

Influencia del tiempo de licuefacción y concentración de alfa amilasa y glucoamilasa sobre el porcentaje de glucosa obtenido del maíz amarillo malteado variedad alazán

Marcos G. García P. ¹

RESUMEN

Con la finalidad de obtener un jarabe de maíz rico en glucosa por hidrólisis enzimática se evaluó el tiempo de licuefacción y concentración de alfa-amilasa y glucoamilasa sobre el porcentaje de glucosa obtenido a partir del maíz malteado variedad Alazán. Para tal fin se utilizó maíz malteado conocido como “jora” que se utiliza para la obtención del licor denominado “chicha de jora”. Las amilasas comerciales utilizadas fueron: Liquozyme SC 4X (alfa-amilasa) y Spirizyme[®] Ultra (glucoamilasa) del fabricante Novozymes. Los tiempos de licuefacción fueron 20, 50 y 80 minutos; las concentraciones de alfa-amilasa 0.06, 0.075 y 0.09 gr de enzima por Kg de maíz. Para la glucoamilasa se empleó 0.35, 0.40 y 0.50 gr de enzima. Para cada ensayo se utilizó un Kg de maíz germinado seleccionado y limpio, que después de molido se mezcló con 4 Kg de agua y se procedió a la gelatinización, licuefacción y sacarificación. Por optimización se obtuvo que la mejor combinación de las variables fue: 80 minutos de licuefacción, 0.06 gramos de alfa amilasas por Kg de maíz, y 0.4238 gr de glucoamilasa. El máximo rendimiento obtenido en base al teórico fue 92% y se obtuvo un mosto con un DE igual a 92.42. Además se demostró que el maíz malteado tiene mejores condiciones para obtener un mosto con alto contenido de glucosa, con menor tiempo de licuefacción y con menor consumo de amilasas, si se compara con el maíz sin germinar.

Palabras clave: Tiempo de licuefacción, alfa amilasa, glucoamilasa, porcentaje de glucosa maíz alazán.

ABSTRACT

In order to obtain a glucose-rich corn syrup by enzymatic hydrolysis, the liquefaction time and concentration of alpha-amylase and glucoamylase were evaluated on the percentage of glucose obtained from the malted corn Alazán variety. For this purpose, malted corn known as "jora" was used to obtain the liquor called "chicha de jora". The commercial amylases used were: Liquozyme SC 4X (alpha-amylase) and Spirizyme[®] Ultra (glucoamylase) from the patent Novozymes. The liquefaction times were 20, 50 and 80 minutes; the alpha-amylase concentrations 0.06, 0.075 and 0.09 gr of enzyme per Kg of corn. For glucoamylase 0.35, 0.40 and 0.50 gr of enzyme were used. For each test, a selected and clean Kg of germinated maize was used, which after grinding was mixed with 4 Kg of water and gelatinization, liquefaction and saccharification proceeded. By optimization it was obtained that the best combination of the variables was: 80 minutes of liquefaction, 0.06 grams of alpha amylases per kg of corn, and 0.4238 grams of glucoamylase. The maximum yield obtained based on the theoretical was 92% and a must was obtained with an SD equal to 92.42. It was also shown that malted corn has better conditions to obtain a must with high glucose content, with less liquefaction time and with less amylases consumption, when compared with ungerminated corn.

Key words: Liquefaction time, alpha amylase, glucoamylase, glucose percentage, Alazan corn.

INTRODUCCIÓN

Los azúcares, en especial la glucosa se ha convertido por muchos años en un insumo industrial para la obtención de productos de uso masivo como el etanol, ácido cítrico, ácido acético y otros; así como de productos químicos especiales como aminoácidos, glutamato monosódico, sorbitol, ácido glucónico, ácido láctico, 1,3-propanodiol, antibióticos, enzimas, bio-farmacéuticos (anticuerpos, ácidos nucleicos, insulina), plásticos, y varios más (Li, et al., 2010). La fuente de glucosa más utilizada a nivel mundial son las melazas, residuos de la industria azucarera tanto de caña de azúcar como de remolacha. La razón principal es que las melazas son sustratos complejos que se pueden usar en distintas fermentaciones para obtener productos especiales, entendiendo como sustrato complejo, aquel que no solo proporciona azúcares, sino que también tiene algunas otras sustancias, como vitaminas del grupo B y abundantes minerales, que sirven de alimento para los microorganismos productores de sustancias químicas especiales (Fajardo C. & Sarmiento F.; 2007). Sin embargo, en el mercado internacional, las melazas tienen cuatro usos básicos: alimento animal, la producción de etanol, reprocesamiento industrial para extraer el

azúcar contenido en ella, y las producciones industriales como: levadura, ácido cítrico, lisina, entre otros. Los ingenios azucareros en su mayor parte tienen una destilería anexa donde consumen su melaza producida (Nova 2010). Esto hace que la melaza sea escasa para ser usada como fuente de glucosa para producir otros productos químicos especiales que cada vez son más importantes, como por ejemplo para la producción de ácido láctico, que a su vez sirve para producir plásticos biodegradables.

