reduce la cristalización y se incorpora en los cristales de azúcar crudo.

Según Penados (2004), la presencia del almidón en el proceso tiene una importancia relevante para la comercialización del azúcar, pues el contenido de almidón es un parámetro de calidad que se tiene en cuenta para la compra de este producto en el mercado internacional y crea la posibilidad de penalidades impuestas por las refinerías que parten del azúcar crudo. Es debido a ello que se establecen multas financieras a las fábricas que entregan azúcar crudo con concentraciones de almidón mayor que 250 ppm (Cole, *et al.*, 2014; Eggleston, *et al.*, 2013).

Zossi, *et al.* (2010) realizan un estudio en cuatro variedades de caña de azúcar, donde las concentraciones de almidón comprenden en un rango de 2000 a 2300 mg/L. Castro (2015) expresa que el contenido de almidones depende en gran parte de la variedad de caña de azúcar; se encuentra en los puntos de crecimiento de la planta y aún más en las hojas. Encuentra, además, que se concentra más en la caña inmadura, y varía entre 275 y 1 500 mg/L.

Otro parámetro que produce la mayoría de los efectos que produce el almidón lo constituye la dextrana. Según Bukhari, *et al.* (2015), la dextrana en jugo, meladura y azúcar crudo falsea las mediciones de pol, además produce gomas que aumenta la viscosidad de los jugos y afecta la clarificación, la filtración y provoca la deformación del cristal, por elongación del mismo.

Entre los parámetros de calidad, el color es un indicador, cuando se procesa caña verde, que contiene cantidad significativa de hojas, se incrementa la cantidad de no azúcares que ingresa a fábrica, especialmente almidón y aquellos compuestos que aportan color (Zossi, *et al.*, 2011). Los constituyentes de la caña de azúcar, se derivan de pequeñas cantidades

de pigmentos naturales, tales como: clorofilas y antocianinas, que se encuentran generalmente en la planta. En gran parte el color también resulta del material coloreado formado por degradación de los azúcares, por reacciones entre azúcares reductores y los aminoácidos, y por otras reacciones similares; al calentar el azúcar por encima de su punto de descomposición pueden ocurrir reacciones de caramelización, conocidas como reacciones de Maillard (Páez, 2013).

Según Zossi, *et al.* (2011), la calidad de la caña también se afecta por constituyentes inorgánicos presentes como iones solubles en agua, sales o constituyentes de moléculas orgánicas complejas o compuestos insolubles, que se encuentran en el jugo de caña como sólidos suspendidos; en otras investigaciones los cationes mayoritarios son potasio y sodio, y los aniones son silicatos, fosfatos y sulfatos; en general estos compuestos se conocen como cenizas. Además, establece que los valores de cenizas se encuentran entre 2,28 y 4,59 %. Con respecto a esto, Rein (2007), establece que el contenido total de cenizas en el jugo de caña, representa un promedio de 4%.

1.2 Caracterización del almidón. Propiedades

El almidón se encuentra en el protoplasma de las hojas de la caña y en el extremo del tallo de la misma. Mientras otros estudios establecen que en las cañas maduras se encuentran muy poco contenido de almidón y se plantea que los depósitos de almidón se localizan habitualmente cerca de los nudos a partir del cual se propaga la caña (Eggleston, *et al.*, 2007).

Como se planteaba anteriormente, la introducción del cogollo con la mecanización de las cosechas y el desarrollo anormal de los nudos de la caña por deterioro de la misma o mala formación en el crecimiento, así como el tipo de variedad, el grado de madurez, el tipo de fertilización y el clima; incrementan la presencia del almidón considerablemente (Eggleston, *et al.* (2008b).

El almidón existe en gránulos semicristalinos de 1 a 10 μm en el tejido y en el jugo extraído de la caña de azúcar. Los gránulos de almidón de caña de azúcar están formados por mezclas en proporciones variables de dos constituyentes distintos la amilosa y la amilopectina, y ambos son polímeros derivados de la α -D- glucosa (Chen, *et al.*, 2016), en el Anexo 1 se puede observar la estructura de la amilosa.

La amilosa ocupa la parte interior del grano y no forma engrudo, es en esencia, un polímero lineal dispuesto en forma de espiral, y cada vuelta completa de la espiral abarca seis unidades de glucosa. La amilosa está constituida por moléculas de glucosa donde el enlace fundamental entre estas unidades es α -(1-4), donde aparece la glucosa en forma piranosa, se muestra en el anexo 2. En presencia de yodo la amilosa toma un color azul oscuro. Según Alencar, *et al.* (2011), el almidón extraído de la caña de azúcar posee un 25% de amilosa y un 75 % de amilopectina.

La amilopectina forma la encubierta o envoltura del gránulo, y es la que al gelificar forma el engrudo, constituye un polímero altamente ramificado, compuesto por muchas ramas cortas de 20 a 30 unidades de glucosa unidas por enlaces α -(1-4) y α -(1-6) (Chen, *et al.*, 2016), en el anexo 2 se muestra la estructura correspondiente a la amilopectina.

Peña (2009), menciona que el almidón presenta dentro de sus propiedades la gelatinización y explica que se conoce como gelatinización al proceso donde los gránulos de almidón, que son insolubles en agua fría debido a que su estructura es altamente organizada, se solubilizan. Estos se calientan en suspensión acuosa entre 60 y 70 °C y empieza un proceso lento de absorción de agua. Además, se observa que a medida que se incrementa la temperatura, se retiene más agua y el gránulo empieza a hincharse y aumentar de volumen al llegar a cierta temperatura; el rango de temperatura en el que tiene lugar el hinchamiento de todos los gránulos se conoce como rango de temperatura de gelatinización y es característico de la variedad particular de almidón. También al producirse el hinchamiento de los gránulos, ocurre la extracción de la amilosa, la cual liberada queda en dispersión coloidal, donde los gránulos intactos están en suspensión y si se continúa administrando calor a los gránulos hinchados, estos se rompen parcialmente y la amilosa y la amilopectina se dispersan en el seno de la disolución; al final de este proceso se genera un gel.

Otro criterio establece que la gelatinización es la disrupción del orden molecular dentro del gránulo. La evidencia de la pérdida del orden, incluye: hinchamiento irreversible del gránulo, pérdida de birrefringencia y pérdida de estructura cristalina. Se produce dentro de un estrecho margen de temperatura, gelatinizando primero los gránulos más grandes y por último los más pequeños. La temperatura inicial y el rango de gelatinización, dependen del método de medición, de la relación almidón/agua, tipo de gránulo y heterogeneidades dentro de la población de gránulos (Brumosky, 2014).

Acerca de las propiedades del almidón, Brumosky (2014), comenta sobre otra propiedad que presenta el almidón, conocida como retrogradación. Cuando el almidón gelificado se

enfria, este se torna progresivamente menos soluble. En solución diluida, las moléculas de almidón precipitan, y este material insoluble es difícil de solubilizarlo por calentamiento. Esto quiere decir, que, si una solución de almidón concentrada se enfria, en ausencia de agitación, se forma un gel rígido, este retorno al estado insoluble se llama retrogradación.

1.3 Influencia del almidón en la producción de azúcar crudo

La presencia de algunos polisacáridos indeseables en los jugos de la caña de azúcar tal como el almidón, puede ocasionar consecuencias irreversibles en la producción de azúcar crudo y provocar pérdidas, de ahí la importancia del estudio de su influencia.

En los estudios de Alencar, *et al.* (2011), determinan que las variedades de la caña de azúcar presentan diferentes contenidos de almidón y de otras impurezas asociadas. También, establece que el contenido de almidón es más alto en cañas inmaduras con respecto a las maduras y se observa que el mismo decrece cuando la maduración en la caña de azúcar aumenta. Según Zossi, *et al.* (2008b) la concentración del almidón en la caña depende de la variedad, la cual oscila entre 200 y 1200 mg/L.

Otros como Viginotti, *et al.* (2014) declaran que el contenido de almidón en el jugo de caña se encuentra en un rango de 1600 a 2600 mg/L, pero esto depende de diferentes factores, como: la variedad y madurez de la caña que se procesa.

El almidón entra en la fábrica en forma de gránulos que pueden dispersarse fácilmente en el jugo durante el proceso de maceración. Posteriormente, en el proceso de gelatinización

causado por el calentamiento en la clarificación, se acaba de disolver y así se concentran en las mieles.

Rein (2007), menciona que, en el proceso de molienda, gran parte del almidón que es insoluble en la caña se solubiliza por efecto del calor y pasa a los jugos; una parte se elimina en la clarificación, mientras el resto de alguna manera permanece en el proceso. Entre un 30 % y 40 % de este polisacárido se incrusta en el cristal de azúcar crudo durante la cristalización.

Durante el proceso de clarificación el almidón se hace parcialmente soluble eliminándose una fracción, mientras que otra parte pasa a la meladura. Si la cantidad de almidón que pasa a la meladura es mayor de 150 ppm comienzan a existir afectaciones en el proceso. Se determina que el tamaño del almidón es de 1 a 6 μm y estas partículas tienden a coagularse a temperaturas entre los 65 y 80 °C. Esta coagulación forma partículas densas y de gran tamaño que pueden aumentar la viscosidad de la meladura, lo que provoca la disminución de la velocidad de la cristalización en los tachos, impide el agotamiento de las mieles y dificultan la purga en las centrífugas (Penados, 2004).

En consideración a lo anterior, contenidos de almidón en jugo, mayores a 200 mg/L, causan problemas durante el proceso de elaboración de azúcar crudo, entre los principales están: el aumento de la viscosidad por efecto de la gelatinización de los gránulos de almidón, la dificultad en los procesos de filtración, decantación, evaporación y cristalización.

De acuerdo con esto, Penados (2004) determina que el almidón reduce la calidad del jugo y azúcar crudo porque demora o inhibe la cristalización y aumentan las pérdidas de

azúcar en la miel final. También, establece que debido a su naturaleza de carbohidratos y su gran solubilidad es muy difícil de remover en el proceso; tiene la tendencia de ocluirse en el cristal de azúcar crudo. Así que representa una pérdida en términos de azúcar disponible para el proceso, por causar demoras en el proceso debido a viscosidades excesivas y pérdidas de sacarosa por modificaciones en el crecimiento del cristal.

El almidón constituye una impureza del jugo de caña de azúcar y trae efectos adversos en los procesos de producción y refinación del azúcar crudo. Como consecuencia se afecta la cantidad y calidad del azúcar producido (Eggleston, *et al.*, 2006). El contenido de almidón es consecuencia del metabolismo de la caña, y la industria no influye en nada sobre eso.

Generalmente, el almidón es insoluble a temperaturas bajas, pero al momento que el licor alcanza 60 °C el almidón se gelatiniza. Esto ocurre cuando los gránulos de almidón se hinchan y ocupan grandes volúmenes de espacio. La solubilidad del almidón a altas temperaturas aparece cuando las viscosidades del licor aumentan (Penados, 2004).

Aunque en el proceso de producción de azúcar crudo durante la etapa de clarificación se elimina una gran parte, el almidón soluble producto de la gelatinización por el efecto de la temperatura permanece en el jugo de caña de azúcar, y de esta manera continua en todo el proceso (Zhou, *et al.*, 2008). El contenido de almidón es un parámetro importante a considerar durante el proceso de elaboración de azúcar crudo, en la industria, es común cuantificar su contenido en el proceso para disminuir sus efectos negativos en la capacidad productiva (Zossi, *et al.*, 2008b).

En varios estudios se expresa que el almidón reduce la filtración y la afinación del azúcar crudo, y constituye un impedimento para el proceso de decoloración en la refinación (Eggleston, *et al.*, 2006). De acuerdo con la información anterior, se concibe que, ejerce una influencia considerable en la viscosidad de las masas cocidas y puede doblegar dicha viscosidad al reducir la calidad de las mismas.

La autora pudo constatar que la mayoría de los autores Eggleston, *et al.*, (2006); (Zossi, *et al.*, 2008b); (Zhou, *et al.*, 2008), entre otros, coinciden en plantear que el almidón se ocluye en el cristal de azúcar en la etapa de cristalización, y de esta manera permanece en el azúcar crudo. La calidad de la producción se ve afectada porque el cristal obtenido no va a ser puro en sacarosa.

1.4 Tecnologías de control del contenido de almidón en la industria azucarera

El almidón es una impureza presente en el proceso de producción de azúcar crudo y refino, debido a todos los problemas que causa en las etapas involucradas en ambos procesos, donde afecta la calidad y cantidad de los productos a obtener. La necesidad de su eliminación es un tema actualmente evidente, por lo que los países productores de azúcar, desarrollan investigaciones para mejorar esta tecnología y aumentar el rendimiento.

De acuerdo con los problemas provocados por la presencia de almidón en la producción de azúcar crudo y refino, surgen numerosas técnicas analíticas, tanto para evaluar el contenido de almidón en los jugos durante las diferentes etapas del proceso de

elaboración de azúcar, como para determinar su concentración en el producto final: azúcar crudo y azúcar refinado (Zossi, *et al.*, 2008a). En investigaciones, Zossi, *et al.* (2008b) valida una nueva metodología para la determinación del contenido de almidón en azúcar. El principio del método se basa en la detección colorimétrica del complejo almidón-yoduro.

Otros estudios realizados prueban varios métodos para eliminar o reducir los efectos del almidón, así como la extracción mecánica del almidón insoluble, la centrifugación del jugo y la clarificación al vacío, pero ellos exigen grandes inversiones que encarecen su uso, y ofrecen resultados parciales ya que no eliminan la fracción soluble. Mientras Zhou, *et al.* (2008) establecen entre las soluciones, realizar una cuidadosa selección de variedades de caña sobre la base del contenido de almidón, pero aun así persiste la presencia del almidón en el proceso solo que a bajas concentraciones

Chiu y Solarek (2009), con el objetivo de minimizar los efectos negativos del almidón demuestran varios métodos para su modificación química y físicamente, sin embargo, mencionan que generalmente se emplean solo enzimas hidrolasas (amilasas) para modificar el almidón. Según Zhou, *et al.* (2008), la hidrólisis es más eficaz cuando los gránulos de almidón están parcialmente solubilizados y gelatinizados por la maceración en caliente o el agua de imbibición. También explica que la degradación del almidón se produce a bajas concentraciones de amilasas, esto produce un incremento del tiempo de retención y la elevación de este tiempo a la vez provoca una degradación ácida no deseada de sacarosa.

Otro criterio dado por Eggleston, *et al.* (2003), expresa que si en la clarificación se opera la alcalización en caliente una fracción del almidón es removido y precipita por el precalentamiento del jugo antes de alcalizar y clarificar. Sin embargo, Zhou, *et al.* (2008) comenta que si se trabaja la alcalización en frío el suceso anterior no ocurre, solo una parte del contenido de almidón precipita durante el proceso de clarificación.

Aunque las tecnologías y operaciones que se analizan anteriormente representan un gran avance, aún no constituyen una solución eficaz en la eliminación del contenido de almidón. A pesar de que la aplicación del calentamiento, la incubación o la clarificación del jugo facilitan remover o degradar el almidón, usualmente permite eliminar una parte, el resto sigue en el proceso, donde afecta el rendimiento del mismo.

Sin embargo, algunas investigaciones establecen el uso de un tratamiento más eficiente, que consiste en adicionar alfa amilasa en el pre-evaporador para hidrolizar el almidón presente en el jugo concentrado (Zhou, *et al.*, 2008). La alfa amilasa normalmente se agrega al penúltimo o último vaso del múltiple efecto, porque a estas condiciones de operación el almidón es un gel completamente soluble; de esta forma se favorece la hidrólisis (Penados, 2004). También el pH, la temperatura y tiempo de retención en esta etapa propician la acción de la enzima (Eggleston, *et al.*, 2006).

Por otro lado, Popper, *et al.* (2006) expresan que el uso de la enzima alfa amilasa es el método más eficiente para hidrolizar el almidón en los ingenios azucareros y refinerías, por lo que el uso de esta enzima ayuda en los siguientes aspectos: elimina problemas de viscosidad, elimina problemas de cristalización, reduce las pérdidas de sacarosa a la miel final y elimina las sanciones por la presencia de almidón en el azúcar.

1.4.1 Hidrólisis enzimática del almidón

Actualmente la industria azucarera emplea la tecnología de hidrólisis enzimática para la degradación del almidón, debido a que este método logra eliminar en mayor medida el almidón en cuanto a otros métodos químico-físicos aplicados.

La alfa amilasa es una enzima líquida estable a variaciones térmicas, la función de esta enzima es hidrolizar las uniones glucosídicas α -(1-4) entre la amilosa y la amilopectina, de tal manera que el almidón es dividido en varios oligosacáridos, disminuyendo los problemas ocasionado por el mismo en la producción de azúcar crudo (Penados, 2004).

La hidrólisis del almidón es una de las aplicaciones más extendidas de la alfa amilasa, donde el almidón se convierte en unidades de glucosa, la conversión enzimática incluye la gelatinización que involucra la disolución de los gránulos de almidón formando una suspensión viscosa, la licuefacción que involucra la hidrólisis parcial y disminución de la viscosidad y, la sacarificación involucrada en la producción de la glucosa y maltosa como una extensión de la hidrólisis (Monteiro y Oliveira, 2010).

Para Barros (2012) el proceso de degradación del almidón gelatinizado se lleva a cabo en dos etapas, la licuefacción y la sacarificación. La licuefacción se efectúa por medio de la actividad de la alfa amilasa, la cual ataca a los polisacáridos en las uniones glucosídicas α -(1-4) a lo largo de la cadena, a medida que avanza la reacción, la enzima libera maltosa y D-glucosa, en el anexo 3 se presenta un ejemplo de hidrólisis enzimática del almidón.

Según Tiwari, *et al.* (2015) y (Bruinj, 1968), las amilasas pertenecen al grupo de enzimas que atacan al enlace α -(1-4) glucósido, y se dividen en tres tipos: α -amilasas, β -amilasas y γ -amilasas. Las alfa amilasas son las enzimas más comunes, catalizan aleatoriamente la

hidrólisis del almidón, y causa la disminución rápida de la turbiedad, viscosidad, y de la coloración; ellas forman productos de bajo peso molecular como: D-glucosa, la maltosa y limita las dextranas de un grado de polimerización de 4 - 8, que contienen enlaces (1-6) entre cadenas (Monteiro y Oliveira, 2010; Tiwari, *et al.*, 2015).

A partir de varios hongos, levaduras y bacterias se obtienen las amilasas. Generalmente, se obtienen a partir del género *Bacillus* de ellos: *Baccillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*, estos son conocidos por ser buenos productores (Monteiro y Oliveira, 2010; Tiwari, *et al.*, 2015). *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Neurospora*, *Penicillium* y *Candida* son algunos hongos productores de amilasas de valor comercial (Tiwari, *et al.*, 2015).

La mayoría de la industria americana de azúcar para controlar el almidón con la aplicación de la enzima alfa amilasa producida a partir del *Baccillus subtilis*, alcanza la estabilidad en un intervalo de temperatura entre 70 y 85 °C. Esta enzima es dependiente del calcio, pero esto no representa un problema en la industria de azúcar porque la cal se agrega durante la clarificación y, por consiguiente, las concentraciones de calcio libres son adecuadas (Zhou, *et al.*, 2008). Según Eggleston, *et al.* (2006) en países, como: Australia y Estados Unidos, se alivian problemas por la presencia de almidón en los jugos de caña de azúcar con la aplicación de la alfa amilasa, sin embargo, el tratamiento con estas enzimas es caro, complicado y a veces ineficaz.

En estudios realizados en base a la eficiencia de la acción de la alfa amilasa, determinan que los parámetros básicos que afectan el proceso de hidrólisis son: temperatura, pH del medio, concentración del sustrato y concentración de la enzima. A menudo la alfa

amilasa trabaja entre un rango de temperatura de 90-100°C, la concentración del sustrato en suspensión puede variar entre 20-30%, el pH entre 6-8, y la concentración de la enzima entre 0,03-1% (Kolusheva y Marinova, 2007). Eggleston, *et al.* (2008a), explica que la eficiencia de la acción de la alfa amilasa al hidrolizar el almidón en los jugos concentrados está relacionada con la actividad del tipo de amilasa. Al trabajar con soluciones diluidas doblegando el agua en el penúltimo vaso del evaporador, la actividad enzimática es relativamente alta y esto garantiza un mejor contacto entre el almidón y la enzima. También, se observa que es más difícil hidrolizar el almidón cuando los niveles de almidón son bajos. Esto se debe a que es menor el contacto entre el almidón (el sustrato) y la alfa amilasa (la enzima). Por lo que, este problema puede mitigarse con un aumento de la dosis de solución activa de α -amilasa que se agrega al penúltimo evaporador, y se garantiza una actividad enzimática elevada.

También resulta interesante el estudio de Viginotti, *et al.* (2014), donde establece que la digestión de la enzima resulta en un intervalo de tiempo de 10 a 120 minutos y se produce un incremento de 0.09 a 0.18 mg/mL en los azúcares reductores producto de la hidrólisis enzimática del almidón de la caña de azúcar.

De acuerdo con lo planteado anteriormente, el estudio de la hidrolisis enzimática del almidón en el proceso de producción de azúcar crudo resulta de gran interés, si se considera medir la eficiencia de este método en el desdoblamiento de los almidones.

1.5 Conclusiones parciales del capítulo

1. La introducción mecanizada del corte aumenta la cantidad de materia extraña formada por cogollo y hojas, principal fuente de entrada del almidón al proceso y se incrementa con la molienda de caña verde o inmadura.
2. Un contenido de almidón mayor de 250 mg/L, incrementa la viscosidad de los jugos, conlleva a una clarificación y a una filtración pobre, disminuye la velocidad de cristalización, incrementa la pureza de las melazas y se inocula en el cristal en la producción de azúcar crudo.
3. La aplicación de la enzima α -amilasa es el método más recomendado y usado para hidrolizar el almidón en los ingenios azucareros y refinerías.

CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

En este capítulo se realiza la descripción del proceso de producción de azúcar crudo objeto de estudio. Se muestra el procedimiento para determinar el comportamiento del almidón en el proceso, para lo cual se describen los fundamentos de las técnicas analíticas empleadas; además, se establece el método de validación de las curvas de referencia. También, se establece el procedimiento para estudiar la influencia de la enzima alfa amilasa con respecto al desdoblamiento del almidón y otros parámetros de calidad.

2.1 Descripción general del proceso objeto de estudio

El caso de estudio lo constituye el central azucarero “Jesús Rabí”, perteneciente al municipio de Calimete en la provincia Matanzas. El proceso de producción de azúcar crudo implica las siguientes etapas para elaborar el producto final: preparación y molienda, purificación, concentración o evaporación, cristalización, centrifugación, generación de vapor y generación de energía eléctrica. En el anexo 4 se muestra el diagrama del proceso objeto de estudio.

2.1.1 Definición de las etapas del proceso objeto de estudio

Del proceso de producción de azúcar crudo se definen las etapas: preparación y molienda, purificación, concentración o evaporación, cristalización y centrifugación; donde se establece el estudio del almidón.

2.1.1.1 Etapa de preparación y molienda

La caña se recibe en camiones, se pesa y pasa al basculador, donde se prepara para facilitar la extracción del jugo. La preparación consiste en trozar y triturar la caña, la cual se conduce por medio de una estera hacia el tándem de molinos. El primer molino extrae el jugo primario de mayor concentración de sacarosa, mientras que el bagazo pasa por los restantes molinos para continuar la extracción del jugo. Para una mejor extracción y evitar el desarrollo microbiano se añade agua de imbibición antes de pasar al último molino, la cual debe estar alrededor de los 70°C; el jugo extraído pasa por un proceso de recirculación del quinto molino al cuarto y así, sucesivamente hasta el segundo, de este último se obtiene el jugo diluido. Luego, el jugo primario y el diluido se unen, formando el jugo mezclado, el cual pasa por un filtro colador para separarlo de las partículas sólidas. Todo el bagazo obtenido se separa hacia a un conductor de banda que lo eleva al rastrillo repartidor que alimenta las calderas.

2.1.1.2 Etapa de purificación

La etapa de purificación comprende varias subetapas, donde se involucra: la alcalización, calentamiento, filtración y clarificación.

El jugo mezclado es turbio y ácido, con un pH alrededor de 5,2 a 5,7; para eliminar estas características se somete a la etapa de alcalización. Se introduce el jugo en un tanque y se le adiciona lechada de cal diluida, con una concentración de 500 a 650 gramos por tonelada de caña molida, con el objetivo de aumentar el pH del jugo entre 7,5 y 8,1 para evitar la inversión de la sacarosa, y favorecer el proceso de coagulación.

Luego, el jugo alcalizado pasa por varios calentadores, primarios, secundarios y rectificadores, cuya función es elevar la temperatura del jugo ligeramente por encima del punto de ebullición para favorecer el proceso de coagulación de las impurezas y su posterior eliminación en la etapa de sedimentación.

La clarificación tiene como objetivo eliminar la mayor cantidad posible de impurezas en suspensión, coloidales y solubles mediante la sedimentación. El jugo alcalizado se mezcla con floculante para completar la reacción de formación y sedimentación de los flóculos de fosfato tricálcico, donde se logra una separación en dos corrientes: una contiene el jugo claro y la otra contiene el sedimento. Esta última corriente no se desecha, debido a que presenta un alto contenido de sacarosa, por ello se realiza un proceso de filtración de ese lodo en los filtros rotatorios al vacío. De aquí se obtienen nuevamente dos corrientes: un jugo filtrado, de calidad intermedia que se recircula al tanque de alcalizar y un residual al que comúnmente se llama cachaza.

2.1.1.3 Etapa de evaporación

La etapa de evaporación está formada por un pre-evaporador y un múltiple efecto, en ella se evapora el agua contenida en el jugo clarificado. El múltiple efecto funciona bajo el principio de Rillieux para obtener una disolución más concentrada, pero sin llegar a la saturación. El producto final que se obtiene en este proceso es la meladura la cual posee aproximadamente 62 °Brix y una pureza de 85 %.

2.1.1.4 Etapa de cristalización

Para cristalizar la sacarosa se requiere elevar su concentración por encima de aquella correspondiente a una solución saturada, y llevarla en forma regulada y con precisión a la concentración requerida para lograr la cristalización. Dicho proceso ocurre en los tachos y la industria cuenta con siete, los cuales trabajan a simple efecto.

El sistema de masas cocidas que se emplea es el de tres masas cocidas con doble semilla, la elaboración de las masas cocidas en tachos se trabaja de la forma siguiente: la MCA se elabora con semilla B y meladura, la MCB se elabora con semilla C y miel A, la MCC se elabora con grano mejorado y miel B, el grano mejorado se elabora a partir del grano fino y miel B; el grano fino se elabora a partir de una cristalización a 82 % de pureza como mínimo y miel A, se adiciona miel B si las purezas son muy altas.

2.1.1.5 Etapa de centrifugación

La centrifugación tiene como objetivo separar los granos de azúcar de la miel, el material de entrada al proceso son las masas cocidas procedentes de la cristalización. En el caso de las masas comerciales, esta separación produce un azúcar con más del 98 % de pureza y granos con suficiente tamaño, alrededor de 0,65 a 0,80 mm para su comercialización, mientras que las mieles obtenidas de la separación (A y B) retornan al proceso para ser agotadas. En el caso de las masas de agotamiento, el azúcar centrifugado se retorna hacia los tachos (como semilla), pues su tamaño es del orden de los 0,25 a 0,40 mm y su pureza inferior al 90 % no constituyen un producto apto para la comercialización y la miel agotada como producto final se entrega a los tanques de almacenamiento.

2.2 Determinación del comportamiento del almidón en el proceso

Para determinar el comportamiento del contenido de almidón en el proceso se sigue el procedimiento que se presenta en la figura 2.1, el cual muestra las fases que se siguen en la investigación.

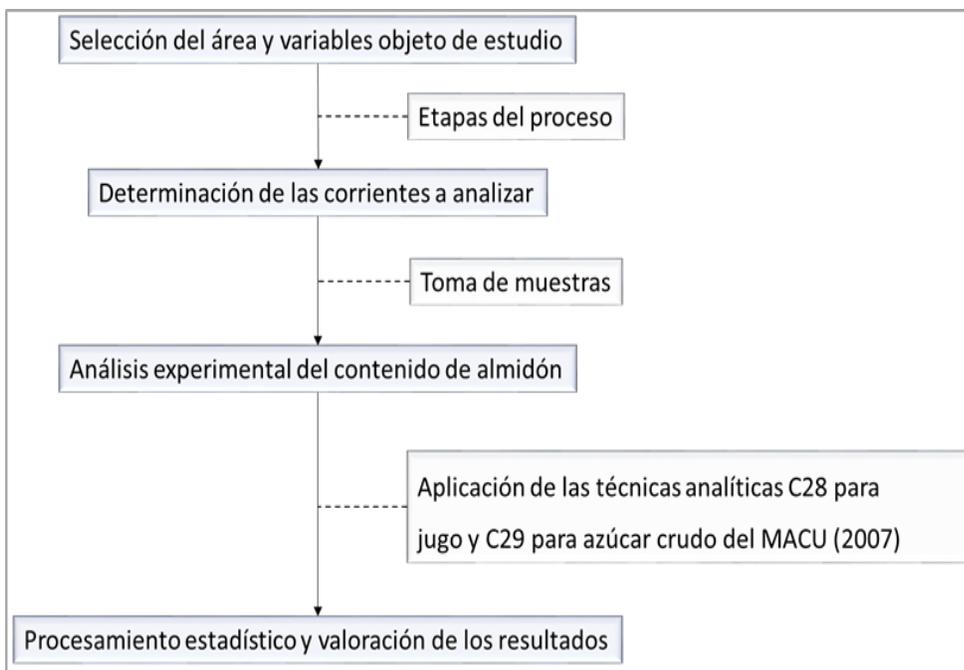


Figura 2.1. Metodica para determinar el comportamiento del contenido de almidón en el proceso de producción de azúcar crudo.

2.2.1 Selección de las etapas y corrientes objeto de estudio

Para el estudio del almidón se seleccionan diferentes áreas del proceso, donde se va desarrollar la investigación y de esta manera obtener un registro del contenido de almidón. El análisis se establece a lo largo del proceso, teniendo en cuenta las principales corrientes que lo constituyen con objetivo de garantizar el comportamiento del almidón

en el mismo y las afectaciones que provoca. En la figura 2.2 se presentan los puntos de muestreo para el control analítico del almidón.

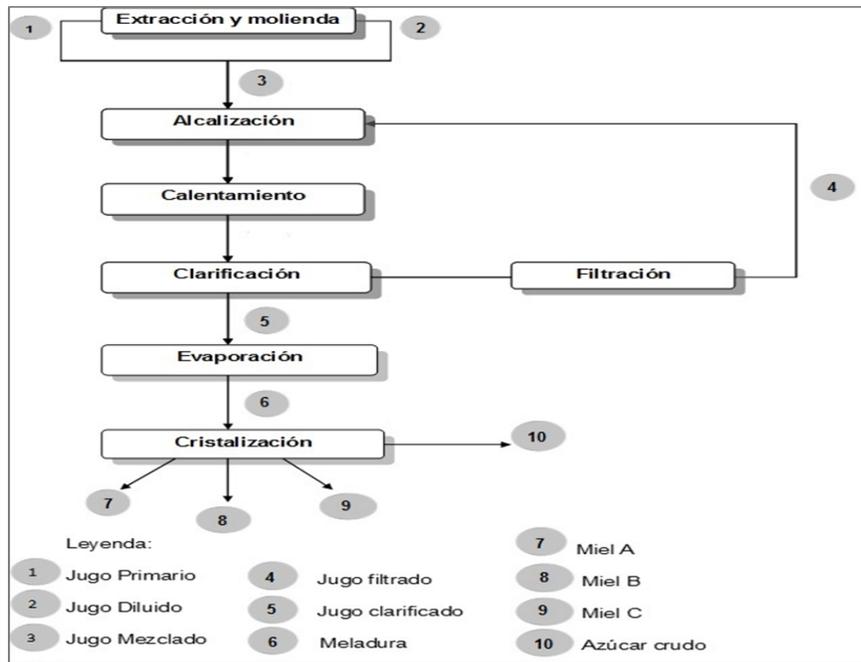


Figura 2.2. Selección de las corrientes de muestreo en el proceso.

Para el muestreo se seleccionan las corrientes principales de entrada y salida de cada etapa del proceso de producción de azúcar crudo; de esta forma, se mide el contenido de almidón en cada corriente que se selecciona.

El muestreo se realiza durante 5 días de forma aleatoria. La muestra se realiza de forma compuesta durante una hora de muestreo con 15 minutos de intervalo, para obtener una muestra representativa del proceso, se realizan tres réplicas a cada muestra. La etapa experimental se desarrolla en el laboratorio químico del central azucarero "Jesús Rabí". En el anexo 5 se muestran otros análisis necesarios para la investigación.

2.2.2 Análisis experimental del contenido de almidón en el proceso

Para determinar el contenido de almidón en los puntos de muestreo, se seleccionan las técnicas analíticas: C28, determinación espectrofotométrica de almidón en jugos y C29, determinación espectrofotométrica de almidón en azúcar crudo que aparecen en MACU (2007). Estas técnicas mantienen el principio de los métodos ICUMSA (2007) y ICUMSA (2009), y se emplean actualmente para el control del almidón en los centrales azucareros del país, la síntesis de las técnicas se encuentra en los anexos 6 y 7.

2.2.3 Análisis experimental del contenido de dextrana en el proceso

Para determinar la dextrana en el proceso se sigue el procedimiento establecido en la figura 2.1 y se eligen los mismos puntos de muestreo para la determinación del contenido de almidón (Figura 2.2); los análisis de dextrana se realizan en conjunto con los análisis de almidón. La dextrana, tiene como característica la formación de gomas y provoca similares problemas que el almidón en el proceso. La presencia de esta impureza, trae perturbaciones en el estudio del comportamiento del almidón, por ello se decide su cuantificación.

Las técnicas que se seleccionan para determinar el contenido de dextrana son: la C32, determinación turbidimétrica de dextrana en azúcar crudo y C33, determinación turbidimétrica de dextrana en jugos; expuestas en el (MACU, 2007). Estas técnicas se basan en los métodos de ICUMSA, la síntesis de las técnicas se encuentra en los anexos 8 y 9.

2.2.4 Construcción de las curvas de referencia. Determinación de almidón y dextrana en jugos y azúcar crudo

En la construcción de las curvas de referencia para poder determinar la concentración de almidón en jugos y azúcar crudo, se sigue el procedimiento de las técnicas de determinación de almidón C28 y C29, que consiste en realizar mediciones de absorbancia a diferentes concentraciones de almidón de referencia. Luego, se trazan los valores de absorbancia (ordenadas) que se correspondan con las cantidades de almidón (abscisas) y, en consecuencia, se obtiene la curva correspondiente.

En los anexos 11 y 11 se presentan los valores de concentraciones de almidón de referencia, a los cuales se le debe medir la absorbancia correspondiente para la confección de la curva de calibración de almidón en jugo y en azúcar crudo. Para conformar las curvas de referencias en función de la concentración de dextrana en jugos y azúcar crudo se sigue el procedimiento de las técnicas de determinación de dextrana que se muestran en los anexos 8 y 9.

Una vez se tracen las curvas correspondientes a cada caso, se mide la absorbancia de la muestra y mediante la curva se puede determinar la concentración de almidón o dextrana de la muestra. Para el caso de la determinación de almidón en jugo, se calcula el contenido de almidón, mediante la ecuación 2.1, establecida en el (MACU, 2007):

$$C_i = \frac{10000 * m_i}{m_j * B_x} \quad (2.1)$$

Donde:

C_i : Concentración de almidón (mg/kg).

m_i : Masa de almidón que se obtiene a través de la curva de referencia de almidón en jugo (mg).

B_x : Sólidos disueltos, presentes en la muestra de jugo original, se busca en el anexo 5 según la corriente donde se tome la muestra.

m_j : Masa de la muestra a la que se le desarrolla color contenida en los 50 mL (g).

Para determinar la masa de la muestra a la que se le desarrolla color se utiliza la ecuación 2.2:

$$m_j = \frac{m_i \cdot V_A}{100} \quad (2.2)$$

Donde:

V_A : Volumen que se toma de la muestra una vez filtrada (mL).

Mediante las curvas de referencias y las ecuaciones establecidas en las técnicas de análisis se puede determinar las concentraciones de almidón y dextrana a lo largo del proceso. El registro permite ver el comportamiento de estos polisacáridos, específicamente el almidón.

2.3 Determinación de la influencia de las etapas del proceso de producción de azúcar crudo en el contenido del almidón

En el epígrafe anterior se establece el procedimiento para registrar el comportamiento del almidón en todo el proceso, pero es necesario estudiar la influencia de cada etapa en el contenido de almidón. Para ello se analiza el almidón presente en las corrientes

involucradas en cada etapa de forma individual; se establecen los análisis en las etapas de extracción, purificación, evaporación y cristalización. Además, se presenta la metodología para determinar el porcentaje de remoción del almidón en la etapa de clarificación, así como, el porcentaje que queda retenido en el cristal de azúcar crudo.

2.3.1 Procedimiento para determinar la influencia de las etapas del proceso en el contenido de almidón

Para determinar la influencia de las etapas del proceso se analiza el contenido de almidón presente en las corrientes involucradas en cada etapa. En la etapa de extracción y molienda se analiza y compara las concentraciones de almidón de las corrientes de jugo primario, jugo diluido y jugo mezclado. En la etapa de purificación se analizan los contenidos de almidón en las corrientes de jugo clarificado, jugo filtrado y jugo mezclado. Para el análisis, se considera las etapas de evaporación y cristalización en conjunto, donde se estudia las concentraciones de almidón en las corrientes de meladura, Miel A, Miel B, Miel C y azúcar crudo.

2.3.2 Determinación del porcentaje de remoción de almidón en la etapa de clarificación

Para estudiar el efecto que provoca el proceso de clarificación en el contenido de almidón, se determina el porcentaje de almidón que se remueve en la etapa, debido al proceso de sedimentación; para su determinación se utiliza la ecuación 2.3:

$$RA = \frac{C_i - C_f}{C_i} * 100 \quad (2.3)$$

Donde:

RA: Porcentaje de remoción de almidón.

C_i: Concentración de almidón inicial (mg/L).

C_f: Concentración de almidón final (mg/L).

2.3.3 Determinación del porcentaje de retención de almidón en azúcar crudo

Con el objetivo de establecer el almidón retenido en el cristal de azúcar, a partir de la cantidad de almidón que entra al proceso; se determina el porcentaje de retención de almidón en azúcar crudo, para ello se utiliza la ecuación 2.4.

$$RA_{\text{azúcar crudo}} = \frac{FA_{\text{azúcar crudo}}}{FA_{JM}} * 100 \quad (2.4)$$

Donde:

RA_{azúcar crudo}: Porcentaje de retención de almidón en azúcar crudo (%).

FA_{azúcar crudo}: Flujo de almidón en azúcar crudo (kg/h).

FA_{JM}: Flujo de almidón en el jugo mezclado (kg/h).

Para determinar el flujo de almidón en azúcar crudo se emplea la ecuación 2.5:

$$FA_{\text{azúcar crudo}} = C_{A_i} * F_i \quad (2.5)$$

Donde:

C_{A_i}: Concentración de almidón en la corriente de azúcar crudo (mg/kg).

F_i: Flujo de azúcar crudo (kg/h).

Como la concentración de almidón en jugo se expresa en mg/L, para obtener el flujo de almidón en la corriente de jugo mezclado se utiliza la ecuación 2.6.

$$FA_{JM} = q_{JM} * C_{AJM} \quad (2.6)$$

Donde:

q_i : Flujo volumétrico de la corriente de jugo mezclado (m^3/h).

El flujo volumétrico de la corriente de jugo mezclado se calcula por la ecuación 2.7.

$$q_{JM} = \frac{F_{jm}}{\rho_i} \quad (2.7)$$

Donde:

F_{jm} : flujo de jugo mezclado (kg/h)

ρ_i : Densidad de la corriente i (ton/m^3).

La densidad del jugo mezclado se establece en Carrazana (1987), se busca en función de la concentración (en °Brix) de la solución.

Para determinar el flujo de la corriente de jugo mezclado se plantea un balance de masa en la etapa de extracción y molienda, para facilitar el cálculo se muestra en el anexo 10, el esquema de la etapa. El balance general en la etapa se representa en la ecuación 2.8.

$$CM + AI = JM + B \quad (2.8)$$

Dónde:

CM: Flujo de caña molida (kg/h).

JM: Flujo de jugo mezclado (kg/h).

AI: Flujo de agua de imbibición (kg/h).

B: Flujo de bagazo (kg/h).

Para conocer el flujo de jugo mezclado se realiza un balance por componentes, debido a que solamente se conocen los datos de los flujos de caña molida, agua de imbibición y los porcentajes de fibras de cada una de las corrientes. Se consideran despreciables los porcentajes de fibra en jugo mezclado y agua de imbibición, el balance por componente se presenta mediante la ecuación 2.9.

$$CM \cdot F_{CM} + AI \cdot F_{AI} = JM \cdot F_{JM} + B \cdot F_B \quad (2.9)$$

Donde:

F_{CM} : Porcentaje de fibra en caña (%).

F_{AI} : Porcentaje de fibra en agua de imbibición (%).

F_{JM} : Porcentaje de fibra en jugo mezclado (%).

F_B : Porcentaje de fibra en bagazo (%).

El porcentaje de la fibra en bagazo se determina por la ecuación 2.10.

$$H_B + F_B + \text{Brix}_B = 100 \% \quad (2.10)$$

Donde:

H_B : Porcentaje de humedad en bagazo (%).

Brix_B : Brix en bagazo ($^{\circ}\text{Bx}$).

2.4 Determinación de la influencia de la enzima alfa amilasa en el desdoblamiento de los almidones. Repercusión en el proceso

Para estudiar el desdoblamiento de los almidones con la enzima alfa amilasa, se hace un tratamiento preliminar en el azúcar crudo. De esta manera, se determina a qué concentración la acción de la enzima es más eficiente en el desdoblamiento de los almidones y se establece si incide en otros parámetros de calidad, como: color, cenizas y reductores.

2.4.1 Desdoblamiento de los almidones con alfa amilasa. Procedimiento

Para desarrollar el desdoblamiento se toman 6 muestras diferentes de azúcar crudo, a cada muestra se le mide el contenido de almidón, con tres réplicas cada experimento. De cada muestra inicial se prepara un licor de azúcar crudo a 60° Brix. Luego, se toman 5 recipientes con un contenido de 100 mL del licor crudo preparado y se le añade 0.05,

0.10, 0.15, 0.20 y 0.25 g de alfa amilasa por cada 100 mL, a cada uno respectivamente, se mezcla y espera 20 minutos. Después se mide el contenido de almidón, a cada una de las muestras tratadas a diferentes niveles de alfa amilasa, para verificar la acción del desdoblamiento. El experimento se repite para cada una de las seis muestras de azúcar. La técnica utilizada es la que establece en el anexo 7.

2.4.2 Incidencia del desdoblamiento en parámetros de calidad del azúcar crudo

Para estudiar la incidencia del desdoblamiento de los almidones del azúcar crudo en algunos parámetros de calidad, a cada muestra que se realiza almidón a diferentes concentraciones de alfa amilasa se les analiza color, cenizas, y a las muestras que se le añade 0.05 y 0.25 g de alfa amilasa por cada 100 mL, se les realiza el análisis de reductores.

Para realizar los análisis se aplican las técnicas: determinación conductimétrica de ceniza en azúcar crudo y miel final, determinación de azúcares reductores y sacarosa real. Método de Lane y Eynon a volumen constante, determinación espectrofotométrica del color del azúcar crudo en solución; que se referencian en (MACU, 2007).

2.4.3 Localización de los almidones en el azúcar crudo

Para determinar en qué parte del cristal de azúcar crudo se localiza el almidón (en la superficie del cristal o en su núcleo), de cada muestra inicial se pesan 200 g y se somete a un lavado con etanol al 95 % saturado en azúcar, después del lavado al azúcar obtenido se le realiza el análisis de almidón.

2.5 Valoración e incidencia en el proceso del contenido de almidón y desdoblamiento.

Para valorar los efectos que provoca el almidón en todo el proceso de producción de azúcar crudo y la incidencia de su desdoblamiento con la enzima alfa amilasa en algunos parámetros de calidad. Se procede a incluir los resultados obtenidos a un tratamiento estadístico, dichos análisis facilitan encontrar los problemas que provoca el almidón, así como a que se debe su variabilidad y comportamiento en proceso. Por lo que es necesario realizar la caracterización estadística de los resultados y establecer análisis de varianza para explicar el caso de estudio. También, mediante las técnicas estadísticas se pueden validar las curvas de referencias para determinar almidón y dextrana, de esta forma se comprueba la confiabilidad de los resultados a partir del modelo de las curvas. Para aplicar las técnicas estadísticas se utiliza como herramienta, el *software Statgraphic Plus Version 5*.

2.5.1 Teoría del muestreo

El desarrollo de la investigación, implica la etapa donde hay que tomar una decisión respecto al tamaño de la muestra. Para ello, es necesario primeramente seleccionar los puntos de muestreo donde se lleva a cabo el estudio, que se establece en el subepígrafe 2.2.1 y posteriormente, el tamaño de la muestra a realizar en cada punto a partir de la teoría del muestreo.

2.5.1.1 Selección de las muestras para el control del almidón en el proceso. Intervalo de confianza

El método que se utiliza para determinar el tamaño de la muestra de forma aleatoria es el criterio que establece Kelmansky (2009), similar al de (Cochran, 1977), a partir de la ecuación 2.11 que propone calcular el tamaño de la muestra por el intervalo de confianza.

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{2S}{\sqrt{n}} \quad (2.11)$$

Donde:

μ : Media poblacional.

\bar{x} : Media muestral.

S: Desviación estándar.

n: Tamaño de la muestra.

La ecuación 2.11 representa el criterio de selección, mientras se calcula el largo total del intervalo a través de la ecuación 2.12.

$$L = 2d = 4 \frac{S}{\sqrt{n}} \quad (2.12)$$

Donde:

L: Largo total del intervalo.

d: Error permisible.

El tamaño de muestra se establece mediante la ecuación 2.13.

$$n = \frac{2S}{d^2} \quad (2.13)$$

El criterio que se plantea permite justificar estadísticamente que se realice el muestreo, con un tamaño de muestra entre 5 y 6 en dependencia del análisis a controlar, en cuanto al contenido o al desdoblamiento del almidón. Dicho tamaño de muestra no afecta los

valores que se esperan obtener debido a que se establece una discrepancia de ± 600 mg/kg de almidón, para un valor aproximadamente de 1 200 mg/kg como longitud total del intervalo, la cual se justifica por estudios sobre el almidón que realizan investigadores como Zhou, *et al.* (2008), Zossi, *et al.* (2010), Alencar, *et al.* (2011), Rodríguez, *et al.* (2014) y Castro (2015).

De esta manera mediante la teoría del muestreo se garantiza que la toma de muestra que se establece sea representativa de la población con un nivel de confianza de 95 %.

2.5.2 Caracterización estadística de la toma de muestras en el caso estudio

La caracterización estadística se emplea para analizar los datos recogidos de los experimentos, que intervienen en el control del contenido de almidón en todos los puntos de muestreo establecidos en el proceso, expuestos en el subepígrafe 2.2.1, durante 5 días y, además, analizar los parámetros de calidad del azúcar crudo una vez ocurra el desdoblamiento del almidón presente, como contenido de almidón, cenizas, color y azúcares reductores. Dentro de los parámetros de interés están: los de medidas de tendencia central, medidas de dispersión y medidas de simetría, entre cada uno de ellos hay una gran variedad de parámetros, solamente se estudian los más significativos para la investigación.