Una fuente alternativa para la producción de glucosa a nivel industrial es el almidón contenido en el trigo, maíz o yuca. Para este fin, el almidón es previamente separado y purificado de las fuentes mencionadas, luego se somete a procesos cuya tecnología es bien conocida y utilizada, y que comprende en resumen tres etapas: gelatinización, licuefacción y sacarificación. En la etapa de licuefacción se utiliza la alfa amilasa y en la sacarificación para obtener glucosa se utiliza la enzima glucoamilasa, llamada también amiloglicosidasa. De esta forma se obtiene por ejemplo jarabe de maíz rico en fructosa (Mera I., *et al* 2003). La cantidad de amilasas (alfa amilasa y glucoamilasa) para obtener

glucosa de almidones purificados es especificada genéricamente por los fabricantes de estas enzimas. Es importante indicar que cada tipo de almidón tiene diferente comportamiento en el procesamiento industrial que es necesario investigar. No obstante, el mosto obtenido de la sacarificación de almidones de alta pureza no es un sustrato complejo adecuado para utilizarlo en fermentaciones industriales para la obtención de productos químicos especiales. Un sustrato complejo se puede obtener de la sacarificación del almidón contenido en el grano entero de maíz o trigo, o de la yuca entera. Las cantidades de amilasas para procesar el almidón contenido en los granos de maíz también es recomendado en forma aproximada por los fabricantes de dichas enzimas (Novozymes, 2012).

Una técnica para mejorar las etapas de gelatinización y licuefacción del almidón del maíz completo es germinar en forma controlada el maíz. Con este proceso de germinación controlada se obtiene maíz malteado; éste tiene diferentes propiedades que el maíz sin maltear. Comparado con el maíz sin maltear, la harina de maíz malteado forma pastas con menor viscosidad, tiene un mejor índice de solubilidad en agua y un mejor índice de absorción de agua. Adicionalmente el maíz malteado tiene

un mayor contenido de alfa-amilasa que un maíz sin maltear. Todos esos beneficios permite que después de la licuefacción del almidón se tenga un cocimiento con menor viscosidad lo cual facilitará la etapa de sacarificación con la glucoamilasa (Singh T. & Bains G.; 2004). En nuestro país, es tradicional utilizar maíz amarillo variedad Alazán germinado para la obtención de una bebida fermentada conocida como “chicha”. El utilizar harina de maíz malteado para obtener un sustrato complejo con alto contenido de glucosa cambiará las dosis de amilasas y las condiciones de operación, como tiempo de licuefacción y temperatura, para sacarificar el almidón contenido en el grano de maíz malteado. Por tales razones en este trabajo de investigación se plantea como objetivo principal determinar el efecto del tiempo de licuefacción y sacarificación) y de la concentración de amilasas (alfa amilasa y glucoamilasa) sobre el porcentaje de glucosa obtenida a partir del maíz amarillo variedad Alazán; como objetivos específicos se ha proyectado: (a) determinar el tiempo recomendable para la etapa de licuefacción y las concentraciones aceptables de amilasas para la lograr la mayor producción de glucosa a partir del almidón de maíz malteado variedad Alazán; (b) determinar

el rendimiento de producción de glucosa a partir de maíz malteado variedad Alazán con el uso de amilasas, y (c) optimizar las condiciones de operación para lograr el máximo rendimiento de glucosa. La culminación de los objetivos planteados permitirá tener una fuente alternativa de un sustrato complejo basado en glucosa que servirá

como insumo para las producciones de productos químicos especiales que demanda el mercado nacional e internacional. Este estudio también sirve como base para otros estudios de obtención de glucosa de otras fuentes primarias de almidón como yuca, papa, camote, plátano, cebada, trigo, y otros.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se adquirió un lote de 60 Kg maíz amarillo germinado variedad Alazán que se expende en los mercados para la elaboración de la bebida peruana conocida como “chicha de jora” para su respectiva selección, eliminación de raicillas y limpieza. La muestra para cada ensayo estuvo constituida por 1 Kg de maíz amarillo germinado totalmente limpio. Según el diseño se trabajó con 13 combinaciones y tres repeticiones cada una, haciendo un total de 39 ensayos.

Procedimiento para la obtención de jarabe glucosado:

El maíz germinado seleccionado y limpio, se sometió primero a una molienda en un molino de rodillos, modelo MG-475 (de Industrias Maguiña) operado con un motor de 2.5 HP hasta lograr un tamaño de 80 mesh. Con el maíz molido se preparó una masa con agua en la proporción de 4 kg de agua

por 1 kg de maíz germinado molido. La masa preparada se comenzó a calentar con agitación hasta alcanzar una temperatura de 105°C, la cual se mantuvo por 20 minutos. Se utilizó un depósito de 8 litros de capacidad. En esta etapa de gelatinización se obtuvo una mezcla pastosa. Transcurrido el tiempo de gelatinización se pasó a la etapa de licuefacción para lo cual se dejó enfriar la masa a 90°C, se adicionó lechada de cal diluida a 3°Be para ajustar el pH a 6.5 y se mantuvo la temperatura y agitación por tres tiempos diferentes (20, 50 y 80 minutos). Al iniciar la etapa de licuefacción se adicionó alfa-amilasa comercial de Novozymes en tres proporciones diferentes (0.06, 0.075 y 0.09 gramos de enzima por kilogramo de maíz). Terminada la etapa de licuefacción, se realizó la sacarificación de la mezcla. Para tal fin se disminuyó la

temperatura a 60°C y se reguló el pH con ácido cítrico a 4.5 e inmediatamente se adicionó la dosis de la enzima glucoamilasa comercial llamada Spirizyme® Ultra, que también fueron tres dosis diferentes (0.35, 0.40 y 0.45 gramos de enzima por kilogramo de maíz). Se mantuvo a 60°C con agitación magnética por 24 horas. El mosto obtenido, después de enfriado se separó la parte superior constituida en su mayor parte por aceite del maíz y luego se pasó por filtrado en tela de tocuyo para separar restos de fibra y gluten que se forma por la presencia de proteínas. Finalmente se obtuvo un mosto glucosado que se envió al análisis de laboratorio para determinar el contenido de glucosa.

Recolección de información:

El método utilizado para la recolección de datos fue la observación estructurada, realizándose el registro sistemático en cuadros de comportamiento de las variables estudiadas. El cuadro empleado fue el que corresponde al diseño Box- Behnken. Cada combinación se repitió tres veces, por lo que se obtuvo tres valores de Y (concentración de glucosa en el mosto) para cada combinación. -1 corresponde al valor más bajo, 0 al valor medio y 1 al valor más alto de cada variable independiente.

Procesamiento y análisis de la información:

Para procesar los resultados obtenidos, se utilizó el cuadro del diseño de Box – Behnken. Los resultados se introdujeron al programa estadístico IBM-SPSS versión 19, para realizar un análisis factorial de la varianza. Con el programa Polymath 6.1, se buscó una ecuación que represente el comportamiento de las tres variables independientes ensayadas sobre la variable dependiente (concentración de glucosa en el mosto). Finalmente con la ecuación encontrada se utilizó el programa Mathcad para optimizar la variable dependiente y buscar los mejores valores de las variables independientes que produzcan el valor más alto de la variable dependiente. Para cada combinación se realizó tres repeticiones y por lo tanto según el diseño de Box – Behnken se obtuvieron 39 resultados. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis factorial de varianza para determinar el efecto individual y en conjunto de las tres variables independientes ensayadas sobre la variable dependiente. Además de este análisis se empleó un análisis multivariado para determinar la mejor diferencia entre las variables ensayadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de almidón en el maíz malteado:

La determinación del contenido de almidón en el maíz amarillo germinado (malteado) variedad Alazán se realizó por duplicado obteniéndose un promedio de 60.43% en base húmeda (Tabla 1). El valor encontrado es ligeramente menor que el promedio de un maíz amarillo duro que llega a mínimo 62% y puede alcanzar hasta 68%. Esto se debería a que durante la germinación comienza la degradación del almidón, primero lentamente, y luego de una forma rápida que termina prácticamente con la desaparición del polisacárido. En el maíz malteado que se utiliza para la producción de la bebida peruana conocida como “chicha de jora” la germinación es controlada y terminada cuando apenas aparecen las raicillas del

embrión y por lo tanto el consumo de almidón es mínimo (Barceló, J. et al., 2004).