Los parámetros de medidas de tendencia central caracterizan el centro de la distribución de los datos experimentales, entre ellos la media. Según Guerra y Sevilla (1986), la media se acerca al valor verdadero único de lo que se mide, teniendo en cuenta que en la medición siempre hay errores.

Los parámetros de medidas de dispersión reflejan cuan alejados están los valores experimentales del valor central, entre ellos está: el coeficiente de variación.

El coeficiente de variación indica el grado de dispersión de la muestra (Guerra, *et al.*, 2004). Un coeficiente de variación menor que 4 % es excelente y la media es representativa, de 4 a 8 % es buena por lo que es representativa, de 8 a 12 % es aceptable, se puede decir que representa y mayor que 12 % puede ser una dispersión normal, pero los datos no están alrededor de la muestra.

2.5.3 Ajuste de las curvas de referencias de almidón en jugo y azúcar crudo. Análisis de regresión lineal

A través de las técnicas experimentales para determinar el contenido de almidón en jugo y azúcar crudo se obtienen los datos experimentales y se construyen las curvas de referencia. A partir de ellas es que se busca la concentración de almidón en la muestra, la construcción de las curvas se especifica en el subepígrafe 2.2.4.

Para utilizar estas curvas es necesario aplicar algún método que garantice que el modelo o ecuación que describen las curvas es válido, o sea, si la respuesta que se obtiene es confiable para utilizar en la investigación (Sargent, 2009).

En consideración a lo anterior, se establece que es necesario determinar la relación funcional entre las variables conocidas como ecuación de regresión y el grado de correlación que existe entre estas variables. De esta forma, se verifica la validez del modelo obtenido y hasta qué punto este modelo representa fielmente el fenómeno que se estudia. Con el método de regresión lineal se determina el modelo que mejor se ajusta a los datos, a partir de una relación funcional de forma lineal.

Cuando se determina la relación entre variables es necesario conocer también el grado de correlación entre ellas. El coeficiente de correlación expresa el grado de alineación entre las variables x , y ; este puede tomar valores desde -1 hasta +1; donde los valores extremos señalan que existe dependencia lineal perfecta entre las variables, en tanto el valor cero señala que no hay dependencia lineal alguna.

La calidad de la regresión se determina mediante un análisis de varianza, prueba ANOVA, a través de la tabla el valor de la probabilidad que se denota como *P-value*, indica la probabilidad de que la relación entre las variables sea significativa, este debe ser menor de un nivel de significación igual a 0,05.

Otra manera de medir la calidad de ajuste del modelo se determina mediante el error relativo de predicción del modelo. El error se estima por la diferencia entre los resultados obtenidos por el modelo con respecto a los datos de referencia que se utilizan para su determinación, esto permite definir la calidad de predicción del modelo. Según Sargent (2009), el cálculo del error relativo permite validar el modelo si este es menor que 10 % y se determina por la ecuación 2.15.

$$\epsilon_{\text{rel}} = \frac{x_{\text{referencia}} - x_{\text{calculado}}}{x_{\text{referencia}}} * 100 \quad (2.15)$$

Dónde:

ϵ_{rel} : Error relativo.

$x_{\text{referencia}}$: Valor de concentración de almidón de referencia (mg/L o mg/kg).

$x_{\text{calculado}}$: Valor de concentración de almidón calculado por el modelo (mg/L o mg/kg).

El procedimiento anterior, también se establece para ajustar las curvas de determinación de dextrana en jugo o azúcar crudo.

2.5.4 Procedimiento para determinar diferencias entre los niveles de alfa amilasa y los parámetros de calidad. Análisis de varianza

Entre las tareas de la investigación se encuentra, determinar si cada nivel de concentración de la enzima alfa amilasa difiere con respecto al desdoblamiento del almidón u otros parámetros de calidad a controlar como el color, la ceniza y los reductores; el procedimiento para realizar los análisis experimentales mencionados se detalla en el epígrafe 2.4.4. Esto permite determinar si la aplicación de la enzima incide en los parámetros de calidad.

Para ello se propone un análisis de varianza, este permite saber si existen diferencias significativas entre las concentraciones de alfa amilasa adicionadas en el experimento para analizar su influencia en cada una de las variables que se miden.

La información del análisis de varianza se brinda en la tabla ANOVA, el objetivo del análisis es comparar una población con otra (Guerra y Sevilla, 1986). La varianza existe entre cada grupo individual y también existe la varianza entre los grupos, la relación entre ambas varianzas debe ser aproximadamente igual a uno para que las varianzas se acerquen a una misma población (Guerra, *et al.*, 2004). Esta relación es conocida como F de Fisher, generalmente el valor de dicha relación se compara con un valor de F tabulado (Guerra y Sevilla, 1986); la F de Fisher está relacionado con el *P-value* que indica la probabilidad de si existen o no diferencias entre las poblaciones. Si el valor del *P-value* es menor que el nivel de significación 0,05 % existen diferencias significativas entre las poblaciones con un nivel de confianza del 95 %.

Además, para ampliar la justificación de los resultados que se obtiene en el análisis de varianza, se realiza la prueba de múltiples rangos, que identifica cuáles son los grupos homogéneos y cuáles son los que presentan diferencias significativas.

Para poder aplicar el procedimiento anterior es necesario realizar la prueba de normalidad, para verificar que los datos experimentales tengan una distribución normal, para ello se requiere del análisis de tres pruebas a desarrollar, de las cuales dos como mínimo deben realizarse para justificar el resultado. En la demostración de la distribución normal se establecen las siguientes pruebas a realizar:

- Analizar los valores de los coeficientes de *skewness* y *kurtosis*, los cuales deben estar dentro de un intervalo de -2 a 2, para considerar dicho caso con una distribución normal a partir de la caracterización estadística de los datos.
- Comparar entre el valor de la probabilidad y el error permisible. La condición necesaria para plantear la existencia de la distribución normal es que el valor de la probabilidad de los coeficientes de *skewness* y *kurtosis*, debe ser mayor que el nivel de significación si se trabaja con 5 %, pero en caso de no cumplirse se compara con un nivel de significación de 1 %.
- Realizar la construcción del histograma de frecuencia, para que exista una distribución normal, la curva que pasa por los puntos medios de cada intervalo del polígono de frecuencia tienen que representar una curva gaussiana, de forma tal, que la distribución sea simétrica.

2.6 Valoración económica

El contenido de almidón en el proceso se encuentra dentro de los parámetros de calidad a medir para tener un producto final con elevado rendimiento y pureza. Para obtener los requisitos de calidad que debe cumplir el azúcar crudo con respecto al contenido de almidón, se consultan las normas de calidad de este producto. Con esta información se realiza la valoración económica del efecto del almidón con respecto al incumplimiento de las normas que establecen los requisitos de la calidad del azúcar crudo.

2.6.1 Normas de calidad del azúcar

Para conocer los valores del contenido de almidón, con los que debe cumplir un azúcar crudo de elevada calidad y apta para introducirse en el mercado, tanto nacional como internacional, se consultan las normas cubanas de calidad del azúcar crudo. Entre las normas que se consultan se encuentran la norma NC:85 (2012), la cual se muestra en la tabla 2.1 del epígrafe 2.2.

Sin embargo, se consulta la Instrucción:07 (2014) que establece como parametro para la comercialización internacional del azúcar crudo; que el contenido de polisacáridos se encuentre entre 400 y 600 mg/kg por tonelada métrica de azúcar crudo producido, y indica que el incumplimiento de este parámetro resulta una sanción económica o no comprar más azúcar en el país. De acuerdo con este planteamiento se decide aplicar a los productores nacionales penalizaciones y bonificaciones según el cumplimiento de estos indicadores de calidad.

Por lo anterior se aplicará a todos los centrales azucareros, cuya producción se destine a la exportación, una penalización en los casos que estos obtengan polisacáridos superiores

a 600 mg/kg por tonelada métrica de azúcar crudo; así como bonificar a los que logren menos de 400 mg/kg por tonelada métrica en dicho producto, según las bases de cálculo que se establecen en la Instrucción:07 (2014):

- ✓ Se penalizará con un valor de 0,01 CUP por mg/kg por tonelada métrica, cuando los polisacáridos excedan los 600 mg/kg por tonelada métrica, lo que se deduce el precio a facturar por el azúcar crudo vendido con destino a la exportación, a granel o en sacos.
- ✓ Como resultado de cumplir con los parámetros se bonifica con un valor de 0,07 CUP por mg/kg por tonelada métrica, cuando los polisacáridos estén por debajo de 400 mg/kg por tonelada métrica, lo que se incrementa al precio a facturar por la venta de azúcar crudo con destino a la exportación, a granel o en sacos.

2.7 Conclusiones parciales del capítulo

1. Se plantea un análisis de varianza para estudiar el desdoblamiento del almidón presente en el azúcar crudo mediante diferentes concentraciones de la enzima alfa amilasa, así como el estudio de la repercusión en el proceso mediante la medición de los parámetros de calidad: almidón, color, cenizas y reductores.

CAPÍTULO 3 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

En el presente capítulo se describe el comportamiento del almidón en el proceso de producción azúcar crudo y su posterior desdoblamiento con la enzima alfa amilasa. Se obtienen por regresión lineal los modelos de las curvas de referencia, y posterior validación; así como el registro del contenido de almidón y la influencia de las etapas del proceso en el mismo. Además, se analiza la influencia de la enzima alfa amilasa en el desdoblamiento de los almidones y como incide en el color, cenizas y azúcares reductores del producto obtenido.

3.1 Curvas de referencias para obtener almidón y dextrana en el proceso. Validación

Para determinar el contenido de almidón se obtienen las curvas de referencia de almidón en jugo y azúcar crudo, a partir de las técnicas C28 y C29 (Anexo 6 y 7). Las curvas de referencias de dextrana en jugo y azúcar crudo se obtienen a partir de las técnicas C32 y C33 (Anexos 8 y 9); donde se sigue el procedimiento del subepígrafe 2.2.4. El proceder para la validación se encuentra en epígrafe 2.5.3.

3.1.1 Obtención y ajuste de la curva de referencia de almidón en jugo

Para construir la curva se mide la absorbancia a diferentes concentraciones de almidón de referencia, resultados que se muestran en el anexo 11. Luego, se aplica el análisis de regresión simple para obtener el modelo de ajuste; en el anexo 11 se muestra la curva de referencia de almidón en jugo. En el análisis de regresión simple se obtiene la ecuación 3.1, que describe la curva de referencia de almidón en jugo.

$$y = -0,0210554 + 3,68706x \quad (3.1)$$

Donde:

y: Concentración de almidón en jugo (mg/L).

x: Absorbancia (nm).

Para validar el modelo que describe la curva de referencia de almidón en jugo se realiza un análisis de varianza, resultados que se muestran en la tabla 3.1.

Tabla 3.1. Análisis de varianza del modelo referencia de almidón para jugo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>	<i>Coefficiente de correlación</i>
Modelo	9,4670	1	9,4670	5708,15	0,00	0,99
Residual	0,0049	3	0,0016			

Se observa en la tabla 3.1 que la probabilidad es menor que el nivel de significación 0,01, lo cual indica que existe una relación estadística significativa entre la concentración de almidón y absorbancia, con un nivel de confianza de 99 %; el coeficiente de correlación corrobora lo planteado.

También, se determina el error relativo de predicción del modelo, lo que permite definir con qué precisión puede utilizarse el modelo para predecir y estudiar el comportamiento del almidón; en la tabla 3.2 se muestran los resultados de ajuste del modelo.

Tabla 3.2. Análisis comparativo entre parámetros de referencia y parámetros obtenidos por el modelo

<i>Parámetros</i>	<i>Referencia</i>	<i>Modelo</i>	<i>Error relativo [%]</i>
Concentración de almidón [mg/L]	1,60	1,61	0,90

En la tabla 3.2 se aprecia que el error relativo para determinar la concentración de almidón es inferior al 1 %, con respecto al valor de referencia, lo que corrobora el ajuste

del modelo; máximo error posible 10 % (Sargent, 2009). Mediante los resultados que se consiguen en el ajuste de la curva de referencia de almidón en jugo, se determina que el modelo es idóneo y presentan calidad los resultados a partir de su implementación.

3.1.2 Obtención y ajuste de la curva de referencia de almidón en azúcar crudo

Los resultados para la construcción de la curva de referencia y la curva como tal aparecen en el anexo 12, donde se aplica el análisis de regresión simple para obtener el modelo de ajuste a la curva. El modelo de ajuste a la curva de referencia de almidón en azúcar crudo se muestra en la ecuación 3.2.

$$y=6,91873+1181,41x \quad (3.2)$$

Donde:

y: Concentración de almidón en azúcar crudo (mg/kg).

x: Absorbancia (nm).

Se realiza la validación del modelo que describe la curva de referencia de almidón en azúcar crudo mediante un análisis de varianza (Tabla 3.3).

Tabla 3.3. Análisis de varianza del modelo referencia de almidón para azúcar crudo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>	<i>Coefficiente de correlación</i>
Modelo	209185	1	209185	10391,95	0,00	0,99
Residual	100,64	5	20,12			

Se observa en la tabla 3.3 que la probabilidad es menor que el nivel de significación 0,01, lo cual indica que existe una relación estadística significativa entre la concentración de almidón y la absorbancia, con un nivel de confianza de 99 %. Otro parámetro que indica una relación adecuada es el coeficiente de correlación con un valor cercano a 1.

Se determina el error relativo para definir la precisión del modelo, con el objetivo de predecir y estudiar el comportamiento del almidón; en la tabla 3.4 se muestran los resultados de ajuste del modelo.

Tabla 3.4. Análisis comparativo entre parámetros de referencia y parámetros obtenidos por el modelo

<i>Parámetro</i>	<i>Referencia</i>	<i>Modelo</i>	<i>Error relativo [%]</i>
Concentración de almidón [mg/kg]	100	99,06	0,9

En la tabla 3.4 se aprecia un error de predicción del modelo por debajo de 1 % para determinar la concentración de almidón, con respecto al valor de referencia, lo que confirma un ajuste correcto; el máximo error posible es 10 % (Sargent, 2009).

Los resultados que se obtienen en el ajuste de la curva de referencia de almidón en azúcar crudo, determinan que el modelo describe adecuadamente la curva y presenta calidad los resultados a partir de su implementación.

3.1.3 Obtención y ajuste de la curva de referencia de dextrana en jugo

Los resultados para la construcción de la curva de referencia de dextrana en jugo se muestran en el anexo 17 y se aplica un análisis de regresión simple para obtener el modelo de ajuste a la curva (Anexo 13). El modelo que describe la curva de referencia de dextrana en jugo se muestra en la ecuación 3.3.

$$y=21,497+410,352x \tag{3.3}$$

Donde:

y: Concentración de dextrana en jugo (mg/L).

x: Absorbancia (nm).

Para validar el modelo que describe la curva de referencia de dextrana en jugo, se realiza un análisis de varianza; los resultados se exponen en la tabla 3.5.

Tabla 3.5. Análisis de varianza del modelo de referencia de dextrana para jugo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>CuadradoMedio</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>	<i>Coficiente de correlación</i>
Modelo	174859	1	174859	1379,40	0,00	0,99
Residual	1140,88	9	126,76			

En la tabla 3.5 el valor de la probabilidad es menor que el nivel de significación 0,01, lo que indica que existe una relación significativa entre la concentración de almidón y absorbancia con un nivel de confianza de 99 %, y el coeficiente de correlación tiene un valor cercano a 1. Estos resultados permiten establecer que el modelo es válido para describir la curva de referencia de dextrana en jugo, de igual forma que presentan calidad los resultados a partir de su implementación.

3.1.4 Obtención y ajuste de la curva de referencia de dextrana en azúcar crudo

Los resultados para construir la curva de referencia de dextrana en azúcar crudo se muestran en el anexo 14; se aplica un análisis de regresión simple para obtener el modelo de ajuste a la curva (Anexo 14). El modelo que describe la curva de referencia de dextrana en jugo aparece en la ecuación 3.4.

$$y=109,359 +4427,38x \tag{3.4}$$

Dónde:

y: Concentración de dextrana en azúcar crudo (mg/kg).

x: Absorbancia (nm).

Para validar el modelo que describe la curva de referencia de dextrana en azúcar crudo, se realiza un análisis de varianza, los resultados se presentan en la tabla 3.6.

Tabla 3.6. Análisis de varianza del modelo referencia de dextrana para azúcar crudo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>CuadradoMedio</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>	<i>Coefficiente de correlación</i>
Modelo	423512	1	423512	234,47	0,00	0,98
Residual	10837,5	6	1806,26			

En la tabla 3.6, el valor de la probabilidad es menor que el nivel de significación 0,01, lo cual indica que existe una relación significativa entre la: concentración de almidón y absorbancia con un nivel de confianza de 99%, el coeficiente de correlación corrobora lo planteado. Estos resultados permiten establecer que el modelo que se obtiene es válido para describir la curva de referencia de dextrana en azúcar crudo, de igual forma que presentan calidad los resultados a partir de su implementación.

3.2 Comportamiento del almidón en el proceso de producción de azúcar crudo

La evaluación del comportamiento del almidón se realiza mediante un registro de 5 días continuos en los puntos que se establecen (Figura 2.2 del epígrafe 2.2); a partir de las técnicas analíticas correspondientes a jugo y azúcar crudo. Se determina la absorbancia en las muestras y se busca el contenido de almidón mediante las curvas de referencia (epígrafe 3.1); los valores de absorbancia se presentan en el anexo 15, según lo expuesto en el epígrafe 2.2.4. Se aplican técnicas estadísticas para facilitar el estudio y la comprensión de los resultados, a partir de la metodología del epígrafe 2.5.

Para evitar perturbaciones en el estudio del almidón, se realiza el análisis del contenido de dextrana a las muestras que se determina almidón. En el anexo 16 se puede observar que no se reporta dextrana en ningún punto muestreado, resultado lógico, si se tiene en cuenta que el sistema de corte y tiro de la caña de este central es muy dinámico y no

facilita la formación de dextrana. Además el lugar del proceso donde existe mayor probabilidad de formación es en los molinos, pero existe una adecuada asepsia en los mismos que impide la formación de este producto indeseable.

3.2.1 Registro del contenido de almidón en el proceso

El registro se confecciona a través de la medición del contenido de almidón en varias corrientes del proceso durante 5 días con tres réplicas. En el anexo 17 se muestran los valores medios de concentración de almidón en cada corriente, y se observa que la variabilidad de entrada del contenido de almidón en el jugo primario es de 200 a 700 mg/L, estos valores se corresponden a los reportados por Alencar, *et al.* (2011) y por Castro (2015), que encuentran concentraciones de almidón en caña de azúcar de 245 hasta 1 021 mg/L. Además, se muestra que es mayor el contenido de almidón en el jugo diluido con respecto al del jugo primario. Un aspecto evidente es la elevada concentración de almidón en el jugo filtrado, corriente que se recircula al proceso y la caída de la concentración de almidón en la corriente de jugo clarificado, similar en el estudio de Boyes (1960), donde establece concentraciones de almidón en jugo clarificado que varían en un rango de 130 a 310 mg/L, con respecto a concentraciones en el jugo mezclado de 360 a 595 mg/L. Si se analiza el azúcar crudo los resultados obtenidos están alrededor de los que determinan Boyes (1960) y Rodríguez, *et al.* (2014), que obtienen concentraciones de almidón entre 320 y 575 mg/kg. Es necesario aclarar que el almidón en el azúcar crudo, para el tercer día no es significativo, debido a que este día se produjo un azúcar crudo de baja calidad, ocasionado por afectaciones en el proceso de cristalización (problemas en la generación de vapor).

3.2.1.1 Caracterización estadística de la concentración de almidón en las corrientes del proceso

En la determinación del comportamiento de almidón en el proceso se someten los resultados expuestos en el anexo 17 a una caracterización estadística, con el objetivo de comprobar la veracidad de los mismos.

El análisis se muestra en el anexo 18, los valores de los coeficientes de *skewness* y *kurtosis* reflejan que las concentraciones de almidón en cada corriente tienen una distribución normal. Por lo tanto, se comprueba la veracidad de los resultados para ser utilizados en otros análisis correspondientes.

3.2.2 Proyección del contenido de almidón en el proceso

Una herramienta que permite visualizar el comportamiento del almidón en el proceso de producción de azúcar crudo, se establece con la proyección del mismo en el diagrama de flujo del proceso (Anexo 19); a partir de los valores medios de concentración de almidón que se obtienen en cada corriente durante los 5 días en estudio.

Se comprueba que el almidón viene junto a la caña de azúcar, se extrae con el jugo en la molienda y entra a la etapa de purificación en el jugo mezclado. En la etapa de purificación una parte del almidón se elimina en la sedimentación y la otra sigue en el proceso, pasa a la etapa de evaporación y luego, por la de cristalización. En la cristalización, parte de esta impureza se separa en la miel C, pero queda aún una porción de almidón en el producto final, este análisis demuestra lo planteado por Zhou, *et al.* (2008).

3.2.3 Comportamiento del contenido de almidón en las etapas del proceso

Con el objetivo de fundamentar y realizar un análisis de mayor profundidad sobre el comportamiento del almidón en el proceso, se establece su estudio en las etapas de extracción, purificación, evaporación y cristalización; según el subepígrafe 2.2.1.

3.2.3.1 Comportamiento del almidón en la etapa de extracción y molienda

En el estudio del comportamiento del almidón en la etapa de extracción y molienda se tienen en cuenta la concentración de almidón presente en las corrientes de jugo primario, jugo diluido y jugo mezclado; en la tabla 3.7 se muestra la caracterización estadística de dichos resultados para realizar el análisis.

Tabla 3.7. Resumen del contenido de almidón en la etapa de extracción y molienda

<i>Parámetros</i>	<i>Almidón en Jugo Primario</i>	<i>Almidón en Jugo Diluido</i>	<i>Almidón en Jugo Mezclado</i>
Media	465,34	824,86	575,52
Desviación estándar	208,44	210,87	295,05
Coefficiente de variación[%]	44,79	25,56	51,266

Se observa en la tabla 3.7 que el coeficiente de variación de la concentración de almidón en las tres corrientes de la etapa en estudio es mayor que 12 %, lo cual indica que los datos no están alrededor de la muestra y la media no es representativa de la población, según establece Guerra, *et al.* (2004). La dispersión de los datos se debe a que el contenido de almidón depende de las características y variedad de la caña que se procesa, según Godshall, *et al.* (1990), Zossi, *et al.* (2008b) y Castro (2015), lo cual explica la variabilidad en los resultados.

Otros autores como Larrahondo (1995) y Castro (2015), establecen que la madurez de la caña influye en el contenido de almidón, donde es mayor en la caña de elevada inmadurez, factor que puede incidir en los resultados. Además, Penados (2004) y Godshall (2004) plantean que el uso de la cosecha mecanizada aumenta la cantidad de materia extraña formada por hojas y cogollos, fuente principal de entrada de almidón al proceso.

El almidón en el jugo primario se debe al propio proceso de molienda, donde se extrae dicha impureza junto con el jugo; esto coincide con el criterio de Zhou, *et al.* (2008). En dicho contenido influye el empleo del corte mecanizado, porque aumenta el contenido de hojas y cogollos, principal entrada de almidón. Según Penados (2004) y Castro (2015); estas impurezas se procesan en la molienda junto con la caña de azúcar.

Si se analiza el contenido de almidón en jugo diluido, es mayor que en el jugo primario, esto se debe al proceso de imbibición. Existe un límite de extracción en dependencia de la fibra en caña, por ello se añade agua de imbibición, lo que garantiza extraer de la fibra la porción de sacarosa y junto con ella, salen otros componentes de la caña como el almidón (Jenkins (1971)). De acuerdo con este criterio, Zhou, *et al.* (2008) explican que debido a la temperatura del agua de imbibición los gránulos de almidón se vuelven parcialmente solubles y salen del tejido de la caña, lo que indica que a estas condiciones se facilita la incorporación de este en el jugo. Si se observa el contenido de almidón en jugo mezclado, se encuentra entre la concentración de almidón en el jugo primario y jugo diluido. El contenido de almidón en esta corriente, se encuentra en un valor intermedio porque el jugo mezclado es producto de la unión del jugo primario con el jugo diluido.