Contenido de glucosa en el mosto preparado:

En la Tabla 2 se resume los promedios del porcentaje de glucosa en el mosto preparado en esta investigación. El porcentaje esta expreso en masa/masa y se representa como Y. La variable tiempo de licuefacción se representa como X1, la concentración de alfa amilasa como X2 y la concentración de glucoamilasa como X3.

Para determinar la influencia de las variables ensayadas sobre el porcentaje de glucosa en el mosto se realizó un análisis factorial de varianza que se muestra en la Tabla 3. Los resultados se obtuvieron con el programa estadístico IBM-SPSS versión 19.

Tabla 1. Contenido de almidón (%) en el maíz amarillo malteado variedad Alazán.

Ensayo	% almidón, bh
1	59.72
2	59.04
Promedio	59.38

Fuente: Elaboración Propia

Tabla 2. Porcentajes promedios de glucosa en el mosto obtenido de maíz malteado variedad Alazán en función del tiempo de licuefacción, concentración de alfa-amilasa y concentración de glucoamilasa.

<i>Ensayo</i>	<i>X1</i> <i>Tiempo de</i> <i>licuefacción</i> <i>(minutos)</i>	<i>X2</i> <i>Concentración</i> <i>Alfa-amilasa</i> <i>(gr enzima/kg de maíz)</i>	<i>X3</i> <i>Concentración</i> <i>Glucoamilasa</i> <i>(gr enzima/kg maíz)</i>	<i>Y</i> <i>% glucosa</i> <i>en el mosto</i>
1	20	0.060	0.40	10.667
2	80	0.060	0.40	12.800
3	20	0.090	0.40	12.733
4	80	0.090	0.40	13.966
5	20	0.075	0.35	11.533
6	80	0.075	0.35	12.333
7	20	0.075	0.45	11.867
8	80	0.075	0.45	13.433
9	50	0.060	0.35	11.067
10	50	0.090	0.35	12.100
11	50	0.060	0.45	12.700
12	50	0.090	0.45	14.233
13	50	0.075	0.40	12.633

Fuente: Elaboración Propia

Calculando la raíz cuadrada de “R cuadrado” se obtiene $R = 0.97$, indicando que el modelo ensayado se correlaciona muy bien con los datos experimentales obtenidos y por lo tanto le da validez y confiabilidad a la investigación. Del análisis factorial de varianza y por el valor de significancia menor 0.05 se puede asegurar que las variables independientes ensayadas influyen significativamente, con una confianza de 95%, sobre la variable dependiente (% de glucosa en el mosto). Por el valor de F, la variable que tiene un mayor efecto sobre el porcentaje de glucosa en el mosto es el

tiempo, seguido de la concentración de alfa-amilasa y finalmente la concentración de glucoamilasa. Respecto al efecto combinado de dos variables independientes, la combinación concentración de alfa-amilasa y concentración de glucoamilasa no tuvo efecto significativo sobre la concentración de glucosa en el mosto obtenido. Las otras combinaciones tiempo de licuefacción y concentración de alfa-amilasa, y tiempo de licuefacción – concentración de glucoamilasa si tuvieron efecto significativo sobre el

porcentaje de glucosa en el mosto obtenido. Finalmente la combinación de los tres factores si tuvo efecto significativo sobre la variable dependiente. Respecto al porcentaje de glucosa en el mosto obtenido en cada ensayo, se tiene que el mayor valor es de 14.233% que corresponde a la combinación de 50 minutos de tiempo de licuefacción, 0.090 gr de alfa-amilasa por kg de maíz procesado y 0.45 gr de glucoamilasa por kg de maíz procesado. Es notorio que un valor cercano (13.966%) se obtuvo con una

combinación similar, donde solo cambia el tiempo de licuefacción empleado que para el caso fue 80 minutos. Esto demuestra que el tiempo de licuefacción tiene una marcada influencia sobre el rendimiento total. Con el valor más alto se obtuvo un rendimiento respecto al teórico de 92.0%, valor aceptable y cercano logrado por otros autores. El valor más bajo obtenido fue 10.667 % de glucosa en el mosto que equivale a un rendimiento de 68.953% respecto al teórico.