3.2.3.2 Comportamiento del almidón en la etapa de purificación

En el estudio del comportamiento del almidón en la etapa de purificación, se tienen en cuenta la concentración de almidón presente en las corrientes de jugo mezclado, jugo filtrado y jugo clarificado, en la tabla 3.8 se muestra la caracterización estadística de estos resultados para realizar el análisis.

Tabla 3.8. Resumen del contenido de almidón en la etapa de purificación

Parámetros	Almidón en Jugo Mezclado	Almidón en Jugo Filtrado	Almidón en Jugo Clarificado
Media	575,521	1707,13	179,138
Desviación estándar	295,05	529,178	113,486
Coefficiente de variación [%]	51,26	30,99	63,35

En la tabla 3.8 se observa que el coeficiente de variación con respecto a la concentración de almidón en las tres corrientes es superior a 12 %, lo cual demuestra que la media no es representativa de la población, según Guerra, *et al.* (2004).

Estos resultados se deben a la cantidad de almidón que se incorpora al proceso, debido a su fluctuación con respecto a la variedad, grado de madurez y cantidad de materia extraña que proviene con la caña de azúcar. En consideración a esto, se establece que las condiciones de la materia prima inciden en el contenido de almidón presente en las corrientes, por lo que la selección de la caña con elevada madurez y menor contenido de impurezas garantiza la disminución del contenido de almidón en el proceso.

La concentración de almidón en el jugo clarificado, disminuye con respecto al jugo mezclado. A partir de esto, se verifica que en la etapa de clarificación se remueve parte del almidón que entra al proceso y la mayor parte de este queda en los lodos. Según Castro (2015), el almidón soluble se elimina parcialmente en la clarificación, por lo que

se mantiene una parte en el proceso, solamente el almidón insoluble se elimina en esta etapa. En la clarificación se elimina gran parte del almidón, debido al efecto de la sedimentación de las partículas de alto peso molecular, proceso que se produce con la adición de la sustancia floculante, la cual aumenta el peso molecular de las partículas y como consecuencia precipitan al fondo de los clarificadores, según Mendez (2014). Svarovsky (2011) señala que esto se debe a la acción de las fuerzas brownianas que imparten el movimiento oscilatorio a los coloides dispersos en un medio líquido, ocasionado por colisiones de partículas y moléculas del medio en suspensión para lograr la aglomeración de ellas. A partir de esto, en la etapa de clarificación precipita mayor cantidad de almidón insoluble que de almidón soluble, pues el primero es una partícula de mayor peso molecular, la cual tiende a unirse a los conglomerados de forma más fácil que el almidón soluble.

También, en la tabla 3.8, se observa que el contenido de almidón en la corriente de jugo filtrado es elevado con respecto a las demás corrientes. De acuerdo con esto, el almidón en esta etapa se vuelve parcialmente soluble, según Peña (2009) los gránulos por efecto de la temperatura a partir de los 70 °C se gelifican, como medio filtrante se utiliza bagacillo y por el efecto del agua de lavado ocurre la extracción de almidón presente en la fibra, lo que incrementa el contenido del mismo. En el alto contenido de almidón en esta corriente, también incide el efecto de la clarificación producto de la cantidad que se remueve en la etapa y queda en los lodos; por lo tanto, el almidón pasa al jugo filtrado después de que ocurre el proceso de filtración de los lodos.

Se debe aclarar que esta cantidad de almidón que pasa al jugo filtrado representa un factor negativo en el proceso, pues esta corriente se recircula al tanque de alcalización

con el objetivo de recuperar la sacarosa remanente, la cual se encuentra en el precipitado formado en la clarificación, según Hugot (1986) y, por ende, gran parte del almidón removido en la etapa de clarificación se incorpora nuevamente al proceso.

3.2.3.3 Comportamiento del almidón en las etapas de evaporación y cristalización

Se plantea el estudio del comportamiento del almidón en la etapa de evaporación y cristalización, para ello se tienen en cuenta la concentración de almidón presente en las corrientes de meladura, miel A, miel B, miel C y azúcar crudo; en la tabla 3.9 se muestra la caracterización estadística.

Tabla 3.9. Resumen estadístico del contenido de almidón en la etapa de evaporación-cristalización

<i>Parámetros</i>	<i>Meladura</i>	<i>Miel A</i>	<i>Miel B</i>	<i>Miel C</i>	<i>Azúcar crudo</i>
Media	172	239	312	364	331
Desviación estándar	43,43	50,45	109,18	96,69	199,87
Coefficiente de variación [%]	25,23	21,05	34,95	26,50	60,29

En la tabla 3.9 se observa que el valor del coeficiente de variación en cada corriente es mayor a 12 %, por lo que la media no es representativa de la población; esto se debe a la propia variabilidad del almidón en las etapas anteriores, pues el almidón no se genera en el proceso, solo existe el que entra con la caña. Los resultados indican que el contenido de almidón depende de la calidad de la materia con que se alimenta los tachos, equipo tecnológico donde ocurre la cristalización.

En la evaporación ocurre el efecto de la gelatinización del almidón, donde se dispersa completamente en el jugo; en este proceso influye el calentamiento y el porcentaje de humedad. Para un limitado porcentaje de humedad el hinchamiento inicia primero en los

gránulos de menor tamaño, donde se reduce la disponibilidad de agua para los gránulos de mayor tamaño, y se retiene la gelatinización según Pineda, *et al.* (2010). Si se tiene en cuenta este planteamiento, como la etapa de evaporación consiste en lograr la concentración de los sólidos disueltos en el jugo mediante la eliminación del agua; desde este punto de vista, esta operación retarda la gelatinización del almidón. Sin embargo, Canónico (2003) establece que cuando la cantidad de agua es limitada, pero se mantiene el efecto de la temperatura, los gránulos de almidón se disuelven progresivamente, por lo cual se comprueba que al pasar el jugo por el múltiple efecto se trabajan con condiciones de operación que provocan que el almidón gelatinice completamente, criterio que se comparte con Penados (2004).

El contenido de almidón en las mieles, principalmente en la miel C, indica que una elevada cantidad de almidón se elimina en esta corriente, que constituye un residuo de la industria azucarera, con respecto a la miel A y miel B. La concentración de almidón en estas últimas mieles indica afectaciones en la calidad del producto final, porque a partir de estas mieles se elabora el azúcar que da origen a la comercial y, si se analiza la corriente de azúcar crudo se puede ver que el almidón se incorpora en el producto final, lo cual disminuye la pureza del mismo. En la investigación de Penados (2004), también se demuestra que el almidón tiene tendencia a ocluirse en el cristal de azúcar crudo.

3.3 Influencia de las etapas del proceso en el contenido de almidón

La influencia de las etapas del proceso en el contenido de almidón se determina mediante el porcentaje de almidón que se remueve en la clarificación, además se verifica la parte que continua en el proceso y se retiene en el producto final.

3.3.1 Determinación del porcentaje de remoción de almidón en la etapa de clarificación.

Para determinar el almidón que se remueve en la etapa de clarificación se aplica la metodología del subepígrafe 2.3.2, el análisis se realiza con valores de concentración de almidón en el jugo mezclado y clarificado que se muestran en el anexo 23, el porcentaje de remoción se presenta en la tabla 3.10.

Tabla 3.10. Porcentaje de la remoción del almidón en la etapa de clarificación

<i>Parámetros</i>	<i>Días</i>					
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>Media</i>
Remoción de almidón [%]	68	65	66	82	71	70

Como se muestra en la tabla 3.10, la remoción del almidón varía entre un 65 y 82 %, lo que indica que la sedimentación es la etapa que más almidón remueve, de acuerdo con investigadores como Castro (2015) que plantea que cerca del 80 % del almidón se elimina en la clarificación. Estos resultados muestran el planteamiento de Rein (2007) cuando señala que después de la etapa de molienda el almidón pasa a los jugos y una parte de este se elimina en la clarificación.

3.3.2 Determinación del porcentaje de retención de almidón en azúcar crudo

El almidón que se retiene en el cristal se determina a partir de los valores de concentración de almidón en el jugo mezclado y en el azúcar crudo que se encuentran en el anexo 24, el porcentaje de retención se presenta en la tabla 3.11.

Tabla 3.11. Porcentaje de retención de almidón en el azúcar crudo

<i>Parámetros</i>	<i>Mediciones</i>				
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>Media</i>
Retención de almidón [%]	9,69	6,23	6,52	10,81	7,17

En la tabla 3.11 se aprecia que la retención de almidón en azúcar crudo varía entre 6 % y 11 %, el que presenta una media de 7,17 %; esto indica el contenido de almidón retenido en el cristal de azúcar crudo con respecto al contenido que entra en el proceso junto a la corriente de jugo mezclado. Los resultados que se alcanzan son aceptables, en comparación con la investigación de Penados (2004), el cual declara que cerca del 80 % del almidón sobrevive en la clarificación y hasta un 30 % puede quedar en el cristal de azúcar final.

3.3.3 Localización del almidón en el cristal de azúcar crudo

Para demostrar en que parte del cristal de azúcar crudo se localiza el almidón, se establece la técnica experimental en el subepígrafe 2.4.3, se realizan 6 experimentos, donde se determina la concentración de almidón en la muestra de azúcar crudo y al azúcar crudo lavado con alcohol, los resultados se muestran en la tabla 3.12.

Tabla 3.12. Localización del almidón en el azúcar crudo

<i>Parámetros</i>	<i>Mediciones</i>						
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>Media</i>
Almidón en azúcar crudo [mg/kg]	200	230	340	340	380	410	316
Almidón en azúcar crudo lavado con alcohol [mg/kg]	140	180	220	240	240	240	210
Almidón en el núcleo del cristal [%]	70	78,27	64,71	70,59	63,16	58,54	66,46

Como se observa en la tabla 3.12, después del lavado se encuentra la presencia de almidón dentro del cristal. Si se analiza los valores medios, aproximadamente el 66 % del almidón presente en el azúcar crudo se encuentra en el interior del cristal como núcleo.

Rein (2007) menciona que, en el proceso de molienda, gran parte del almidón que es insoluble en la caña se solubiliza por efecto del calor y pasa a los jugos y, una parte se elimina en la clarificación, mientras el resto de alguna manera permanece en el proceso, y entre un 30 % y 40 % de este polisacárido se aloja en el cristal de azúcar crudo durante la cristalización, porcentaje que concuerda con Zossi, *et al.* (2010). Los resultados que se alcanzan en este estudio, establecen que el almidón tiende a ocluirse en el cristal como partículas insolubles y principalmente, como núcleo del mismo.

3.4 Desdoblamiento del almidón con la enzima alfa amilasa. Repercusión en el proceso

Para estudiar el desdoblamiento de los almidones con la enzima alfa amilasa, se realiza un tratamiento preliminar en el azúcar crudo. La repercusión en el proceso se verifica mediante mediciones a escala de laboratorio de diferentes parámetros de calidad mediante el procedimiento explicado en el epígrafe 2.4. Entre los objetivos de la investigación se encuentra, determinar si cada nivel de concentración de la enzima alfa amilasa difiere con respecto al desdoblamiento del almidón u otros parámetros de calidad a controlar como el color, la ceniza y los reductores; para ello se propone un análisis de varianza, la metodología a seguir se establece en subepígrafe 2.5.3.

3.4.1 Comportamiento del desdoblamiento del almidón en azúcar crudo

Para el estudio del desdoblamiento de los almidones con la enzima alfa amilasa (Anexo 20), se toman 6 muestras de licor crudo y se le determina el contenido de almidón para cinco niveles diferentes de la enzima: 0.10, 0.15, 0.20 y 0.25 g por cada 100 mL de licor.

3.4.2 Influencia de la enzima alfa amilasa en el desdoblamiento del almidón

Para analizar la influencia de la enzima alfa amilasa en el desdoblamiento de los almidones se determina el almidón que se desdobra por la acción de la enzima, en los 6 experimentos que se realizan a distintos niveles de la misma; en la tabla 3.13 se presentan los resultados. Mediante este estudio en primer lugar se corrobora el empleo y eficacia del método de hidrólisis enzimática para la degradación del almidón en la industria azucarera.

Tabla 3.13. Porcentaje de remoción de almidón por la acción de la alfa amilasa

<i>Experimentos</i>	<i>Nivel de alfa amilasa [g]</i>					
	<i>0</i>	<i>0,05</i>	<i>0,1</i>	<i>0,15</i>	<i>0,2</i>	<i>0,25</i>
	<i>Remoción de almidón [%]</i>					
1	310	85,80	86,45	86,45	87,09	90,32
2	360	86,11	86,11	87,50	88,88	77,77
3	360	89,72	83,33	86,11	91,66	88,33
4	400	85,00	70,00	90,50	82,50	80,00
5	450	77,77	91,11	93,33	90,00	88,88
6	500	86,00	88,00	89,60	92,00	83,00
Media	396,66	85,06	84,16	88,91	88,69	84,72

Como se muestra en la tabla 3.13 el contenido de almidón se desdobra en 85 % para el primer nivel, para el resto de los niveles se logra desdoblar de 84 a 88 % del contenido

inicial. Para cada réplica experimental se obtiene 85 %, 84 %, 88 %, 88 % y 84 % de desdoblamiento, se puede ver que para todos los niveles de enzima se obtienen resultados similares, aunque para 0.10 y 0.25 g se logran resultados ligeramente inferiores.

Para el análisis de varianza se aplica la prueba de normalidad a los datos que se muestran en la tabla 3.13, los cuales reflejan una distribución normal según los resultados que se muestran en el anexo 21. Se establece el análisis de varianza para verificar la influencia de la enzima en el desdoblamiento del almidón que se remueve para cinco niveles 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 y 0.25 g de alfa amilasa, en la tabla 3.14 se muestra el análisis que se realiza.

Tabla 3.14. Análisis de varianza entre el porcentaje de remoción de almidón y los niveles de alfa amilasa

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Entre grupos	126,726	4	31,6814	1,35	0,2795
En los grupos	586,748	25	23,4699		

La tabla 3.14 muestra que la probabilidad es mayor que el nivel de significación de 0,05, por lo que no existe ninguna relación significativa entre la media del porcentaje de desdoblamiento de almidón con respecto a cada nivel de alfa amilasa con un nivel de confianza de 95 %. Para ampliar la justificación de los resultados que se obtienen, se realiza la prueba de múltiples rangos, que se muestra en la tabla 3.15, para determinar qué nivel pueden ser significativamente diferentes de otros.

Tabla 3.15. Prueba de múltiples rangos entre los niveles de alfa amilasa

<i>Nivel de alfa amilasa</i>	<i>Determinaciones</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0,1	6	84,16	x
0,25	6	84,71	x
0,05	6	85,06	x
0,20	6	88,68	x
0,15	6	88,91	x

En la tabla 3.15, los grupos homogéneos se encuentran alineados, lo que indica que no existen diferencias significativas entre los niveles de la enzima, con un nivel de confianza de 95 %.

Por lo tanto, a partir del análisis, se establece que los niveles de la enzima alfa amilasa no influyen significativamente en el desdoblamiento del almidón, debido a que no presentan diferencias significativas entre los resultados que se obtienen en cada nivel, aunque para un nivel de 0,10 g se logra un 84% de remoción muy similar a si se emplea un nivel de 0,25 g. Producto a todo este análisis es recomendable realizar el desdoblamiento con un nivel de 0,05 g de alfa amilasa porque a este nivel se alcanzan buen rendimiento en el desdoblamiento y un menor consumo de la enzima, que es muy cara en el mercado internacional.

3.4.3 Influencia de la enzima alfa amilasa sobre el contenido de cenizas

Para el estudio de la influencia de la alfa amilasa se determina el contenido de cenizas en el azúcar crudo y a las 6 muestras que se les aplica tratamiento con los niveles de alfa amilasa 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 y 0.25 g por cada 100 mL. Los resultados (Anexo 22), muestran que existe un ligero incremento del contenido de cenizas de 0,17 a 0,18 entre los niveles de la enzima, pero no es significativo.

Para analizar la influencia de la enzima alfa amilasa en la ceniza se determina el incremento de las cenizas durante el desdoblamiento de los almidones, en los 6 experimentos que se realizan a distintos niveles de la enzima; en la tabla 3.16 se muestran los resultados.

Tabla 3.16. Incremento del contenido de cenizas en el desdoblamiento

<i>Experimentos</i>	<i>Nivel de alfa amilasa [g]</i>				
	<i>0,05</i>	<i>0,10</i>	<i>0,15</i>	<i>0,20</i>	<i>0,25</i>
	<i>Incremento del contenido de cenizas [%]</i>				
1	23,52	29,41	35,29	41,17	41,17
2	0	0	6,66	6,66	6,66
3	0	-6,25	0	6,25	6,25
4	6,25	6,25	6,25	12,5	12,5
5	0	0	0	5,55	5,55
6	6,66	13,33	6,66	13,33	13,33
Media	6,07	7,12	9,14	14,24	14,24

En la tabla 3.16 se observa que el incremento de cenizas comprende un intervalo de 6 a 14% entre las réplicas experimentales.

Para el análisis de varianza se aplica la prueba de normalidad a los datos que se muestran en la tabla 3.16, y reflejan una distribución normal según los resultados que se muestran en el anexo 23. Se establece el análisis de varianza para verificar la influencia de la enzima en la ceniza que se incrementa en cinco niveles 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 y 0.25 g de alfa amilasa, en la tabla 3.17 se muestra el análisis que se realiza.

Tabla 3.17. Análisis de varianza entre el incremento de cenizas y los niveles de alfa amilasa

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Entre grupos	361,89	4	90,47	0,57	0,68
En los grupos	3955,07	25	158,20		

La tabla 3.17 muestra que la probabilidad es mayor que el nivel de significación de 0,05, por ende, no existe ninguna relación estadísticamente significativa entre la media del incremento de las cenizas con respecto a cada nivel de alfa amilasa, con un nivel de confianza de 95%.

Para ampliar la justificación de los resultados que se obtienen en el análisis de varianza, se realiza la prueba de múltiples rangos, que se muestra en la tabla 3.18, procedimiento de comparación múltiple para determinar qué niveles pueden ser significativamente diferentes de otros.

Tabla 3.18. Prueba de múltiples rangos entre los niveles de alfa amilasa y el incremento de cenizas

<i>Nivel de alfa amilasa</i>	<i>Determinaciones</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0,05	6	6,07	x
0,10	6	7,12	x
0,15	6	9,14	x
0,25	6	14,24	x
0,20	6	14,24	x

En la tabla 3.18, los grupos homogéneos se encuentran alineados, lo que indica que no existen diferencias significativas entre los niveles de la enzima con un nivel de confianza de 95%. Por lo tanto, a partir del análisis se establece que los niveles de alfa amilasa no influyen significativamente en el incremento de las cenizas.

A pesar de no encontrarse diferencias significativas en el incremento del contenido de cenizas para los diferentes niveles de alfa amilasa, es evidente que existe una marcada tendencia al incremento de las cenizas cuando se emplean mayores niveles de enzima, esto puede observarse tanto en los valores medios como en cada uno de los seis experimentos realizados. Como el incremento de las cenizas es un suceso indeseable en el

proceso de producción, se justifica aún más, trabajar con los niveles más bajos posible de alfa amilasa.

3.4.4 Influencia de la enzima α -amilasa en el color

Para el estudio de la influencia de la alfa amilasa se determina el color en el azúcar crudo y a las 6 muestras que se les aplica tratamiento, con los niveles de alfa amilasa 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 y 0.25 g por cada 100 mL. Los resultados (Anexo 24) establecen que existe poca variabilidad en el color entre cada nivel y para la media de las réplicas experimentales.

Para analizar la influencia de la enzima alfa amilasa en el color del azúcar crudo se determina el incremento del color durante el desdoblamiento, en los 6 experimentos que se realizan a distintos niveles de la enzima, en la tabla 3.19 se muestra los resultados.

Tabla 3.19. Incremento del color en el desdoblamiento

<i>Experimentos</i>	<i>Nivel de alfa amilasa [g]</i>				
	<i>0,05</i>	<i>0,1</i>	<i>0,15</i>	<i>0,2</i>	<i>0,25</i>
	<i>Incremento del color [%]</i>				
1	-10,86	-11,97	-11,60	-11,42	-10,67
2	1,15	0,38	0	0,64	0,38
3	7,47	6,63	6,27	6,27	6,87
4	8,47	8,24	7,69	8,02	10,36
5	-5,61	1,33	2,49	1,42	6,06
6	1,49	-4,37	-4,37	-4,37	-3,45
Media	0,35	0,04	0,08	0,09	1,59

Como se muestra en la tabla 3.19, los resultados obtenidos no presentan un comportamiento que permita inferir una tendencia dada, en algunos casos inclusive (experimentos 1 y 6) el color disminuye (signo negativo) cuando se trata el licor con la enzima. Para identificar si existen diferencias significativas en la variabilidad del color con respecto a la adición de enzima se realiza un análisis de varianza.

Para el análisis de varianza se aplica la prueba de normalidad a los datos que se muestran en la tabla 3.19, y reflejan una distribución normal según los resultados que se muestran en el anexo 25. Se establece el análisis de varianza para verificar la influencia de la enzima en la variación de color para los cinco niveles de alfa amilasa, en la tabla 3.20 se muestra el análisis que se realiza.

Tabla 3.20. Análisis de varianza entre el incremento de color y los niveles de alfa amilasa

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Entre grupos	10,45	4	2,61	0,05	0,99
En los grupos	1373,28	25	5493		

La tabla 3.20 muestra que la probabilidad presenta un valor mayor que el nivel de significación de 0,05, es por ello que no existe ninguna relación significativa entre la media del incremento de color con respecto a cada nivel de alfa amilasa, para un nivel de confianza de 95%.

Para ampliar la justificación de los resultados que se obtienen en el análisis de varianza, se realiza la prueba de múltiples rangos (tabla 3.21), procedimiento de comparación múltiple para determinar qué niveles pueden ser significativamente diferentes de otros.

Tabla 3.21. Prueba de múltiples rangos entre los niveles de alfa amilasa y el incremento de color

<i>Nivel de alfa amilasa</i>	<i>Determinaciones</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0,1	6	0,04	x
0,15	6	0,08	x
0,20	6	0,09	x
0,05	6	0,35	x
0,25	6	1,59	x

En la tabla 3.21 los grupos homogéneos se encuentran alineados, lo que indica que no existen diferencias significativas entre los niveles de la enzima en el color con un nivel de confianza de 95%. A partir del análisis, se establece que no existen diferencias significativas para cada nivel de alfa amilasa en cuanto al contenido de color, lo que indica que la aplicación de la misma no influye significativamente en este parámetro.

3.4.5 Influencia del desdoblamiento en los azúcares reductores

Para el estudio de la influencia de la alfa amilasa en los azúcares reductores, se determina el contenido de reductores en el azúcar crudo y las muestras que se les aplica tratamiento con los niveles de alfa amilasa 0.05 y 0.25 g por cada 100mL. Los resultados en el anexo 26, muestran que aumenta el contenido de azúcares reductores a medida que aumenta la concentración de la enzima.

Para analizar la influencia de la enzima alfa amilasa en los azúcares reductores se determina el incremento de los mismos durante el desdoblamiento de los almidones, en los experimentos que se realizan a dos niveles de la enzima, en la tabla 3.25 se muestra los resultados.

Tabla 3.25. Incremento de los azúcares reductores en el desdoblamiento

Experimentos	Porcentaje de alfa amilasa [g]	
	0,05	0,25
	Incremento azúcares reductores [%]	
1	33	50
2	6	33
3	20	60
4	60	80
5	20	80
Media	28	60

Se observa que el contenido de azúcares reductores se incrementa en el desdoblamiento de los almidones entre un 28% y 60% como valor medio de los resultados, para cada nivel de alfa amilasa.