Tabla 3. Análisis factorial de varianza de la variable porcentaje de glucosa en los grupos establecidos por las combinaciones de las variables tiempo de licuefacción, concentración de alfa-amilasa y concentración de glucoamilasa.

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
PORCENTAJE DE GLUCOSA EN EL MOSTO					
Origen	Suma de cuadrados tipo II	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	31,357 ^a	12	2,61	36,138	,000
Intersección	5856,113	1	5856,11	80988,798	,000
Tiempo	12,615	1	12,61	174,463	,000
alfaamilasa	9,375	1	9,37	129,654	,000
glugoamilasa	3,682	1	3,68	50,917	,000
tiempo * alfaamilasa	,653	1	,65	9,035	,006
tiempo * glugoamilasa	1,203	1	1,20	16,642	,000
alfaamilasa * glugoamilasa	,000	1	,00	,000	1,000
tiempo * alfaamilasa * glugoamilasa	,000	0	.	.	.
Error	1,880	26	,07		
Total	5889,350	39			
Total corregida	33,237	38			

a. R cuadrado = .943 (R cuadrado corregida = .917)

Fuente: Elaboración Propia

Lo notorio de los resultados obtenidos fue que con un tiempo de 50 minutos, o de 80 minutos de licuefacción se logró un rendimiento muy aceptable. Estos tiempos obtenidos son menores que los tiempos empleados por otros autores, que recomiendan tiempos no menores de 90 minutos para licuefacción, como por ejemplo Slominska, quien obtuvo resultado óptimos de licuefacción de almidón de maíz a 91.3°C (Slominska, 2003). La razón principal se debería a que el maíz malteado o germinado sufre cambios favorables que producen mejoras en las etapas de gelatinización y licuefacción del almidón. Según Lukov & Bushuk, 2004, el maíz germinado produce una harina con una mayor índice de solubilidad en agua (WSI), así como un mayor índice de absorción de agua (WAI), acompañado de una menor viscosidad de pastas formadas con agua. Según los autores esto es una consecuencia de que durante la germinación se forman compuestos de menor peso molecular que favorece en la disminución de la viscosidad de las pastas formadas durante las etapas de gelatinización y licuefacción con alfa-amilasa. La mayor exposición del almidón para realizar la hidrólisis del almidón dependen básicamente de los

mayores valores de WSI y WAI (Lukov & Bushuk, 2004).

Tomando el mayor valor obtenido (14.233 % de glucosa) y calculando la dextrosa equivalente (DE) se obtuvo un valor de 92.42%. Con el menor valor obtenido (10.667% de glucosa) se obtuvo un valor de DE igual a 73.56%. El grado de DE logrado es mayor que el que se logra por hidrólisis ácida de almidón a temperaturas altas, donde se ha reportado DE aproximado de 55, el cual es un valor muy bajo, además que se produce sabores indeseables (Sims & Cherday, 2002). De acuerdo a Corn Refiners Association, Inc (2002) el jarabe de maíz se clasifica en cuatro tipos basado sobre DE: tipo 1: 20-38 DE, tipo 2: 38 – DE, tipo 3: 58 – 73 De, y tipo 4: más de 73 DE. Entonces el producto obtenido corresponde a un jarabe de maíz tipo 3.

De los resultados obtenidos con el análisis factorial de varianza, que indica que el tiempo de licuefacción es el factor que más influyo sobre el porcentaje de glucosa en el mosto obtenido, y que además la combinación de concentración de alfa-amilasa y glucoamilasa no tiene influencia sobre el porcentaje de glucosa, demuestra que la etapa más principal para obtener buenos resultados es la etapa de licuefacción. Esto se debería a lo que se comentó anteriormente sobre que

la licuefacción permite exponer mejor al almidón para el ataque enzimático por las amilasas. Otro punto importante que se debe considerar que se trabajó con dosis menores que las recomendadas por el fabricante. Por ejemplo con la alfa amilasa el fabricante recomienda 0.1 gramos de enzima por kg de maíz; y se obtuvo buenos resultados con una dosis de 0.09. En el caso de la glucoamilasa el fabricante recomienda un máximo de 0.56 gramos de enzima por kilogramo de maíz, y se obtuvo buenos resultados con una dosis de 0.50. Estos resultados demuestran que el maíz malteado o germinado presenta mejores características fisicoquímicas para realizar la hidrólisis enzimática del almidón de maíz (Mora-Escobedo et al, 1991).

Optimización de la producción de glucosa

Para optimizar la producción de glucosa por hidrólisis enzimática del almidón de maíz amarillo malteado variedad Alazán se utilizó dos programas de matemática: el Polymath 6.1 y Mathcad 14. Con el Polymath se obtuvo una ecuación que representa el porcentaje de glucosa en el mosto obtenido (Y) en función del tiempo de licuefacción (X1), concentración de alfa-amilasa (X2) y concentración de glucoamilasa (X3). El

resultado obtenido se muestra en el apéndice. La ecuación obtenida es:

$$Y = b_0 + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + b_3 \cdot X_3 + b_{12} \cdot X_1 \cdot X_2 + b_{13} \cdot X_1 \cdot X_3 + b_{23} \cdot X_2 \cdot X_3 + b_{11} \cdot X_1^2 + b_{22} \cdot X_2^2 + b_{33} \cdot X_3^2$$

El valor de las constantes obtenidas fue:

$$b_0 = -1.852778$$

$$b_1 = 0.0283333$$

$$b_2 = -40.55556$$

$$b_3 = 51.44444$$

$$b_{12} = -0.5$$

$$b_{13} = 0.1277778$$

$$b_{23} = 166.6667$$

$$b_{11} = -0.0001806$$

$$b_{22} = 314.8148$$

$$b_{33} = -71.66667$$

Con estas constantes se obtuvo una regresión (R) de 0.9441, que demuestra que los datos experimentales se ajustan muy bien a la ecuación propuesta para este tipo de comportamiento (Greasham & Inamine, 2000).

La ecuación anterior se optimiza, en este caso se maximiza la producción de glucosa (Y) y se obtuvo como resultado los siguientes valores:

Tiempo de licuefacción: 80 minutos

Concentración de alfa-amilasa: 0.06 gramos por kilogramo de maíz

Concentración de glucoamilasa: 0.4238 gramos por kilogramo de maíz.

CONCLUSIONES

Se estableció que las variables ensayadas (tiempo de licuefacción, concentración de alfa-amilasa y concentración de glucoamilasa) tienen un efecto significativo sobre la obtención de glucosa (expresado como porcentaje) a partir del maíz amarillo variedad Alazán.

El efecto combinado de tiempo-concentración de alfa amilasa y tiempo-concentración de glucoamilasa también fue significativo sobre la obtención de glucosa. Sin embargo el efecto combinado de concentración de alfa-amilasa y concentración de glucoamilasa no fue significativo.

Después de realizar la optimización, con el uso de dos programas matemáticos, se encontró que la máxima producción de glucosa en el mosto obtenido fue: tiempo de licuefacción 80 minutos, concentración de alfa-amilasa 0.06 gramos de enzima por kilogramo de maíz procesado, y concentración de glucoamilasa 0.43

gramos de enzima por kilogramo de maíz procesado.

El máximo rendimiento en base al teórico fue de 92%, lo que demuestra que el proceso de hidrolisis enzimática del almidón del maíz malteado variedad Alazán fue altamente efectivo.

El mayor valor de DE encontrado fue 92.42 y el menor valor de DE fue 73.56, que corresponde a un jarabe de maíz glucosado N° 4. Se demostró que las amilasas comerciales aplicadas son ideales para la producción de jarabe de glucosa a partir del maíz.

El maíz amarillo malteado variedad Alazán demostró tener un buen potencial como sustrato para la producción de jarabe de maíz. Permitió utilizar menores tiempos de licuefacción y utilizar menos cantidad de enzimas comparado con el maíz sin maltear.

RECOMENDACIONES

Aplicar hidrolisis enzimática utilizando amilasas comerciales para obtener jarabes de maíz con alto contenido de glucosa.

Ensayar con otros tipos de almidón, como por ejemplo almidón de yuca, de papa, de camote u otros que materias primas amiláceas de nuestro país.

Utilizar maíz malteado en lugar de maíz sin germinar para la obtención de mejores rendimientos en la obtención de un jarabe de maíz rico en glucosa.