Se establece el análisis de varianza para verificar la influencia de la enzima en el contenido de azúcares reductores para dos niveles (0.05g y 0.25g) de alfa amilasa, en la tabla 3.26 se muestra el análisis que se realiza.

Para el análisis de varianza se aplica la prueba de normalidad a los datos de la tabla 3.25; los coeficientes de *skewness*, *kurtosis* y la curva que pasa por los puntos medios de cada intervalo del histograma de frecuencia (Anexo 27), reflejan una distribución normal.

Tabla 3.26. Análisis de varianza entre el incremento de los azúcares reductores y los niveles de alfa amilasa

Fuente	Suma de Cuadrados	Df	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Value
Entre grupos	2689,60	1	2689,6	6,54	0,03
En los grupos	3288,00	8	411,0		

La tabla 3.26 muestra que la probabilidad presenta un valor menor que el nivel de significación de 0,05, por lo cual existen diferencias significativas entre las medias del incremento de reductores con respecto a cada nivel de alfa amilasa, para un nivel de

confianza de 95%. La prueba de múltiples rangos, mostrada en la tabla 3.27 confirma los resultados anteriores.

Tabla 3.27. Prueba de múltiples rangos entre los niveles de alfa amilasa y el incremento de azúcares reductores

<i>Nivel de alfa amilasa</i>	<i>Determinaciones</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0,05	5	27,8	x
0,25	5	60,6	x

En la tabla 3.27, los grupos homogéneos no se encuentran alineados, lo que indica que existen diferencias significativas entre los niveles de la enzima en los azúcares reductores con un nivel de confianza de 95%. Esto se debe a que la función de esta enzima es hidrolizar las uniones glucosídicas α -(1-4), entre la amilosa y la amilopectina, constituyentes del almidón, de forma tal que se dividen en azúcares reductores (Bernal, 2006; Monteiro y Oliveira, 2010; Penados, 2004). A partir del análisis se establece que existen diferencias significativas entre los niveles de alfa amilasa, en cuanto al incremento del contenido de reductores, donde se demuestra que la aplicación de la misma influye en este parámetro.

Niveles elevados de azúcares reductores pueden tener como resultado la formación de color, cuando se someten a altas temperaturas o fuertes condiciones alcalinas. En las mieles pueden presentar doble efecto, un efecto es mejorar el agotamiento y otro es reducirlo. El efecto de reducir el agotamiento de las mieles ocurre cuando se producen azúcares reductores, debido a la inversión de la sacarosa, lo cual disminuye la pureza de las mieles.

En la investigación los resultados favorecen el agotamiento de las mieles, debido a que la incorporación al proceso de más azúcares reductores por concepto de desdoblamiento del

almidón en cadenas de glucosa no genera efecto negativo; al contrario los azúcares reductores facilitan la transferencia de masa en el proceso de cristalización y por tanto hay un mejor agotamiento de las mieles según Domínguez y Díaz (2003). Además, como no constituyen azúcares reductores producto de la inversión de la sacarosa que se generan en el proceso no generan pérdidas, por tanto no afecta el recobrado del proceso.

3.5 Valoración económica del contenido de almidón en el azúcar final

Se realiza la valoración económica con el objetivo de determinar el efecto económico que se genera por incumplimiento de la norma NC:85 (2012), para azúcar crudo con respecto al contenido de almidón. El análisis se realiza con el contenido de almidón que se mide en el azúcar crudo durante 5 días con tres réplicas; en la tabla 3.28 se muestran los resultados que se comparan con el parámetro normado para azúcar crudo.

Tabla 3.28. Concentración de almidón en azúcar crudo

<i>Concentración de almidón [mg/kg]</i>	<i>Días</i>					<i>Media</i>
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	
	523	249	31	490	361	406,44

En la Tabla 3.28, se observa que las concentraciones de almidón para el primer, cuarto y quinto día, y en consideración el valor medio experimental, incumplen con la norma NC:85 (2012), un azúcar de calidad debe poseer un contenido de almidón por debajo de 350 mg/kg. Sin embargo, los resultados con respecto a la Instrucción:07 (2014), no son significativos, porque la instrucción establece que la comercialización internacional del azúcar crudo contempla como exigencia que el contenido de polisacáridos este entre 400 y 600 mg/kg por tonelada métrica de azúcar crudo producido. Según lo planteado con anterioridad, como no se registra dextrana en el proceso, el contenido de almidón cumple

con esta norma por ser menor que el valor normado, que se comprende para la comercialización a nivel internacional. Como resultado de cumplir con los parámetros se bonifica con un valor de 0,07 CUP por mg/kg por tonelada métrica, porque los polisacáridos están por debajo de 400mg/kg por tonelada métrica, por lo que se incrementa el precio a facturar por la venta de azúcar crudo con destino a la exportación, a granel o en sacos (Instrucción:07, 2014).

3.6 Conclusiones parciales del capítulo

1. Los modelos que describen las curvas de referencias de almidón en jugo y azúcar crudo, presentan calidad para obtener el registro del almidón en el proceso con un nivel de confianza de 99 %, confirman el ajuste los coeficientes de correlación cercanos a 1 y los errores relativos con valores inferiores a 10 %.
2. A partir del análisis del comportamiento del almidón en el proceso se determina que: el almidón entra al proceso junto con la caña, en la etapa de purificación se remueve alrededor de un 70%, pero parte de este se incorpora en la etapa de alcalización junto con el jugo filtrado, y permanece en el cristal alrededor de un 7% con respecto al contenido de entrada al proceso.
3. Se determina que el almidón tiende a ocluirse en el cristal como partículas insolubles, pero cerca del 66 % representa el núcleo del cristal de azúcar crudo.
4. La aplicación de la enzima alfa amilasa disminuye considerablemente el contenido de almidón, lográndose desdoblar alrededor de un 84 a 89 % para cualquier nivel de enzima, según los resultados se sugiere trabajar a escala industrial con niveles de 0,05 g de α -amilasa/100mL de licor para obtener

eficientes resultados en el desdoblamiento de los almidones y menor consumo de enzima.

5. Se determina que la enzima influye en el incremento de los azúcares reductores para niveles entre 0,05 y 0,25 g y que no existen diferencias significativas en el color del licor y en las cenizas, por lo cual ambos parámetros no se afectan por la acción de la enzima α -amilasa.
6. Las concentraciones de almidón en azúcar crudo para los 5 días de estudio en el proceso, no generan pérdidas económicas por incumplimiento de los parámetros de calidad establecidas para la comercialización del azúcar crudo.

CONCLUSIONES

1. El estudio del comportamiento del almidón en el proceso y de su desdoblamiento permite determinar las condiciones que justifican la eliminación del mismo y facilitan la toma de decisiones para el control de la calidad del producto final.
2. La caracterización del proceso productivo permitió establecer los 10 puntos de muestreo establecidos para conocer el comportamiento de los almidones en las etapas estudiadas.
3. A partir del análisis del comportamiento del almidón en el proceso se determina que: el almidón entra al proceso junto con la caña, en la etapa de purificación se remueve alrededor de un 70%, pero parte de este se incorpora en la etapa de alcalización junto con el jugo filtrado, y se ocluye en el cristal alrededor de un 7% con respecto al contenido de entrada al proceso.
4. La aplicación de la enzima α -amilasa disminuye considerablemente el contenido de almidón, lográndose desdoblar alrededor de un 84 a 89 % para cualquier nivel de enzima, según los resultados se sugiere trabajar a escala industrial con niveles de 0,05 g de alfa amilasa para obtener eficientes resultados en el desdoblamiento de los almidones y menor consumo de la enzima.
5. Se determina que la enzima influye en el incremento de los azúcares reductores para niveles entre 0.05 y 0.25 g de enzima; y que no existen diferencias significativas en la variabilidad del color del licor y en las cenizas, por lo que ambos parámetros no se afectan por la acción de la enzima.
6. Las concentraciones de almidón en azúcar crudo para los 5 días de estudio en el proceso, no generan pérdidas económicas por concepto del incumplimiento de los

parámetros de calidad establecidas para la comercialización del azúcar crudo en el mercado internacional.

RECOMENDACIONES

1. Aplicar el estudio del comportamiento de almidón en varios procesos de producción de azúcar crudo, para establecer un mejor control de acuerdo a las condiciones de trabajo.
2. Desarrollar la hidrólisis enzimática en el proceso de producción de azúcar crudo, y definir el área de adición de la enzima alfa amilasa.
3. Determinar las condiciones óptimas de aplicación de la enzima alfa amilasa en el proceso de producción de azúcar crudo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alencar, J.; Hoffmann, P. ; Harumi, H., 2011. "Sugarcane starch: quantitative determination and characterization". *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31 (3), pp. 806-815.
2. Alonso, I., 2017. *Influencia del contenido de almidón durante el proceso de producción de azúcar crudo*. Matanzas, Cuba: Universidad de Matanzas.
3. Ayala, A., 2012. *Calificación del desempeño de un filtro banda para maximizar la recuperación de sacarosa en la cachaza proveniente de la clarificación del jugo de caña*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
4. Banik, G.; Cremonesi, P.; La Chapelle, A. ; Montalbano, L., 2003. *Nuove metodologie nel restauro del materiale cartaceo*. 2 Ed. Prato, Padova.
5. Barros, F.S., 2012. *Hidrólisis enzimática del almidón residual en extractos líquidos de camote, para elaboración de miel y estudio de sus propiedades funcionales*. Quito, Ecuador.
6. Bernal, L., 2006. "Una nueva visión de la degradación del almidón". *Rev. del Centro de Inv*, 7 (25), pp. 77-90.
7. Boyes, P.N., 1960. *Starch in the manufacture of raw sugar*.
8. Bruinj, J., 1968. *Enzymatic hydrolysis of starch in cane juice*.
9. Brumosky, L., 2014. *Química del almidón*. Universidad Nacional de Misiones.
10. Bukhari, M.; Salem, E.; Abdalmoneim, O. ; Hegazi, F., 2015. "Investigations of the influence of dextran on sugar cane quality and sugar cane processing in Kenana sugar factory". *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7 (4), pp. 381-392.
11. Canónico, M., 2003. *Agregación en gránulos de almidón*. México: Universidad Autónoma de Querétaro.
12. Cardona, M., 2009. *Seguimiento de las variables fisicoquímicas del clarificador SRI y verificación de la eficiencia del tacho continuo Fletcher Smith para la optimización de la elaboración de azúcar en el ingenio Risaralda*. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira
13. Carrazana, L., 1987. *Análisis agroindustrial azucarero. Teoría y práctica*. La Habana, Cuba.
14. Castro, N., 2015. *Determinación de la concentración de almidón por caracterización espectrofotométrica en el jugo de caña de azúcar de las*

variedades: CP72-2086, CP88-1165 y CP73-1547 utilizadas en el ingenio Trinidad Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.

15. Cochran, W.G., 1977. *Técnicas de muestreo*. D.F, México.
16. Cole, M.R.; Eggleston, G.; Gilbert, A. ; Chung, Y.J., 2014. “Development of an Analytical Method to Measure Insoluble and Soluble Starch in Sugarcane and Sweet Sorghum Products”. *Food Chemistry*
17. Chen, G.; Zhou, J.; Liu, Y.; Lu, X.; Han, C.; Zhang, W.; Xu, Y. ; MingYan, Y., 2016. “Biosynthesis and Regulation of Wheat Amylose and Amylopectin from Proteomic and Phosphoproteomic Characterization of Granulebinding Proteins”. *Scientific Reports*, 6, DOI: 10.1038/srep33111.
18. Chiu, C. ; Solarek, D., 2009. “Modification of Starches”. En: Inc., E. (ed.), *Starch: Chemistry and Technology*. Third Edition Ed., ISBN 978-0-12-746275-2.
19. Doherty, W. ; Rackemann, D., 2009. “Some aspects of calcium phosphate chemistry in sugar cane clarification”. *International Sugar Journal*, pp. 448-455.
20. Domínguez, F.J. ; Díaz, T., 2003. *AGOTAMIENTO DE MIELES EN LA INDUSTRIA AZUCARERA*.
21. Eggleston, G.; Antoine, A.; Montes, B.; Stewart, D.; Kimbeng, C. ; Zhou, M., 2008a. “Further optimization of α -amylase application in Louisiana factories”. En: (ed.)^(eds.), *ASSCT Louisiana Division meeting*. Baton Rouge, vol., pp.
22. Eggleston, G.; Cole, M. ; Andrzejewski, B., 2013. “New Commercially Viable Processing Technologies for the Production of Sugar Feedstocks from Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) for Manufacture of Biofuel and Bioproducts”. *Sugar Technology*, 15, pp. 232-249.
23. Eggleston, G.; Grisham, M.; Tew, T.; Triche, R. ; Antoine, A., 2008b. “Delivery and processing quality of trash tissues by different sugarcane varieties”. *International Sugar Journal*.
24. Eggleston, G.; Monge, A. ; Ogier, B., 2003. “Sugarcane factory performance of cold, intermediate, and hot lime clarification systems”. *Journal Food Process and Preservation*, 26 (6), pp. 433-454.
25. Eggleston, G.; Montes, B.; Monge, A. ; Guidry, D., 2006. “Optimization of α -amylase application in raw sugar manufacture”. En: (ed.)^(eds.), *Proc. Sug. Process. Res. Conf. Brazil*, vol., pp. 319-340.
26. Eggleston, G.; Viator, R. ; Grisham, M., 2007. “Glycophosphate ripener effects on the processing quality of different sugarcane tissues”. En: (ed.)^(eds.), *Proc. ISSCT Congress*. South Africa, vol. 26, pp. 1460-1467.

27. Eggleston, G.; Wartelle, L.; Triplett, A.; Montes, B.; Pontif, K.; Cole, M. ; Cyr, E., 2015. "Insoluble and Soluble Starch: Changes Across Sugarcane Factories and How They Are Controlled by Amylase Applications". *Journal American Society Sugar Cane Technologists*.
28. Godshall, M.A., 2004. "Collaborative study on starch in raw sugar using the SPRI rapid starch method". En: (ed.)^(eds.), *Proc. SPRI Conference*,. Atlanta, Georgia, USA, vol., pp. 442-448.
29. Godshall, M.A.; Clarke, M.A. ; Dooley, C.D., 1990. "Starch: process problems and analytical developments". En: (ed.)^(eds.), *Proc. SPRI Conference*. San Francisco,CA, USA, vol., pp. 244-264.
30. Greenwood, J.; Rainey, T. ; Doherty, W., 2011. "Light scattering study on the size and structure of calcium phosphate/hydroxyapatite flocs formed in sugar solutions". *Revista Colloid and Interface Science*.
31. Grisales, J., 2006. *Diseño e implementación de un sistema de evaluación de la calidad del corte manual de la caña de azúcar en el ingenio del Cauca*. Bucaramanga: Universidad Industrial Santander.
32. Guerra, C.; Menéndez, E.; Barrera, R. ; Egaña, E., 2004. *Estadística*. La Habana, Cuba, ISBN 959-258-621-7.
33. Guerra, J. ; Sevilla, E., 1986. *Introducción al análisis estadístico de procesos*. Cuba.
34. Herrera, A.C., 2011. *Estudio comparativo de métodos para la determinación de sacarosa y azúcares reductores en miel virgen de caña utilizados en el ingenio Pichichi S.A*. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira
35. Hugot, E., 1986. *Handbook of cane sugar engineering* Elsevier, ISBN 0-444-42438-5.
36. ICUMSA, 2007. *Determination of Starch in Cane Sugar Product and Beet Juices*.
37. ICUMSA, 2009. *Determinación de almidón en azúcar crudo mediante el método BSES. Oficial*. .
38. Instrucción:07, 2014. *Penalización y bonificación por los polisacaridos en azúcar crudo*.
39. Jenkins, G., 1971. *Introducción a la Tecnología del Azúcar de Caña*. La Habana.
40. Kampen, W.H.; Tan, Q. ; J.A., C., 1998. *The action of alpha amylase on sugar cane starch*. St. Petersburg, Florida.

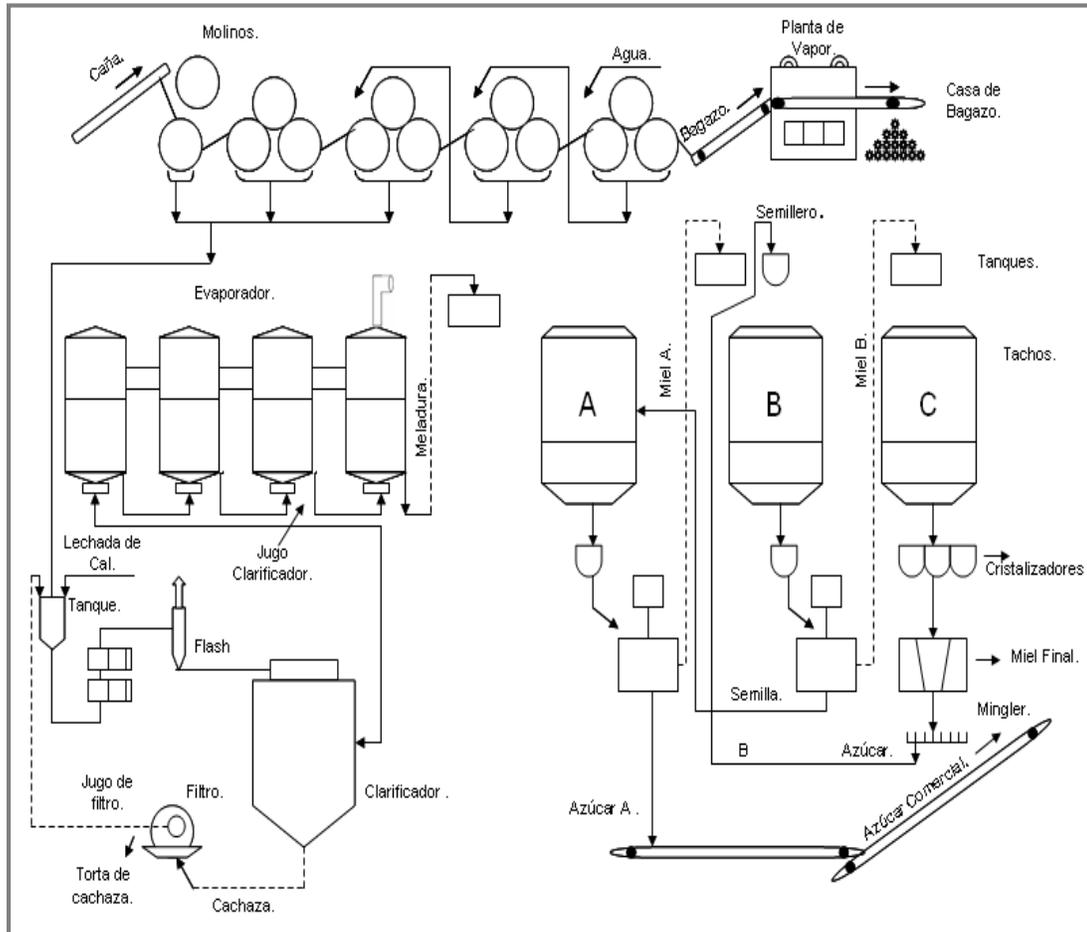
41. Kelmansky, D.M., 2009. *Estadística para todos*. Buenos Aires: Ministerio de Educación de la Nación. , ISBN 978-950-00-0713-9.
42. Kolusheva, T. ; Marinova, A., 2007. “A study of the optimal conditions for starch hydrolysis through thermostable α - amilase”. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 42 (1), pp. 93-96.
43. Larrahondo, J., 1995. *Calidad de la caña de azúcar*.
44. MACU, 2007. *Manual de Métodos Analíticos para Azúcar Crudo*. Ministerio del Azúcar.
45. Mendez, S., 2014. *Evaluación de floculantes en la clarificación de jugos de caña de la Unidad Empresarial de Base Jesús Rabí*. Matanzas, Cuba: Universidad de Matanzas.
46. Monteiro, P. ; Oliveira, P., 2010. “Application of microbial - Amilase in industry – A review”. *Brazilian Journal of Microbiology* 41, pp. 850-861.
47. Morales, Y.L.; Kafarov, V.; Ruiz, F. ; Castillo, E.F., 2010. “Modelamiento de los procesos de producción de bioetanol de primera y segunda generación a partir de caña de azúcar. Etapas; preparación, molienda y clarificación. ”. *Umbral Científico* (16), pp. 47-59.
48. NC:85, 2012. *AZÚCAR CRUDO - ESPECIFICACIONES*. La Habana. Cuba.
49. Páez, C.A., 2013. *Determinación de las condiciones óptimas para la producción de azúcar turbinado en los parámetros color y tamaño de grano en la empresa Ingenio Risaralda S.A*. Universidad Tecnológica de Pereira.
50. Pedrosa, R., 1983. *Fabricación de Azúcar Crudo*.
51. Penados, M., 2004. *Evaluación del impacto de adicionar la enzima alfa amilasa durante el proceso de evaporación en los niveles de almidón de azúcar crudo producido en un ingenio azucarero*. Escuela de Ingeniería Química: Universidad de San Carlos de Guatemala.
52. Peña, A., 2009. *Hidrólisis de almidón de yuca mediante la utilización de preparaciones solubles e insolubilizadas de alfa amilasa (Aspergillus niger)*. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander.
53. Pérez, H., 2009. *El análisis de procesos y el empleo adecuado de la energía en la producción de azúcar crudo y electricidad en ingenios cubanos*. Ciudad de La Habana, Cuba.
54. Pineda, P.; Coral, D.F.; Arciniegas, M.L.; Rorales, A. ; Rodríguez, M.E., 2010. “Papel del agua en la gelatinización del almidón de maíz: estudio por calorimetría diferencial de barrido”. *Ingeniería y Ciencia*, 6 (11), pp. 129–141.

55. Popper, L.; Schäfer, W. ; Freund, W., 2006. *SUGAZYM – DEXTRANASE AND AMYLASE IN THE SUGAR INDUSTRY*. Germany: Agrimedia GmbH.
56. Posada, E.D., 1987. *Tecnología de la Producción Azucarera*. La Habana, Cuba.
57. Rein, P., 2007. *Cane Sugar Engineering*. Berlin, Germany.
58. Rivera, D. ; Chaves, M., 2003. *Determinación de los Contenidos de Materia Extraña en las Entregas Comerciales de Caña de Azúcar (Saccharum spp) en Hacienda Juan Viñas S.A., Costa Rica*.
59. Rodríguez, R.; J., R.; Mesa, J.; Sánchez, A. ; Gay, M., 2014. “Comportamiento de algunos parámetros de los azúcares crudos analizados durante el quinquenio 2006-2010. Parte 2”. *ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar*. , 48 (3), pp. 11-15.
60. Sargent, R.G., 2009. “Verification and validation of simulation models”. En: (ed.)^(eds.), *Proceedings of the 2009 Winter Simulation Conference*. Syracuse, Estados Unidos, vol., pp.
61. Svarovsky, L., 2011. *Solid-Liquid Separation*. 4 Ed. Londres.
62. Tiwari, S.P.; Srivastava, R.; Singh, C.S.; Shukla, K.; Singh, R.K.; Sing, P.; Sing, R.; Singh, N.L. ; Sharma, R., 2015. “Amilases: An overview with special reference to alpha amylase”. *Journal of Global Biosciences*, 4 (1), pp. 1886-1901.
63. van der Poel, P.W.; H., S. ; T., S., 1998. *Sugar Technology*. Berlin: Beet Sugar Development Foundation.
64. Viginotti, F.; Polesi, L.; Lima, C. ; Silveira, S., 2014. “Structural and physicochemical characteristics of starch from sugar cane and sweet sorghum stalks”. *Carbohydrate Polymers* () 111, pp. 592–597.
65. Zhou, M.; Kimbeng, C.; Eggleston, G.; Viator, R.; Hale, A. ; Gravois, K., 2008. “Issues of starch in sugarcane processing and prospects of breeding for low starch content in sugarcane”. *SUGAR CANE INTERNATIONAL*, 26 (3).
66. Zossi, B.; Cárdenas, G.; Sorol, N. ; Sastre, M., 2010. “Influencia de compuestos azúcares y no azúcares en la calidad industrial de caña de azúcar en Tucumán (R. Argentina) Parte 1: caña limpia y despuntada”. *Rev. Ind. y Agríc. de Tucumán*, 87 (1), pp. 15-27.
67. Zossi, B.; Cárdenas, G.; Sorol, N. ; Sastre, M., 2011. “Influencia de compuestos azúcares y no azúcares en la calidad industrial de caña de azúcar en Tucumán, R. Argentina: caña verde y quemada (Parte 2)”. *Rev. Ind. y Agríc. de Tucumán* 88 (1), pp. 13-21.