Realizar una evaluación económica detallada para determinar el

beneficio económico de obtener mejores rendimientos con menos tiempo de licuefacción y con menores dosis de amilasas

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barcelo J., Sabater B., Sanchez R. (2004). Ciencia y Técnica: Fisiología vegetal. Ediciones Pirámide. España.
- Fajardo C. y Sarmiento F. (2007). Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*. Tesis pre-grado. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Básicas-Microbiología Industrial. Bogotá.
- Greasham, R.; Inamine, E.; (2000). Nutritional Improvement of Processes. The Culture, 18, 41-46.
- Li M.; Duan G.; Lantero O.; Pilgrim C.; Strohm B.; Shetty J.(2010). Enzymatic Process for High Glucose Production Using Granular Starch. Genencor International(R) – A Danisco Company. 57th Detmold Starch Convention, Germany.
- Lukow, O. M. & Bushuk, W. (2004). Influence of germination on wheat quality, I. Functional and biochemical properties. Cereal Chem., 61, 336-339.
- Mera I.; Hoyos J.; Carrera J.; Forero C.; Velasco R. (2003). Caracterización enzimática de alfa-amilasa y glucoamilasa en la hidrólisis de almidón de yuca (*manihot esculenta*). Vol 1, N°1: 83-88.
- Mora-Escobedo, R.; Paredes-Lopes, O. & Gutierrez-Lopes, G. F. (1991). Effect of germination on the rheological and functional properties of amaranth seeds. Lebensmittel - Wissenschaft und Technol., 24, 241-244.
- Nova A. (2010). El mercado internacional del azúcar, edulcorantes, alcohol y melaza. Cuba Siglo XXI. Centro de Estudios de la Economía Cubana. Universidad de la Habana.
- Novozymes A/S. (2012). Starch-based ethanol: Liquefaction of starch for fuel ethanol production. Application sheet. Denmark.
- Sims, K.A. y Cheryan, M. (2002). Continuous production of glucose syrup in an ultrafiltration reactor. Journal of Food Science 57 (1): 163-166.

- Singh, T. & Bains, G. S. (2004). Malting of corn: effect of variety, germination, gibberellic acid and alkali pretreatments. *J. Agric. Food Chem.*, 32, 346-348.
- Slominska L. (2003). Liquefaction of starch by thermostable alpha-amylase. *Tecnología Alimentaria* 2(2), 17-26.

ANEXOS

Protocolo para la determinación del contenido de almidón en el maíz malteado (Métodos AOAC 920-44 y 906.03)

Para la determinación se emplearon 5 g de muestra molida. Se adiciono agua destilada para separar el almidón en proporción de 5:1. Posteriormente se filtró y lavó la muestra tratada, recuperándose el residuo insoluble, al cual se le agregó 20 ml de ácido clorhídrico, $\rho = 1,125$ g/ml, 200 ml de agua destilada y se calentó durante 2,5 h en un balón provisto de condensador para evitar la evaporación. A continuación se enfrió y neutralizó con hidróxido de sodio en perlas, se transfirió a un matraz de 250 ml, se enrasó con agua destilada y se filtró. A 25 ml del líquido obtenido se le agregaron iguales volúmenes de tartrato alcalino, sulfato de

cobre (preparados según el método 923.09, (AOAC, 1988)) y agua destilada, dando un volumen final de 100 ml. Se procedió a calentar cuidadosamente esta solución durante 4 minutos, seguidos de 2 minutos de ebullición, tiempos que debieron respetarse de manera rigurosa. En caliente se filtró mediante un filtro Gooch, previamente preparado con un lecho de diatomea, secado a estufa a 100°C, hasta peso constante. Luego del filtrar la totalidad de la muestra se lavó con agua, a 60°C, y con alcohol etílico, para acelerar el proceso posterior de secado. Se secó en estufa a 100°C hasta peso constante, luego se pesó y el contenido de óxido de cobre (I), se leyó en la tabla contenida en el apartado 940.39 (AOAC, 1988), para convertirlo en glucosa y posteriormente en almidón.

Tabla 4. Resultados de las tres repeticiones de cada combinación de X1, X2, y X3 para la determinación del contenido de almidón en el maíz malteado.

<i>Ensayo</i>	<i>X1 Tiempo de licuefacción (minutos)</i>	<i>X2 Concentración Alfa-amilasa (gr enzima/kg de maíz)</i>	<i>X3 Concentración Glucoamilasa (gr enzima/kg maíz)</i>	<i>Y % glucosa en el mosto</i>
1	20	0.060	0.40	10.4
				10.5
				11.1
2	80	0.060	0.40	13.0
				12.8
				12.6
3	20	0.090	0.40	12.7
				12.9
				12.6
4	80	0.090	0.40	13.9
				13.7
				14.3
5	20	0.075	0.35	11.6
				11.8
				11.2
6	80	0.075	0.35	12.5
				12.4
				12.1
7	20	0.075	0.45	11.9
				11.6
				12.1
8	80	0.075	0.45	13.2
				13.7
				13.4
9	50	0.060	0.35	10.8
				11.4
				11.0
10	50	0.090	0.35	11.8
				12.2
				12.3
11	50	0.060	0.45	12.7
				12.5
				12.9
12	50	0.090	0.45	13.8
				13.7
				13.9
13	50	0.075	0.40	12.3
				12.7
				12.9

Fuente: Elaboración propia.