68. Zossi, B.; Navarro, M.; Sorol, N.; Sastre, M. ; Marcelo, R., 2008a. “Comparación de dos metodologías de determinación de almidón en azúcar”. *Rev. Ind. y Agríc. de Tucumán*, 85 (2): ; (2), pp. 9-16.
69. Zossi, B.; Navarro, M.; Sorol, N.; Sastre, M. ; Marcelo, R., 2008b. “Validación de una metodología para determinar el contenido de almidón en azúcar”. *Rev. ind. agríc. Tucumán* 85 (2).

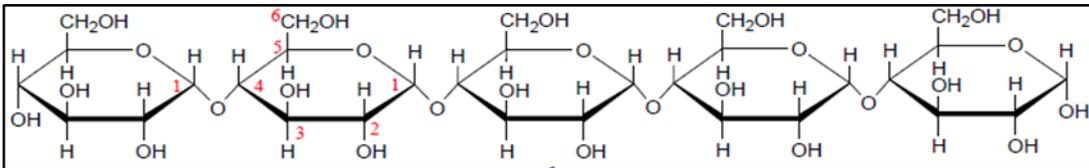
ANEXOS

Anexo 1. Diagrama general del proceso de producción de azúcar crudo



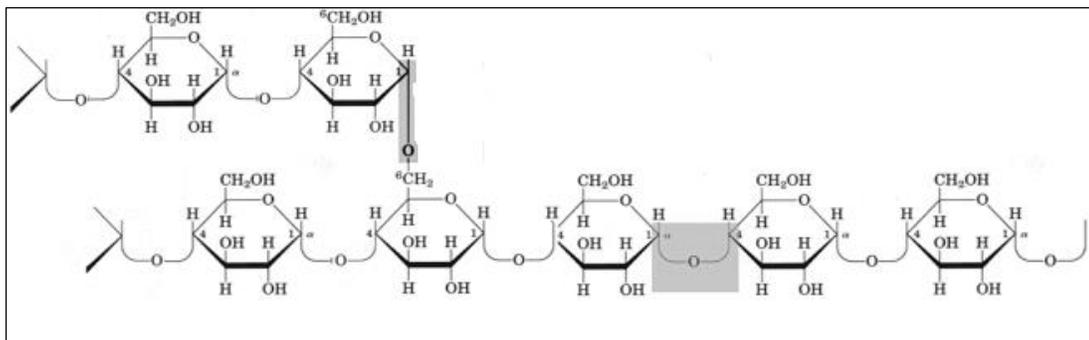
Fuente: Alonso (2017).

Anexo2. Estructura de la amilosa y la amilopectina, constituyentes del almidón.



Fuente: Brumosky (2014).

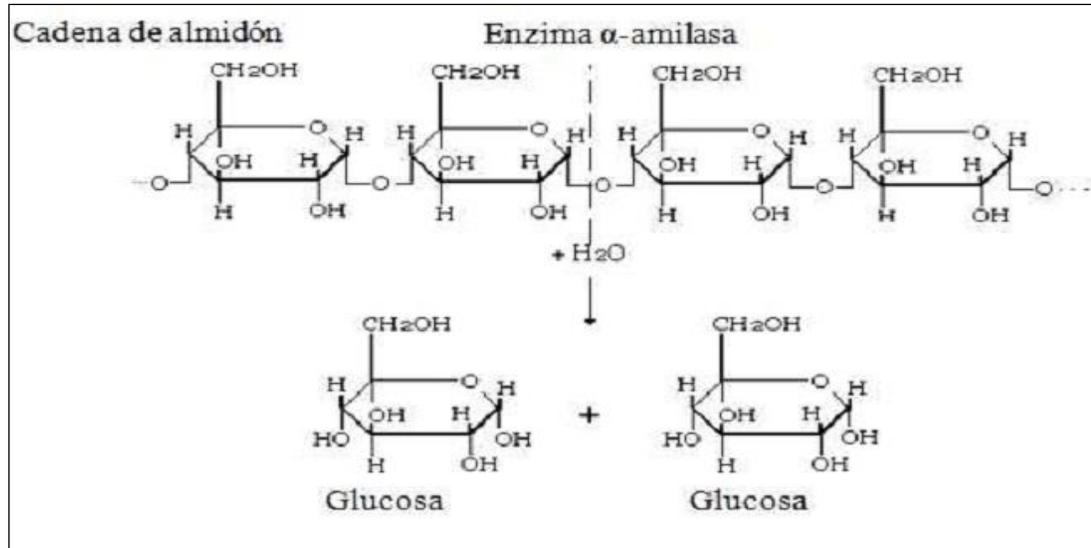
Figura1. Estructura de la amilosa, un polímero de unidades de D-glucosa unidas por enlaces $\alpha - (1-4)$.



Fuente: Brumovsky (2014).

Figura 2. Estructura ramificada de la amilopectina, polímero ramificado, constituido por unidades D- glucosas unidas por enlaces $\alpha-(1-4)$ y $\alpha-(1-6)$.

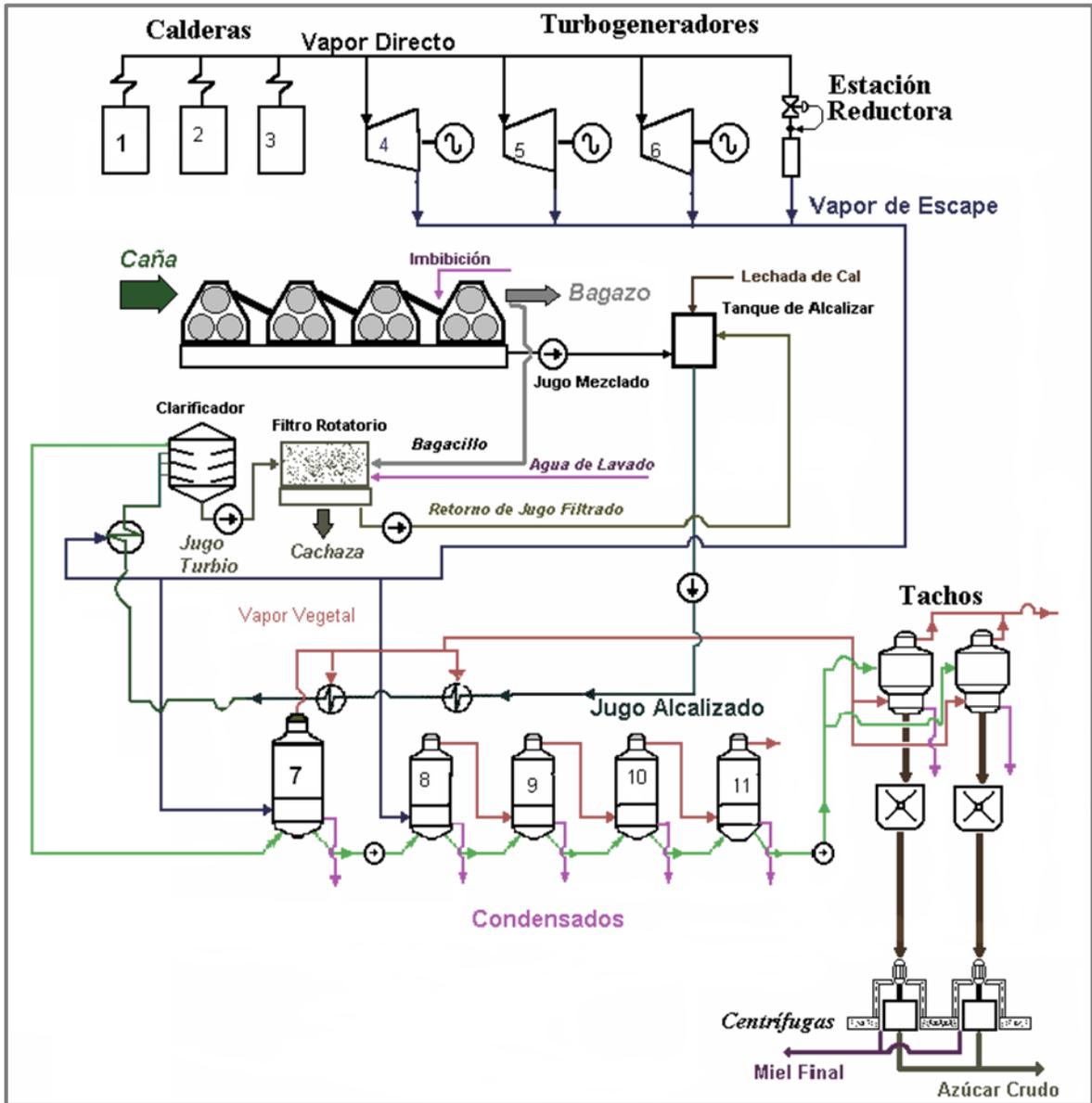
Anexo 3. Hidrólisis del almidón con la enzima alfa amilasa.



Fuente: Banik, *et al.* (2003).

Figura 3. Hidrólisis del almidón con la enzima alfa amilasa.

Anexo 4. Diagrama del proceso objeto de estudio.



Fuente: Alonso (2017).

Anexo 5. Parámetros de la calidad que se miden en el laboratorio de la industria.

<i>Datos del laboratorio del central</i>					
<i>Parámetros</i>	<i>Días</i>				
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Caña molida (kg/h)	143080	138160	76180	143800	116014
Agua imbibición (kg/h)	24381	22315	14418	17739	23692
Fibra en caña (%)	15,44	15,41	15,8	15,51	15,7
Fibra en bagazo (%)	45,34	45,25	44,93	44,52	43,7
Brix del bagazo (%)	6,5	6,5	7,2	7,2	7,9
Brix en jugo primario (°Bx)	17	16,8	19	17,5	18
Brix en jugo diluido (°Bx)	13,2	12	11,8	12,2	11,9
Brix en jugo mezclado (°Bx)	14,2	14,1	13,8	14,4	13,4
Brix en jugo filtrado (°Bx)	11,8	11,9	11,6	11,4	11,5
Brix en jugo alcalizado (°Bx)	13,45	13,2	12,8	13,15	12,7
Brix en jugo clarificado (°Bx)	14,1	14,4	14,2	14,5	13,8
Brix en meladura (°Bx)	60,7	62,8	60,21	62,2	61,4
Brix en Miel A (°Bx)	79,05	77,54	77,54	78,54	79,55
Brix en Miel B (°Bx)	81,06	67,352	79,552	79,376	80,218
Brix en Miel C (°Bx)	88,28	88,28	89,5	90,54	94,12
Azúcar producida (t/d)	323,07	348,88	169	346,75	281,90

Anexo 6. Técnica para la determinación del contenido de almidón en jugos

Técnica C28. Determinación espectrofotométrica de almidón en jugos.

El método se basa en la precipitación de los polisacáridos con etanol, la redisolución del almidón con solución de cloruro de calcio y la ulterior formación del complejo de absorción triyoduro-almidón, originado por el yodo formado in situ.

Preparación de la porción de ensayo: homogenizar la muestra de jugo representativa de la población que desea analizar y determinar el Brix. Pesar 20 g, depositar en el beaker de 250 mL, adicione 80 mL de etanol y 2 g de tierra de infusorios. Agitar, cubrir el beaker con un vidrio reloj, dejar en reposo durante 15 minutos y filtrar mediante presión reducida.

Determinación: trasvasar cuantitativamente el precipitado obtenido a un beaker de 400 mL, adicionar 40 mL de solución de cloruro de calcio acidificada, cubrir con un vidrio reloj y mantener 15 minutos en ebullición suave. Enfriar esta solución, trasvasar cuantitativamente a un matraz de 100 mL y después de enrasar con agua adicionar 1,7mL más para compensar el volumen ocupado por la tierra de infusorios. Homogenizar, filtrar y desechar los primeros 10 mL. Tomar 20 mL del filtrado, depositar en un matraz de 50 mL y adicionar 2.5 mL de solución de ácido acético, 0.5 mL de solución de yoduro de potasio recién preparada y 5 mL de solución de yodato de potasio. Enrasar con agua y medir la absorbancia a 600 nm en una celda de 1 cm. Utilizar como blanco una solución preparada adicionando, en un matraz de 50 mL, 8 mL de solución de cloruro de calcio acidificada, y los mismos volúmenes anteriores de los reactivos, enrasar y homogenizar.

Curva de referencia: con la bureta medir alícuotas de la solución de referencia de almidón, de 0, 1, 2, 3, 4 y 5 mL y depositar en matraces de 50 mL. Adicionar a cada

matraz, agua hasta 20 mL, 2.5 mL de solución de ácido acético, 0.5 mL de solución de yoduro de potasio y 5 mL de solución de yodato de potasio. Enrasar con agua y mida la absorbancia a 600 nm en una celda de 1 cm, utilizar como blanco la solución que no contiene almidón. Estos puntos equivalen a 0.0, 0.8, 1.6, 2.4, 3.2 y 4.0 mg de almidón por cada 50 mL de solución. Trazar los valores de absorbancia que se correspondan con las cantidades de almidón y, en consecuencia, la curva correspondiente; en el anexo 6 se muestran los reactivos.

Reactivos: 1. Agua destilada. 2. Solución de ácido clorhídrico, aprox. 10 % v/v: deposite, en un frasco apropiado, 10 ml (ó 11.8 g) de ácido clorhídrico ($d_{20}=1.18$ g/ml) y 90 ml o g de agua. Homogeneice la solución. 3. Tierra de infusorios (Kieselguhr) tratada con ácido: pese 50 g (4.11) de tierra de infusorios, añada aprox. 1 000 ml de agua (3.1) y 50 ml (ó 59.0 g) de ácido clorhídrico ($d_{20}=1.18$ g/ml), agite 5 min, filtre mediante vacío y lave con agua hasta que el filtrado adquiera el pH del agua utilizada. Séquela en estufa a 100 °C durante 6 h y consérvela en un recipiente con cierre hermético. 4. Ácido acético glacial, $d_{20}=1.05$ g/ml. 5. Solución de cloruro de calcio, aprox. 40 g/100 ml con pH ajustado: Disuelva, con agua, 400.0 g de cloruro de calcio dihidratado, trasvase la solución a un matraz de 1 000 ml y enrase. Vierta el contenido del matraz en un beaker y ajuste el pH con ácido acético glacial hasta 3.0 unidades (no deje de agitar). Filtre si la solución contiene partículas groseras o presenta turbiedad. 6. Solución de ácido acético, $c(\text{HCH}_3\text{COO})=2.0$ mol/l: mezcle 114 ml (ó 119.7 g) de ácido acético glacial con agua, enrase a 1 000 ml y homogeneice. 7. Etanol 96 % v/v. 8. Solución de etanol, aprox. 80 % v/v: mezcle 80 ml de etanol 96 % v/v con 16 ml de agua y homogeneice. 9. Solución de referencia de almidón 0.8 g/l: determine la humedad del almidón, para ello pese aprox.

2.0000 g del reactivo en un pesafiltro y colóquelo 2 h en una estufa a 105° C. Después llévelo a una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiental péselo de nuevo. Una vez determinada la humedad, tome del mismo frasco una cantidad equivalente a 0.800 g de almidón seco; añada 5 ml de agua a temperatura ambiental, agite la suspensión obtenida y trasvásela cuantitativamente a un beaker que contenga 500 ml de agua aprox. a 100 °C, hierva durante 1 min y enfríe. Trásvase la solución cuantitativamente a un matraz de 1 000 ml, enrase y homogeneíce. Esta solución se puede almacenar en refrigeración durante una semana. 10. Solución de yodato de potasio, $c(\text{KIO}_3)=0.00167$ mol/l. Seque el yodato de potasio 2 h en una estufa a 105°C. Disuelva 0.3566 g de este reactivo con agua, en un matraz de 1 000 ml, enrase y homogeneíce. 11. Solución de yoduro de potasio, aprox. 10 g/100 ml. Pese 2.5 g de yoduro de potasio, trásváelos a un matraz aforado de 25 ml, disuélvalos, enrase y homogeneíce (Prepare esta solución sólo cuando la vaya a utilizar).

Utensilios e instrumentos: 1. Probetas de 10, 50, 200 y 1 000 ml. 2. Papel de filtro (velocidad media). 3. Embudos Büchner, \varnothing aprox. 4 y 9 cm. 4. Kitasato. 5. Bandeja esmaltada. 6. Embudo de vidrio. 7. Matraces aforados de 25, 50, 100 y 1 000 ml. 8. Beakers de 250, 400 y 2 000 ml. 9. Pipeta de descarga total de 20 ml. 10. Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 ml. 11. Bureta de 25 ml que aprecie 0.1 ml. 12. Agitador, \varnothing aprox. 3 mm. 13. Timer. 14. Bomba de vacío. 15. Balanza que aprecie 0.1 g. 16. Balanza que aprecie 0.1 mg. 17. Refractómetro preferiblemente tipo Abbe que aprecie 0.1° Bx. 18. Plancha eléctrica graduable. 19. Espectrofotómetro. 20. Potenciómetro que aprecie 0.1 unidades de pH. 21. Desecadora. 22. Estufa.

Anexo 7. Técnica para la determinación del contenido de almidón en azúcar crudo

Técnica C29. Determinación espectrofotométrica de almidón en azúcar crudo

El método se basa en la selectividad del cloruro de calcio, a determinado pH, para separar al almidón de los polisacáridos que lo acompañan, y en la propiedad de esta sustancia para formar un complejo de absorción con el ion triyoduro, cuyo espectro presenta una absorción proporcional a su concentración.

Preparación de las soluciones de referencia: en cada uno de los siete matraces aforados de 50 mL depositar 3.60 ± 0.02 g de sacarosa. Adicionar, utilizando pipetas, alícuotas de 0.0, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0 mL de la solución de referencia de almidón de 180 mg/L. Las concentraciones finales de las soluciones en los matraces equivalen a 0, 50, 100, 200, 300, 400 y 500 mg de almidón por kg de azúcar. A cada uno de los siete matraces añadir: 10, 9, 8, 6, 4, 2 mL y 0 mL de agua, para obtener un volumen de 10 mL en cada matraz y agitar mediante rotación hasta disolver todo el azúcar. En cada matraz adicionar 15 ± 0.1 mL de la solución de cloruro de calcio-ácido acético y mezcle bien por rotación. Colocar los matraces en un baño (antes de los 30 minutos después de añadir el agua para disolver el azúcar) de agua de 95 a 100 °C durante 15 ± 1 minutos. El tiempo se mide desde el instante en que el matraz se introduce en el baño. Para facilitar la disolución del almidón se recomienda agitar los matraces por rotación a los 5 y 10 minutos después de colocados en el baño. Transcurridos los 15 minutos, sacar los matraces del baño y enfriar con agua corriente hasta temperatura ambiental. Añadir a cada matraz 15 ± 0.05 mL de ácido acético 0.033 mol/L y homogeniza.

Desarrollo del color y medición de la absorbancia: con agua homologar y determinar la corrección de un par de cubetas de no menos de 2 cm. A cada uno de los siete matraces

adicionarles 5.0 mL de solución de yodato de potasio y 0.50 mL de solución de yoduro de potasio. Mezclar bien, enrasarlos con agua y homogenizarlos. Enjuagar una de las cubetas dos veces con cada solución y llénela. Leer su absorbancia (entre los 20-60 min posteriores a la adición de la solución de yoduro de potasio) a 700 nm utilizando agua destilada como referencia. Trazar los valores de absorbancia obtenidos, en las ordenadas que se correspondan con la concentración, y, en consecuencia, la curva correspondiente.

Preparación de las soluciones de ensayo y del blanco-muestra: depositar 3.60 ± 0.02 g de azúcar crudo en cada uno de los dos matraces de 50 mL, adicionar en cada matraz 10 ± 0.1 mL de agua, disolver el azúcar al rotar el matraz y proseguir exactamente igual que en el punto 1), después de disolver el azúcar. Una vez adicionado el ácido acético enrasar el blanco-muestra con agua y homogenizar. Al otro (solución de ensayo) añadir 5.0 mL de la solución de yodato de potasio, 0.5 mL de la solución de yoduro de potasio y enrasar con agua. Tapar el matraz y homogenizar. Leer la absorbancia de la solución con una precisión de 0.001 unidades, en cubetas de 2 cm a 700 nm utilizando el blanco-muestra como referencia (en el anexo 7 se muestran los reactivos).

Reactivos: 1. Agua destilada o desionizada. 2. Solución de cloruro de calcio, aprox. 40 % m/m: disuelva 53.0 g de cloruro de calcio dihidratado en agua, diluya hasta 100 ± 0.1 g con agua destilada, homogeneíce y consérvela herméticamente cerrada. Es indispensable comprobar la concentración de la solución de cloruro de calcio y, si es necesario, ajustarla a 40.0 ± 0.3 % m/m con agua destilada o solución de cloruro de calcio (aprox. 75 % m/m). 3. Solución de ácido acético, $c(\text{HCH}_3\text{COO}) \pm 1.0$ mol/l: en un matraz aforado de 1 000 ml deposite 57 ± 1 ml (ó 60.0 g) de ácido acético glacial ($d_{20} = 1.05$ g/ml), adicione agua, enrase y homogenice. 4. Solución de ácido acético (aprox. 0.033 mol/l): diluya

3.0±0.1 ml de solución de ácido acético 1 mol/l con agua hasta 100 ml. 5. Solución de cloruro de calcio-ácido acético: utilice un potenciómetro y mediante agitación, ajuste el pH de una alícuota (100 ml) de la solución de cloruro de calcio hasta 3.0±0.1 unidades de pH con solución de ácido acético 0.033 mol/l. Ajuste, en la misma proporción, el pH del resto de la solución de cloruro de calcio. A pesar de que el pH de la solución de cloruro de calcio-ácido acético tiende a alterarse con el tiempo, no lo reajuste. 6. Solución de yoduro de potasio, aprox. 10 g/100 ml: para preparar proceda como en C28. 7. Solución de yodato de potasio, $c(\text{KIO}_3)=0.00167$ mol/l: para preparar proceda como en C28. 8. Solución matriz de referencia de almidón (900 mg/l): utilice almidón de papa. Determine su humedad secando alrededor de 2 g (pesados hasta 0.0001 g) a 105–110 °C durante 2 horas. Pese $[(0.9000 \times 100)/(100 - \% \text{ humedad})] \pm 0.0001$ g de almidón no anhidro, es decir el equivalente a 0.9000 ± 0.0002 g de almidón anhidro. Al almidón pesado agregue 5 ml de agua fría y mezcle con un agitador de vidrio. Antes que el almidón sedimente, trasvase la mezcla cuantitativamente a un Erlenmeyer de 1 000 ml que contenga 500 ml de agua hirviente, de forma tal que la mezcla no toque la pared del Erlenmeyer. Trasvase todo el almidón al Erlenmeyer con no menos de tres porciones adicionales de 5 ml de agua. Esta operación se realiza en un minuto. Hierva la suspensión de almidón durante 3 min ± 10 s, mida a partir del momento en que los primeros 5 ml de la suspensión de almidón caigan en el agua hirviente. Enjuague un matraz aforado de 1000 ml con agua caliente. Trasvase cuantitativamente, mediante un embudo, la solución caliente al matraz aforado de 1000 ml. Lave el Erlenmeyer varias veces con agua caliente, trasvase los lavados al matraz aforado hasta que el volumen sea aproximadamente 900 ml. Mezcle el contenido del matraz por rotación y enfríe hasta

temperatura ambiental con agua corriente. Enrase, tape y homogenice. Conserve esta solución de referencia en el refrigerador, la cual se mantiene apta durante una semana, pero se recomienda hacer la curva de referencia el mismo día que se prepara la solución.

9. Solución de referencia de almidón (180 mg/l): en un matraz aforado de 100 ml, utilice una pipeta de descarga total, y deposite 20.0 ml de la solución de referencia de almidón de 900 mg/l. Enrase con agua y homogeneice. Esta solución no es estable, por ello preparar en el día que se realice la curva de referencia. 10. Sacarosa libre de almidón.

Utensilios e instrumentos: 1. Matraces aforados de 25, 50, 100 y 1 000 ml. 2. Probetas de 10, 25 y 100 ml. 3. Bureta de 50 ml que aprecie 0.1 ml. 4. Pesafiltro pequeño. 5. Pipetas de descarga total de 10, 20 y 25 ml. 6. Pipetas graduadas de 1, 5 y 15 ml. 7. Timer. 8. Balanza que aprecie 0.1 g. 9. Balanza que aprecie 0.1 mg. 10. Potenciómetro que aprecie 0.1 unidades de pH. 11. Baño de agua hirviente. 12. Espectrofotómetro. 13. Agitador de vidrio. 14. Erlenmeyer de 1 000 ml. 15. Dispensador automático de líquidos. 16. Estufa. 17. Desecadora.

Anexo 8. C32. Determinación turbidimétrica de dextrana en azúcar crudo

El método se basa en la poca solubilidad de la dextrana en solución hidroetanólica y la posterior medición espectrofotométrica, a 720 nm, de la turbiedad producida en el seno de dicha solución.

Reactivos: 1. agua destilada o desionizada. 2. Etanol absoluto. 3. Tierra de infusorios (Kieselguhr) tratada con ácido. Pese 50 g (412) de tierra de infusorios, añada aprox. 1 000 ml de agua y 50 ml (ó 59.0 g) de ácido clorhídrico ($d_{20}=1.18$ g/ml), agite 5 min, filtre mediante vacío y lave con agua hasta que el filtrado adquiera el pH del agua utilizada. Séque en estufa a 100° C durante 6 h y consérve en un recipiente con cierre hermético. 4. Solución de ATA, aprox. 100 mg/ml. Pese 10.0 g de ATA, disuélva y trasvase la solución a un matraz aforado de 100 ml, agite hasta su total disolución, enrase y homogenice, conservar la solución refrigerada hasta una semana. 5. Dextrana estándar. Use dextrana de masa molecular 110 000 ó 500 000. Determine su contenido de humedad (HD) hasta la centésima, por duplicado, mediante el secado de aprox. 2 g de dextrana durante 3 h en una estufa regulada a 105° C y efectúe las pesadas hasta 0.1 mg. La diferencia entre dos determinaciones debe estar dentro de ± 1 % respecto a su contenido promedio de humedad. 6. Sacarosa. Sólo use sacarosa pura que contenga menos de 2 mg/kg de almidón. Compruebe la turbiedad que se produce cuando 8 ml de la solución de sacarosa/ATA más 4.5 ml de agua se diluyen hasta 25 ml con etanol absoluto acorde con el procedimiento establecido. La absorbancia de esta solución en una celda de 2 cm, no excederá de 0.003 unidades de absorbancia a 720 nm y tomando como referencia una solución compuesta por 8 ml de solución de sacarosa/ATA diluida hasta 25 ml con agua destilada. 7. Solución de sacarosa/ATA. En un matraz de 500 ml disuelva 250 \pm 0.1 g de sacarosa en agua. Adicione 78 ml de la solución de ATA, enrase y homogeneice. Esta solución se debe preparar fresca cada vez que sea necesario. 8. Solución de referencia de dextrana, 0.8 mg/ml. Pese con rapidez una cantidad de dextrana no secada que contenga 0.1600 g de la dextrana anhidra. Disuelva la dextrana mediante la adición de 1-2 ml de agua para formar una pasta. Permita que las partículas se hidraten uniformemente durante 10 min con agitación ocasional. Después adicione pequeñas porciones de agua hasta que desaparezca el aspecto gelatinoso. Cuando haya añadido 25 ml de agua y el aspecto gelatinoso haya desaparecido, trasvase la suspensión a un matraz de 200 ml, utilizando alrededor de 80 ml de agua. Coloque el matraz en un baño de agua hirviendo durante 30 min, enfríe a temperatura ambiental, enrase con agua (3.1) y mezcle bien. Prepare la solución de referencia de dextrana diariamente, no la conserve de un día para otro. 9. Solución de referencia de dextrana, 0.08 mg/ml. Deposite 10.0 ml de la solución de referencia (4.8) en un matraz de 100 ml, enrase con agua y mezcle bien. 10. α -amilasa. Utilice una variedad termoestable de esta enzima con calidad grado reactivo. Compruebe que la dextrana no es atacada por la enzima. Para ello digiera una

solución de referencia de dextrana con una gota de la enzima a 55 ± 5° C durante 15 min, adicione ATA, filtre y mida la turbiedad igual que si se tratase de una solución de referencia. La absorbancia permisible ha de estar dentro de ±5 % de la lectura obtenida con la misma solución de referencia de dextrana sin el tratamiento enzimático.

Utensilios e instrumentos: 1. Probetas de 50 y 1 000 ml. 2. Matraces aforados de 25, 100, 200 y 500 ml. 3. Pipetas de descarga total de 1, 2, 3, 4 y 10 ml. 4. Pipetas graduadas de 5,10 y 25 ml. 5. Erlenmeyer de 100-250 ml, preferiblemente con tapa esmerilada. 6. Beaker no menor de 150 ml. 7. Embudo Büchner, ø aprox. 7 cm. 8. Buretas de 25 y 50 ml que aprecien 0.1 ml. 9. Papel de filtro de filtración lenta. 10. Desecadora (Vea A13). 11. Cronómetro. 12. Balanza que aprecie 0.1 g. 13. Balanza que aprecie 0.1 mg. 14. Estufa. 15. Espectrofotómetro apropiado para medir absorbancia a 720 nm, con celdas no menores de 2 cm. 16. Bomba de vacío. 17. Baños de agua, uno hirviente y otro entre 50-60° C

Procedimiento: 5.1 Curva de referencia. En 13 matraces de 25 ml prepare las soluciones de referencia. Para ello con una pipeta graduada de 10 ml añada 8 ml de la solución de sacarosa/ATA a cada uno de los 13 matraces. (No pipetee con la boca, use un bulbo de seguridad o "pera"). Como el alcohol debe añadirse dentro de los 20 min después de la adición de la solución de dextrana a la de sacarosa/ATA, y la absorbancia ha de leerse exactamente a los 20 min de añadirle el alcohol y mezclar, se recomienda sólo preparar 4 ó 6 soluciones de referencia a la vez. Con una pipeta graduada de 5 ml o un juego de pipetas de descarga total, adicione, a los primeros 12 matraces, alícuotas de las soluciones de dextrana. Con una pipeta graduada de 10 ml adicione a los 12 matraces alícuotas de agua destilada. Guíese por la siguiente tabla.

Matraz No.	Sol. sac/ATA (ml)	Sol. dext, 0.08 mg/ml (ml)	Sol. dext, 0.8 mg/ml (ml)	Agua (3.1) (ml)	Conc. dext en azúcar, (mg/kg)
1	8.0	0.0	-	4.5	0
2	8.0	1.0	-	3.5	20
3	8.0	2.0	-	2.5	40
4	8.0	3.0	-	1.5	60
5	8.0	4.0	-	0.5	80
6	8.0	-	1.0	3.5	200
7	8.0	-	1.5	3.0	300
8	8.0	-	2.0	2.5	400
9	8.0	-	2.5	2.0	500
10	8.0	-	3.0	1.5	600
11	8.0	-	3.5	1.0	700
12	8.0	-	4.0	0.5	800

13	8.0	-	-	17.0	Blanco
----	-----	---	---	------	--------

Enrase el matraz número 13 con agua destilada y mezcle mediante agitación. Éste constituye el blanco o referencia para leer la absorbancia. A los restantes matraces adicione lentamente hasta el aforo, con una bureta de 50 ml, el etanol absoluto (4.2) (el alcohol debe añadirse dentro de los 20 minutos después que le adicione la solución de dextrana a la de sacarosa/ATA), mientras con suavidad agita el matraz rotándolo. La adición del alcohol debe consumirse entre 30 y 60 s. Mezcle el contenido del matraz invirtiéndolo tres veces con suavidad. Comience a contar el tiempo tan pronto como haya mezclado la solución (como la absorbancia debe leerse a un tiempo determinado después de mezclar, se recomienda que el alcohol se añada a las soluciones de referencia de dextrana a intervalos uniformes de 3 ó 4 min.

Leer la absorbancia de las celdas a 720 nm llenas de agua, si es necesario homologar y anotar la corrección. Aproximadamente a los 17-18 min de enrasar y mezclar, enjuague la celda tres veces con el blanco y llénela. En forma similar enjuague y llene la otra con una de las soluciones de referencia (comience con la más diluida). Limpie las caras con un papel y compruebe que no tienen estrías. A los 20 min ± 10 s después de enrasar y mezclar, lea y anote la absorbancia de las soluciones de referencia, lea y tome como referencia al blanco, hasta 0.001 a 720 nm. Repita los últimos dos pasos para cada solución de referencia de dextrana. Repita el procedimiento de estandarización de la dextrana con otro conjunto de soluciones de referencia de dextrana recién preparadas.

Calcule la concentración real de dextrana en cada matraz, utilice la humedad de la dextrana (3.5) y la masa real pesada (3.8). Por ejemplo, la concentración de dextrana en el matraz 10 (CM10), en mg/kg de azúcar, será:

$$CM10 = (600)(0.1904)/0.1821 = 627 \text{ mg/kg g}$$

donde:

600, es la concentración esperada (mg/kg)

0.1904 g. es la masa real de dextrana no secada pesada.

0.1821 g, es la masa de dextrana equivalente a 0.1600 g cuando la humedad de la dextrana es 12.16 % m/m ($100(0.1600)/(100-12.16)=0.1821$ g de dextrana no secada).

Aplique la corrección de la celda a la absorbancia de cada solución de referencia. Lleve a un gráfico la concentración real de las soluciones de referencias (abcisas) y las absorbancias corregidas correspondientes (ordenadas) y trace la mejor curva. La curva de referencia es una curva no lineal cuando las concentraciones de dextrana son pequeñas y se convierte casi en lineal para concentraciones más altas. Los puntos de la mejor curva caen dentro de ±5 % de la

absorbancia para soluciones de referencia con pequeña concentración de dextrana y dentro de ± 3 % cuando la concentración de dextrana es relativamente alta.

5.2. Preparación de la porción de ensayo. Pese 32.0 ± 0.1 g de azúcar crudo, trasvase a un Erlenmeyer (4.5), adicione 50 ml de agua (3.1) tápelo y disuelva. Adicione dos gotas de la enzima para la eliminación del almidón. Mezcle bien el contenido, tape el frasco y colóquelo dentro del baño de agua con agitación regulado a $55 \pm 5^\circ$ C con agitación a intervalos durante 15 ± 2 min. Enfríe el frasco hasta temperatura ambiental.

Trasvase la mezcla a un matraz de 100 ml. Lave bien el frasco con agua destilada y adicione las aguas de lavado al matraz. Añada 10.0 ± 0.1 ml de solución de ATA, enrase, tape y mezcle bien. Deposite la solución en un beaker (4.6), adicione alrededor de 6-8 g de tierra de infusorios lavada con ácido y mezcle bien. Filtre la mezcla a través de un embudo Büchner, utilizando vacío. Emplee los primeros 10-15 ml del filtrado para enjuagar el embudo y el colector.

5.3. Determinación. Con una bureta (o una pipeta graduada) de 25 ml añada 12.5 ml del filtrado a dos matraces de 25 ml, limpios y secos. Adicione lentamente, con una bureta de 50 ml, el etanol absoluto a uno de los matraces hasta el aforo (siempre añada el alcohol dentro de los 20 min después de añadir la solución de ATA), mientras lo hace agite el matraz mediante rotación suave (Evite la agitación vigorosa del matraz, ya que ésta puede provocar la coagulación de la dextrana). El tiempo consumido para añadir el alcohol oscilará entre 30 y 60 s. Después de enrasar mezcle el contenido del matraz, invirtiendo éste con suavidad tres veces. Comience a medir el tiempo tan pronto haya terminado de mezclar.

Al otro matraz adiciónale agua (3.1) hasta el enrase y mezcle. Esta constituye la solución del blanco-muestra. Aproximadamente a los 17-18 min después de enrasar y mezclar enjuague la celda de referencia tres veces con el blanco-muestra y llénela. De igual forma proceda con la otra celda, pero utilice la solución de ensayo. Limpie las caras ópticas de las celdas con papel y compruebe la ausencia de estrías. A los $20 \text{ min} \pm 10$ s después de enrasar y mezclar lea la absorbancia de la solución de ensayo tomando como referencia la del blanco-muestra. Haga la lectura a 720 nm y anote los resultados hasta 0.001 unidades de absorbancia. Inmediatamente después de leer inspeccione visualmente la cubeta de la muestra y si observa flóculos repita el análisis.

Si la turbiedad originada por la dextrana es más alta que la correspondiente al límite superior de la curva, repita la determinación diluyendo la muestra con la sacarosa (3.6), por ejemplo. 16.0 ± 0.1 g de la muestra con 16.0 ± 0.1 g de sacarosa (3.6). Exprese los resultados, en mg/kg.

Anexo 9. C33. Determinación turbidimétrica de dextrana en jugos

Reactivos: 1. Agua destilada o desionizada. 2. Etanol absoluto. 3. Tierra de infusorios (Kieselguhr) tratada con ácido (Vea C31). 4. Solución de ácido tricloroacético (ATA), aprox. 100 mg/ml (Vea C31) 5. Solución de referencia de dextrana, 0.8 mg/ml (Vea C31). 6. α -amilasa (Vea C31).

Utensilios e instrumentos: 1. Probeta de 50 ml. 2. Matraces aforados de 25, 100, 200 y 500 ml. 3. Pipetas de descarga total de 10 y 50 ml. 4. Pipetas graduadas de 1, 5, 10 y 25 ml. 5. Erlenmeyer de 100-250 ml, preferiblemente con tapa esmerilada. 6. Beaker no menor de 150 ml. 7. Embudo Büchner, ϕ aprox. 7 cm. 8. Bureta de 50 ml que aprecie 0.1 ml. 9. Papel de filtro cuantitativo de filtración lenta. 10. Desecadora (Vea A13). 11. Cronómetro. 12. Timer. 13. Balanza que aprecie 0.1 g. 14. Balanza que aprecie 0.1 mg. 15. Estufa. 16. Baños de agua, uno hirviente y otro entre 50-60° C. 17. Espectrofotómetro apropiado para medir absorbancia a 720 nm, con cubetas no menores de 2 cm. 18. Bomba de vacío.

Procedimiento 5.1. Curva de referencia. En 12 matraces de 25 ml (limpios y secos) deposite los volúmenes de la solución de referencia (3.5) y los de las restantes en el orden que aparecen en la siguiente tabla:

<i>Matraz No.</i>	<i>Sol. dext. 0.8 mg/ml (ml)</i>	<i>Sol. ATA (ml)</i>	<i>Agua (3.1) (ml)</i>	<i>Etanol (ml)</i>	<i>Conc. Dext. (mg/l)</i>
1	0.0	0.5	12.0	12.5	0
2	0.5	0.5	11.5	12.5	40
3	1.0	0.5	11.0	12.5	80
4	1.5	0.5	10.5	12.5	120
5	2.0	0.5	10.0	12.5	160
6	2.5	0.5	9.5	12.5	200
7	3.0	0.5	9.0	12.5	240
8	3.5	0.5	8.5	12.5	280
9	4.0	0.5	8.0	12.5	320
10	4.5	0.5	7.5	12.5	360
11	5.0	0.5	7.0	12.5	400
12	0.0	0.5	24.5	-	Blanco

Realice la adición del etanol con la bureta, mientras, mezcla mediante rotación suave (utilice entre 30 y 60 s para esta operación, inmediatamente después que finalice la adición del etanol, tape el matraz, mezcle invirtiéndolo tres veces y déjelo en reposo durante 20 min \pm 10 s.

Cuando falten 2 ó 3 min para completar el tiempo de reposo, enjuague y llene las celdas con las soluciones correspondientes para que a los 20 min exactos pueda leer la absorbancia, a 720 nm, utilizando como referencia el blanco. Lleve los valores obtenidos a un gráfico de absorbancia (ordenadas) en función de la concentración de dextrana (abscisas).

5.2. Preparación de la porción de ensayo: Mida el Brix de la muestra. Después deposite 50.0 ml en un beaker, adicione 10.0 ml de solución de ácido tricloroacético, agite y deje reposar 5 min. Añada 3.0 g de tierra de infusorios y agite suavemente. Coloque el papel de filtro sobre el embudo Büchner, humedézcalo, reduzca la presión para que se adhiera, filtre (añada la solución a presión atmosférica) y deseche los primeros 10 ml del filtrado.

5.3. Determinación. Tome dos matraces de 25 ml (limpios y secos), adicioneles 12.5 ml del filtrado anterior, a uno añada 12.5 ml de agua y homogeneícelo (esta es la solución que utilizará como blanco-muestra). Al otro, añada mientras agita mediante rotación suave, 12.5 ml de etanol, mezcle invirtiendo el matraz tres veces y realice la lectura exactamente a los 20 min ± 10 s, en celdas de 2 cm y a 720nm, utilice como referencia el blanco anteriormente preparado.

6.1. Cálculos. Calcule la concentración de dextrana (D) en la muestra, en g por 100° Bx, mediante:

$$D=0.024C/dBx$$

donde:

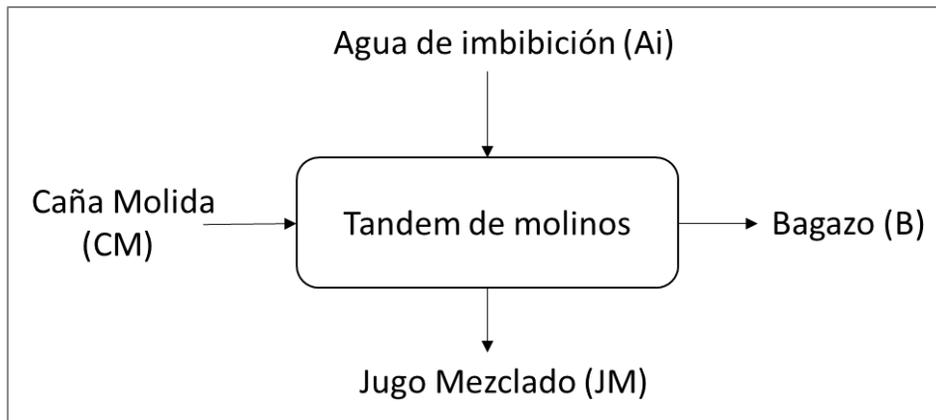
-C, es la concentración, en mg/l, de dextrana obtenida a través de la curva de referencia.

-0.024, es un factor que incluye la dilución de la porción de ensayo y la masa de muestra.

-d, es la densidad verdadera, en g/ml, (peso en el vacío de 1 ml de solución a 20° C) según tabla 13.

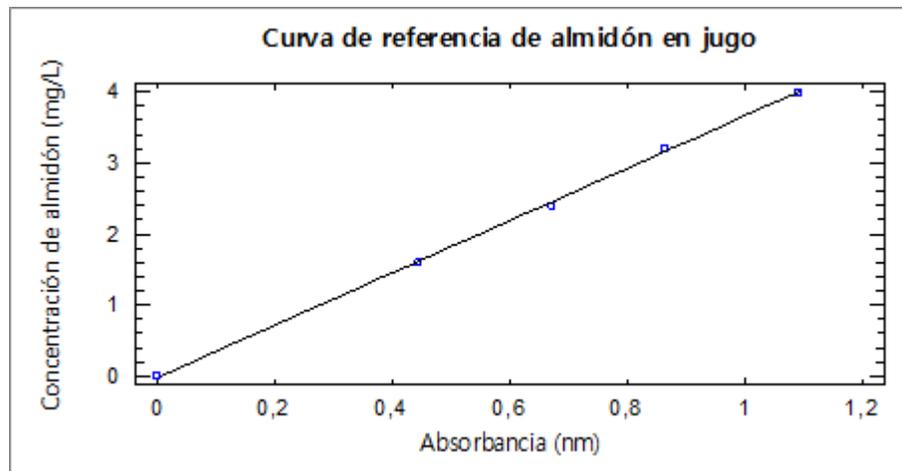
-Bx, son los sólidos disueltos, en °Bx, de la porción de ensayo (5.2).

Anexo 10. Esquema de la etapa de extracción y molienda del proceso



Anexo 11. Datos y construcción de las curvas de referencia de almidón en jugo.

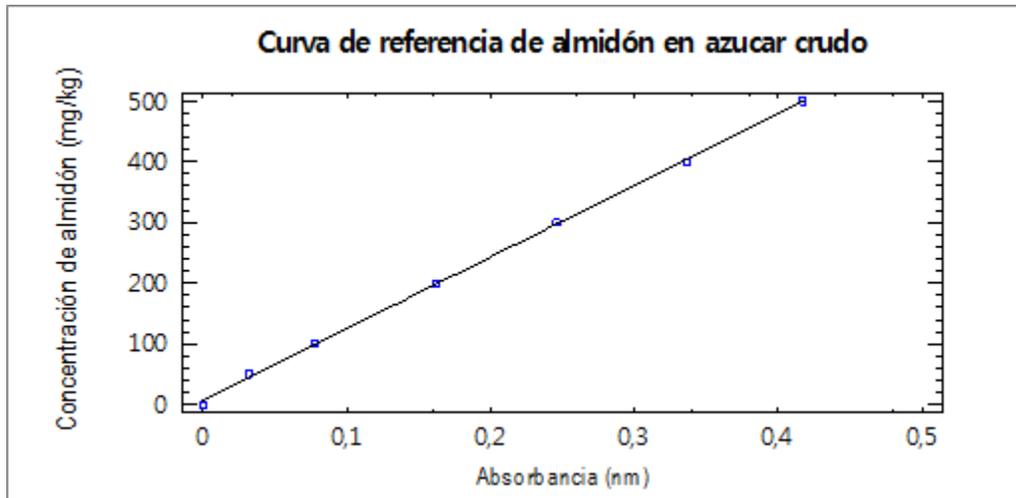
<i>Concentración de almidón [mg/mL]</i>	<i>Absorbancia [nm]</i>
0	0
1,6	0,4436
2,4	0,671
3,2	0,8633
4	1,0883



Curva de referencia de almidón en jugo

Anexo 12. Datos y construcción de las curvas de referencia de almidón en azúcar crudo.