CONCENTRACION TEORICA DE GLUCOSA EN EL MOSTO

Contenido de almidón, promedio: 59.38%

Contenido de almidón en 1000 gramos de muestra: 593.8 gr

Reacción: 1 kg almidón + 0.1111 Agua → 1.1111 glucosa

Glucosa teóricamente formada: 659.118 gramos de glucosa

Agua adicionada: 4000 gramos

Agua evaporada, 10%: 400 gramos

Mosto formado: 3600 + 659.118 = 4259.118 gr

Concentración en porcentaje: 15.47%

Rendimiento con el máximo obtenido: $(14.233/15.47) \times 100 = 92.00\%$

Rendimiento con el mínimo obtenido: $(10.667/15.47) \times 100 = 68.953\%$

CALCULO DE DEXTROSA EQUIVALENTE

Porcentaje de glucosa: 14.233%

Porcentaje total de solidos disueltos (°Brix): 15.4

Dextrosa equivalente: $(14.233/15.4) \times 100 = 92.42\%$

Porcentaje de glucosa: 10.667%

Dextrosa equivalente: $(10.667/15.4) \times 100 = 73.56\%$

RESULTADO DE POLYMATH

Model: $Y =$

$b_0 + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + b_3 \cdot X_3 + b_{12} \cdot X_1 \cdot X_2 + b_{13} \cdot X_1 \cdot X_3 + b_{23} \cdot X_2 \cdot X_3 + b_{11} \cdot X_1^2 + b_{22} \cdot X_2^2 + b_{33} \cdot X_3^2$

<i>Variable</i>	<i>Initial guess</i>	<i>Value</i>	<i>95% confidence</i>
b0	-15.	-1.852778	26.0493
b1	0.06	0.0283333	0.080818
b2	130.	-40.55556	241.041
b3	100.	51.44444	101.3873
b12	-0.5	-0.5	0.5161956
b13	0.05	0.1277778	0.1548587
b23	-78.	166.6667	309.7171
b11	9.0E-05	-0.0001806	0.0003414
b22	-150.	314.8148	1365.721
b33	-80.	-71.66667	122.9143

Nonlinear regression settings

Max # iterations = 64

Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias –UNPRG.

mgarciapa@unprg.edu.pe

RESULTADO DE MATHCAD – OPTIMIZACION**Datos ingresados al programa:**

$$\begin{array}{ll}
 b_0 := -1.852778 & b_{13} := 0.1277778 \\
 b_1 := 0.0283333 & b_{23} := 166.6667 \\
 b_2 := -40.55556 & b_{11} := -0.0001806 \\
 b_3 := 51.44444 & b_{22} := 314.8148 \\
 b_{12} := -0.5 & b_{33} := -71.66667
 \end{array}$$

Ecuación ensayada:

$$Y(X_1, X_2, X_3) = b_0 + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + b_3 \cdot X_3 + b_{12} \cdot X_1 \cdot X_2 + b_{13} \cdot X_1 \cdot X_3 + b_{23} \cdot X_2 \cdot X_3 + b_{11} \cdot X_1^2 + b_{22} \cdot X_2^2 + b_{33} \cdot X_3^2$$

Valores supuestos

$$X_1 := 70 \quad X_2 := 0.07 \quad X_3 := 0.4$$

Límites para la optimización:

$$\begin{array}{ll}
 X_1 \geq 20 & X_1 \leq 80 \\
 X_2 \geq 0.06 & X_2 \leq 0.09 \\
 X_3 \geq 0.35 & X_3 \leq 0.45
 \end{array}$$

Resultado de la optimización:

$$\text{Maximize}(Y, X_1, X_2, X_3) = \begin{pmatrix} 80 \\ 0.06 \\ 0.423809 \end{pmatrix}$$

El resultado indica que la máxima concentración de glucosa en el mosto se puede obtener con un tiempo de licuefacción de 80 minutos, una

concentración de alfa-amilasa de 0.06 gramos por kg de maíz y una concentración de glucoamilasa de 0.4238 gramos por kilogramo de maíz.