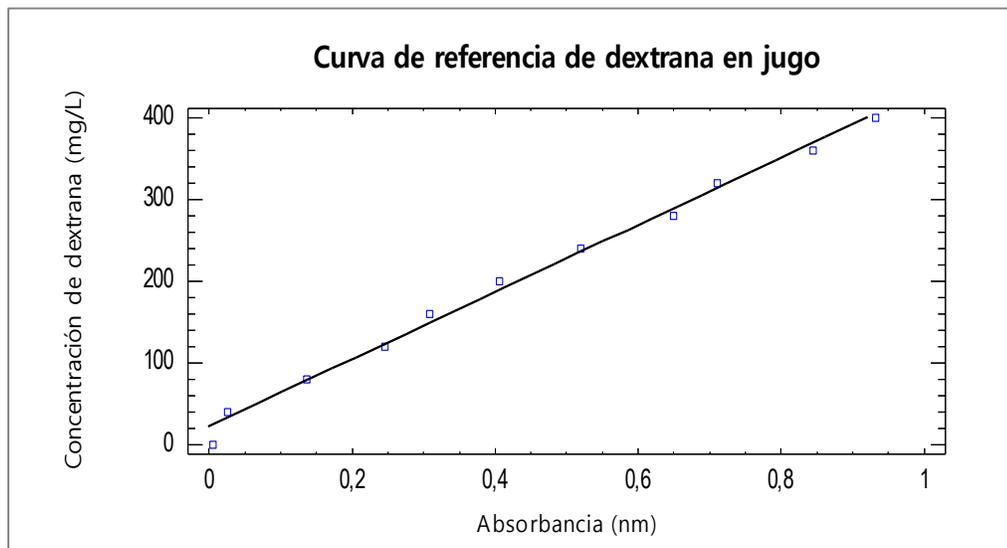
<i>Concentración de almidón [mg/kg]</i>	<i>Absorbancia[nm]</i>
0	0
50	0,032
100	0,078
200	0,162
300	0,246
400	0,336
500	0,417



Curva de referencia de almidón en azúcar crudo

Anexo 13. Datos y construcción de la curva de referencia de dextrana en jugo

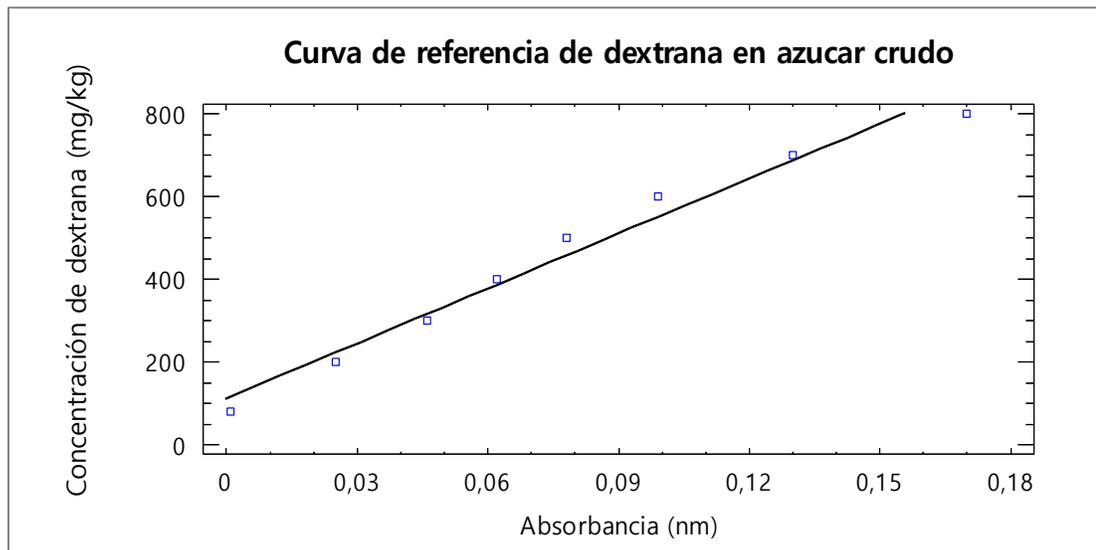
<i>Concentración de dextrana [mg/L]</i>	<i>Absorbancia [nm]</i>
0	0,005
40	0,025
80	0,137
120	0,246
160	0,309
200	0,406
240	0,52
280	0,65
320	0,71
360	0,845
400	0,932



Curva de referencia de dextrana en jugo

**Anexo 14. Datos y construcción de las curvas de referencia de dextrana en azúcar
crudo**

Concentración(mg/kg)	Absorbancia(nm)
80	0,001
200	0,025
300	0,046
400	0,062
500	0,078
600	0,099
700	0,13
800	0,17



Curva de referencia de dextrana en azúcar crudo

Anexo 15. Resultados de absorbancia y concentración de almidón a partir de las curvas de calibración

Exp	Jugo primario		Jugo diluido		Jugo mezclado	
	Abs.[nm]	Alm. [mg/L]	Abs.[nm]	Alm. [mg/L]	Abs.[nm]	Alm. [mg/L]
1	0,1205	0,42323533	0,1075	0,37530355	0,0975	0,33843295
2	0,1343	0,474116758	0,1376	0,486284056	0,1256	0,442039336
3	0,053	0,17435878	0,123	0,43245298	0,1453	0,514674418
4	0,099	0,34396354	0,1346	0,475222876	0,0473	0,153342538
5	0,06	0,2001682	0,0716	0,242938096	0,048	0,15592348

Exp	Jugofiltrado		Jugoclarificado		Meladura	
	Abs.[nm]	Alm. [mg/L]	Abs.[nm]	Alm. [mg/L]	Abs.[nm]	Alm. [mg/L]
1	0,2405	0,86568253	0,0345	0,10614817	0,104	0,36239884
2	0,12	0,4213918	0,0476	0,154448656	0,1103	0,385627318
3	0,199	0,71266954	0,0533	0,175464898	0,126	0,44351416
4	0,284	1,02606964	0,013	0,02687638	0,169	0,60205774
5	0,259	0,93389314	0,0183	0,046417798	0,0933	0,322947298

Exp	Miel A		Miel B		Miel C	
	Abs.[nm]	Alm. [mg/L]	Abs.[nm]	Alm. [mg/L]	Abs.[nm]	Alm. [mg/L]
1	0,107	0,37346002	0,136	0,48038476	0,125	0,4398271
2	0,1056	0,368298136	0,148	0,52462948	0,2046	0,733317076
3	0,096	0,33290236	0,2006	0,718568836	0,2316	0,832867696
4	0,143	0,50619418	0,1106	0,386733436	0,2123	0,761707438
5	0,0866	0,298243996	0,0843	0,289763758	0,1456	0,515780536

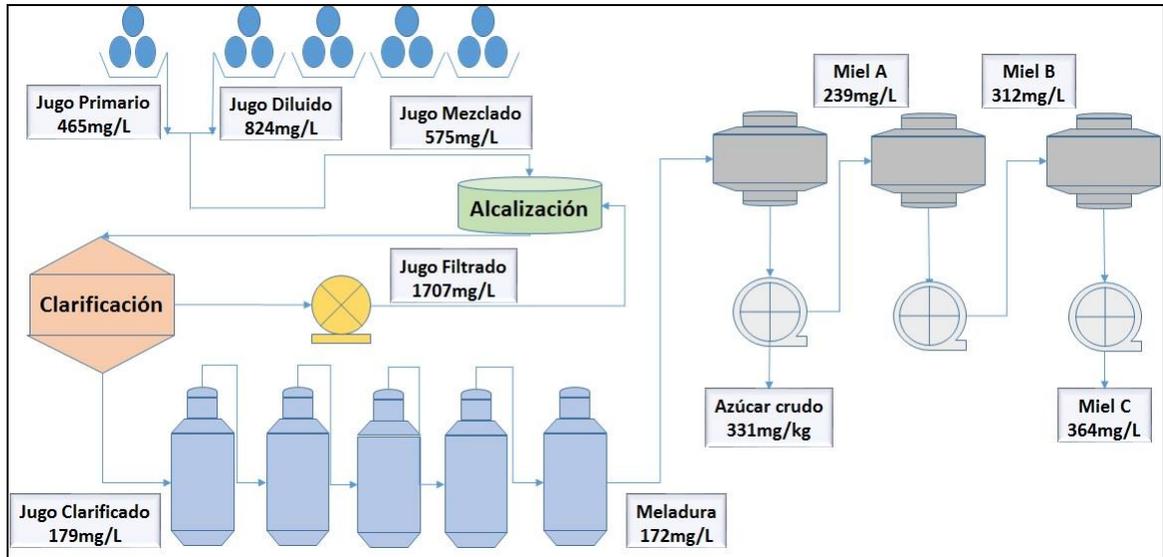
Anexo 17. Concentración de almidón en las corrientes del proceso

<i>D</i>	<i>Concentración de almidón en jugo [mg/mL] y azúcar crudo [mg/kg]</i>									
	<i>Jugo primario</i>	<i>Jugo diluido</i>	<i>Jugo mezclado</i>	<i>Jugo filtrado</i>	<i>Jugo clarificado</i>	<i>Meladura</i>	<i>Miel A</i>	<i>Miel B</i>	<i>Miel C</i>	<i>Azúcar crudo</i>
1	229	916	932	1535	308	184	214	451	465	523
2	278	510	290	2030	84	131	187	180	274	249
3	491	973	266	2250	46	241	322	243	420	31
4	622	710	604	1834	188	149	236	296	249	490
5	705	1013	783	885	268	153	237	389	415	361

Anexo 18. Caracterización estadística de la concentración de almidón en las corrientes del proceso

<i>Parámetros</i>	<i>Jugo primario</i>	<i>Jugo diluido</i>	<i>Jugo mezclado</i>	<i>Jugo filtrado</i>	<i>Jugo clarificado</i>
Media	465	824	575	1707	179
Varianza	43447	44468	87054	280029	12879
Desviación estándar	208,44	210,87	295,05	529,17	113,48
Coefficiente skewness	-0,08	-0,88	0,02	-0,93	-0,08
Coefficiente kurtosis	-1,15	-0,25	-1,10	0,38	-1,10
	<i>Meladura</i>	<i>Miel A</i>	<i>Miel B</i>	<i>Miel C</i>	<i>Azúcar final</i>
Media	172	239	312	364	331
Varianza	1886	2545	11921	9349	39947
Desviación estándar	43,43	50,45	109,18	96,69	199,87
Coefficiente skewness	1,19	1,20	0,16	-0,41	-0,77
Coefficiente kurtosis	0,67	1,13	-0,69	-1,26	-0,02

Anexo 19. Registro del almidón en el proceso de producción de azúcar crudo



Anexo 20. Desdoblamiento de los almidones en azúcar crudo con alfa amilasa

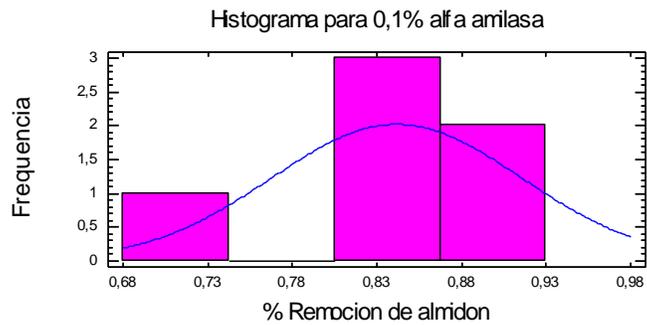
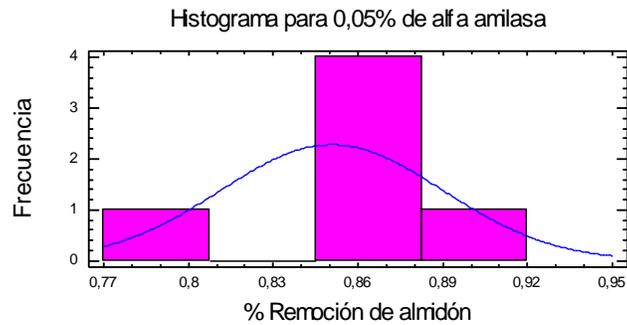
<i>Experimentos</i>	<i>Nivel de alfa amilasa [g]</i>					
	<i>0</i>	<i>0,05</i>	<i>0,10</i>	<i>0,15</i>	<i>0,20</i>	<i>0,25</i>
	<i>Contenido de almidón [mg/kg]</i>					
1	310	44	42	42	40	30
2	360	50	50	45	40	80
3	360	37	60	50	30	42
4	400	60	120	38	70	80
5	450	100	40	30	45	50
6	500	70	60	52	40	85
Media	396,66	60,16	62,00	42,83	44,16	61,16

Anexo 21. Prueba de Normalidad para los resultados de la Remoción de almidón con alfa amilasa

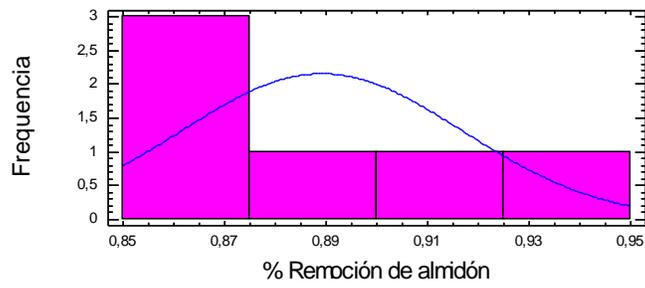
Primera Prueba

Parámetros	Nivel alfa amilasa [%]				
	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25
	Remoción de almidón [%]				
Std. skewness	-1,40443	-1,80697	0,712455	-1,20166	-0,318784
Std. kurtosis	1,70239	1,89709	-0,222334	0,641446	-1,07512

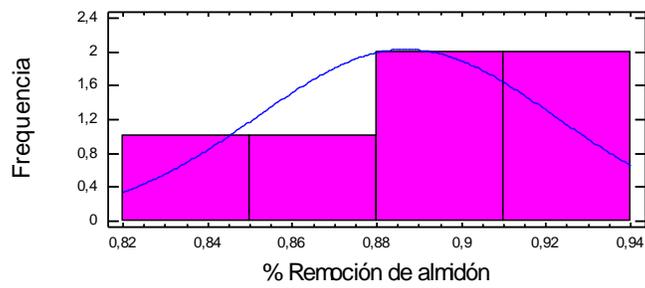
Segunda Prueba



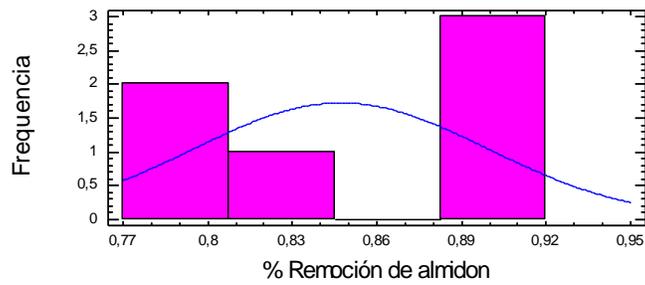
Histogram para %0,15 alfa amilasa



Histograma para 0,2% alfa amilasa



Histograma para 0,25% alfa amilasa



Anexo 22. Influencia del desdoblamiento en el contenido de cenizas del azúcar crudo

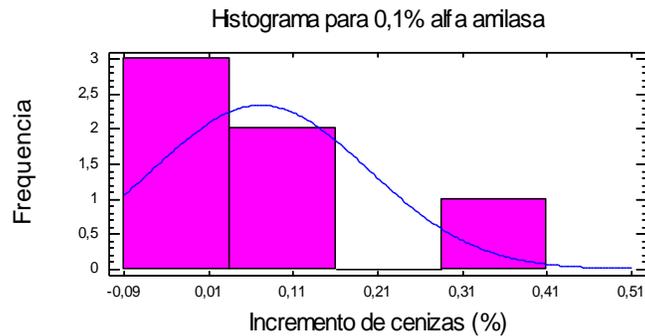
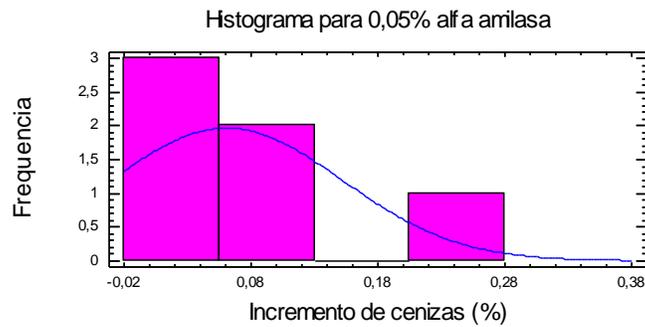
<i>Experimentos</i>	<i>Nivel de alfa amilasa [g]</i>					
	<i>0</i>	<i>0,05</i>	<i>0,10</i>	<i>0,15</i>	<i>0,20</i>	<i>0,25</i>
	<i>Contenido de cenizas [%]</i>					
1	0,17	0,21	0,22	0,23	0,24	0,24
2	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16
3	0,16	0,16	0,15	0,16	0,17	0,17
4	0,16	0,17	0,17	0,17	0,18	0,18
5	0,18	0,18	0,18	0,18	0,19	0,19
6	0,15	0,16	0,17	0,16	0,17	0,17
Media	0,16	0,17	0,17	0,17	0,18	0,18

Anexo 23. Prueba de Normalidad para los resultados del incremento de cenizas con el desdoblamiento

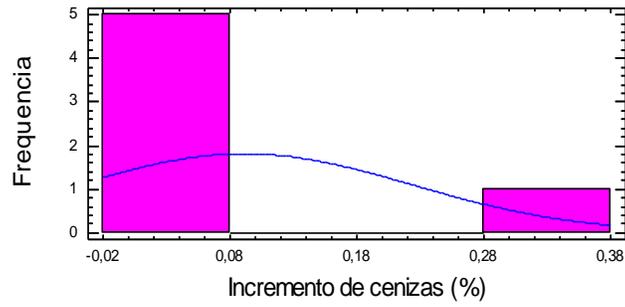
Primera Prueba

Parámetros	Nivel alfa amilasa [%]				
	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25
	Incremento de cenizas [%]				
Std. skewness	1,83824	1,17818	2,12331	2,13284	2,13284
Std. kurtosis	1,78093	0,621215	2,42074	2,37488	2,37488

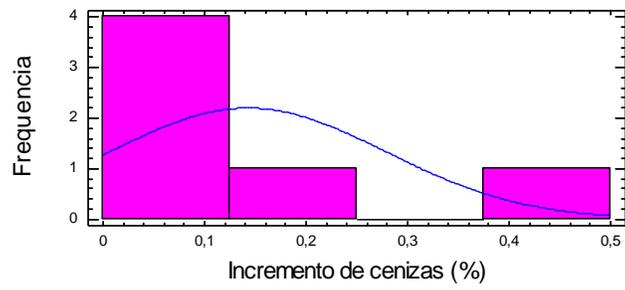
Segunda Prueba



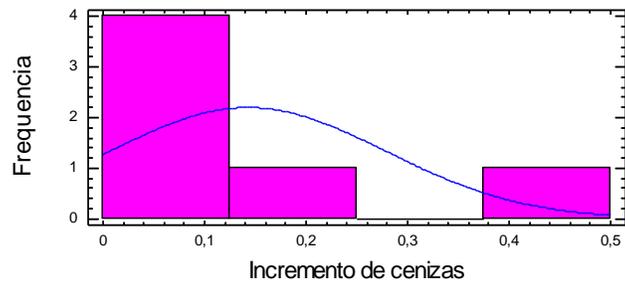
Histograma para 0,15% alfa amilasa



Histograma para 0,2% alfa amilasa



Histograma para 0,25% alfa amilasa



Anexo 24. Influencia del desdoblamiento en el color del azúcar crudo

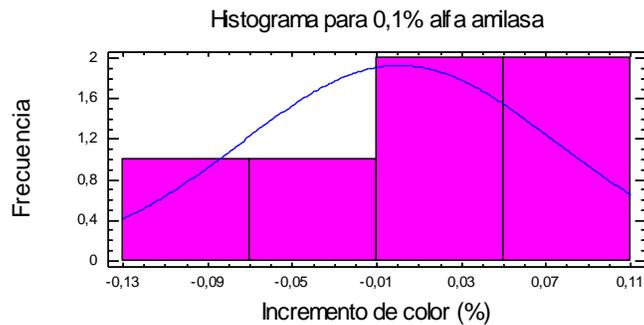
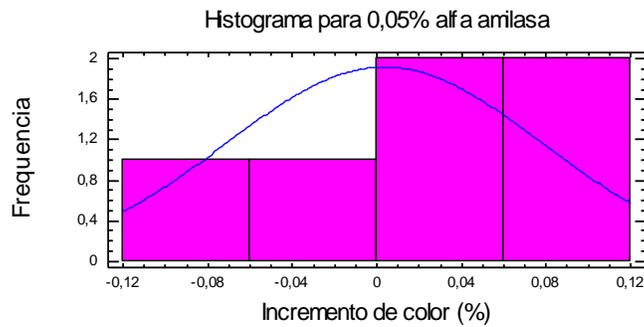
<i>Experimentos</i>	<i>Nivel de alfa amilasa [%]</i>					
	<i>0</i>	<i>0,05</i>	<i>0,1</i>	<i>0,15</i>	<i>0,2</i>	<i>0,25</i>
	<i>Color [UH]</i>					
1	10,77	9,6	9,48	9,52	9,54	9,62
2	7,78	7,87	7,81	7,78	7,83	7,81
3	8,29	8,91	8,84	8,81	8,81	8,86
4	8,97	9,73	9,71	9,66	9,69	9,9
5	11,22	10,59	11,37	11,5	11,38	11,9
6	8,69	8,82	8,31	8,31	8,31	8,39
Media	9,28	9,25	9,25	9,26	9,26	9,41

Anexo 25. Prueba de Normalidad para los resultados del incremento de color con el desdoblamiento

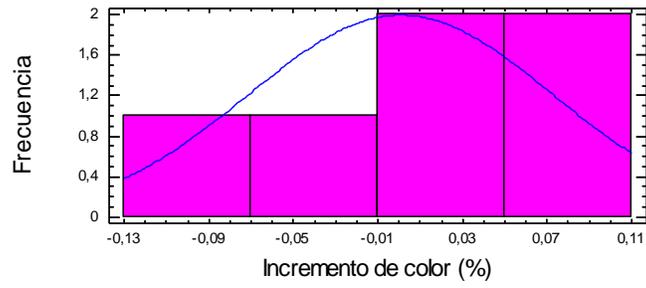
Primera Prueba

Parámetros	Nivel alfa amilasa [%]				
	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25
	Incremento de color [%]				
Std. skewness	-0,519224	-0,715681	-0,800223	-0,721443	-0,679996
Std. kurtosis	-0,444993	0,0415921	0,00476367	0,00666952	-0,2124

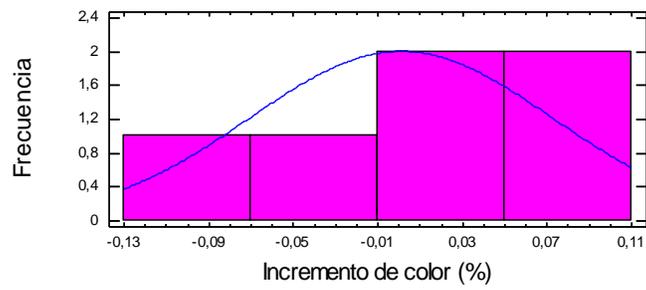
Segunda Prueba



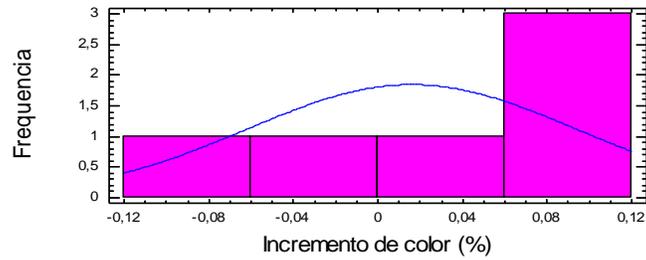
Histograma para 0,15% alfa amilasa



Histograma para 0,2% alfa amilasa



Histograma para 0,25% alfa amilasa



Anexo 26. Influencia del desdoblamiento en los azúcares reductores

<i>Experimentos</i>	<i>Nivel de alfaamilasa [g]</i>		
	<i>0</i>	<i>0,05</i>	<i>0,25</i>
	<i>Azúcares reductores [%]</i>		
1	0,06	0,08	0,09
2	0,075	0,08	0,1
3	0,05	0,06	0,08
4	0,05	0,08	0,09
5	0,05	0,06	0,09
Media	0,057	0,072	0,09

Anexo 27. Prueba de Normalidad para los resultados del incremento de azúcares reductores con el desdoblamiento

Primera Prueba

Parámetros	Nivel alfa amilasa[%]	
	0,05	0,25
	Incremento de reductores [%]	
Std. skewness	1,02066	-0,338655
Std. kurtosis	0,664377	-0,651961

Segunda Prueba

