

37
21.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

**DEXTRANAS: EXTRACCION E IDENTIFICACION
A PARTIR DE MIELES INCRISTALIZABLES**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A :
PATRICIA SEVERIANO PEREZ



MEXICO, D. F.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

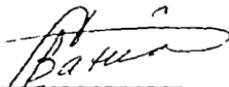
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Prof. Ma. del Carmen Durán Domínguez
Vocal: Prof. Lucía Cornejo Barrera
Secretario: Prof. Hilda Elizabeth Calderón Villagómez
1er. Suplente: Prof. Amelia Ma. de Gpe Farrés González Saravia
Zdo. Suplente: Prof. Rut Villaseñor Gutiérrez

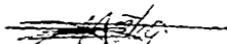
Lugar donde se desarrolló el tema:

Programa de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental, laboratorio 301, Conjunto "E", Facultad de Química, UNAM



ASESOR

Dra. Ma. del Carmen Durán Domínguez



SUPERVISOR TÉCNICO
Q.A. Heber Castillo Guajardo



SUSTENTANTE
Patricia Severiano Pérez

ÍNDICE

	PAG
RESUMEN	1
CAPÍTULO 1. Introducción	
1.1 Generalidades	2
1.2 Objetivos	4
CAPÍTULO 2. Antecedentes	
2.1 Antecedentes históricos de la caña de azúcar	5
2.2 Antecedentes históricos de la industria azucarera en México	5
2.2.1 México independiente	5
2.2.2 La industria azucarera nacional en el siglo actual	5
2.3 Situación y problemática actual	6
2.4 Estadísticas de producción anual de azúcar y mieles incristalizables en México	7
2.5 Aspectos generales del proceso de elaboración de la caña de azúcar	8
2.5.1 Molienda o extracción del jugo	8
2.5.2 Clarificación o depuración del jugo	9
2.5.3 Evaporación	9
2.5.4 Cristalización	10
2.5.5 Centrifugación	10
2.6 Subproductos y derivados de la caña de azúcar	11
2.6.1 Generalidades	11
2.6.2 Transformación industrial de los subproductos	13
2.6.3 Diversificación y desarrollo de la agroindustria cañera	14
2.7 Bagazo	15
2.8 Melazas	17
2.9 Desarrollo de los derivados de las melazas	20
2.9.1 Alcohol por vía fermentativa	20
2.9.2 Levaduras	20
2.9.3 Miel proteica	21
2.9.4 L-lisina	21
2.9.5 Glutamato de sodio	22
2.9.6 Ácido cítrico	23
2.9.7 Goma xantana	23
2.9.8 Dextrana	25
2.9.8.1 Antecedentes	25
2.9.8.2 Síntesis	27
2.9.8.3 Propiedades	27
2.9.8.4 Aplicaciones	28
2.9.8.5 Dextranas en la industria azucarera	29
2.9.8.6 Dextranasa	31

CAPÍTULO 3. Materiales y metodología	
3.1 Origen de la muestra	33
3.2 Metodología general propuesta para el estudio de las dextranas	33
3.3 Extracción de la dextrana	34
3.3.1 Determinación de carbohidratos totales y proteína de las muestras extraídas	34
3.4 Separación y preparación de la muestra para realizar la hidrólisis enzimática	36
3.4.1 Dialisis	36
3.4.2 Liofilización	36
3.4.3 Determinación de carbohidratos totales y azúcares reductores	37
3.5 Metodología para la identificación de la dextrana	37
3.5.1 Hidrólisis enzimática	37
3.6 Separación del polisacárido soluble e insoluble	38
3.7 Identificación del polisacárido soluble	38
3.7.1 Blanqueo	38
3.7.2 Determinación de carbohidratos totales	38
3.7.3 Hidrólisis enzimática de la muestra blanqueada	38
3.8 Equipamiento usado	38
3.9 Análisis estadístico	40
3.9.1 La media aritmética	40
3.9.2 Análisis de regresión	40
CAPÍTULO 4. Resultados y discusión	42
CAPÍTULO 5. Conclusiones y recomendaciones	51
BIBLIOGRAFÍA	53
ANEXO A	
Composición promedio de mieles incristalizables de caña de azúcar	56
ANEXO B	
Metodología empleada en la caracterización de las mieles incristalizables	58
ANEXO C	
Tablas de resultados	65

AGRADEZCO

A Dios

**A mis padres Sixto y Gregoria
por la vida llena de amor, comprensión
y apoyo incondicional. Porque este logro
esta inspirado en ustedes.**

**A mis hermanas (o) Licha, Buma, Tere y Ely
por ser pilares en mi vida y un ejemplo a seguir
por sus palabras de aliento en los momentos
dificiles y por la confianza que han depositado
en mi.**

A mis familiares por su apoyo incondicional.

**A mis amigas (os) por su amistad que es
uno de mis grandes tesoros. Por compartir
conmigo los buenos y malos momentos.**

**A los integrantes de los laboratorios
323,312,111 y 301 del edificio "E"
Facultad de Química, U.N.A.M. por
su apoyo.**

**A la Dra. Carmen Durán Domínguez,
al Q. A. Heber Castillo Guajardo,
a la Dra. Amanda Galvez Mariscal
y al Pas. de M. en C. José Luis Roque
Rezéndiz por la asesoría e invaluable
contribución a este trabajo.**

**A la Universidad Nacional Autónoma de México
y a la Facultad de Química.**

Patricia Severiano Pérez

RESUMEN

Las mieles incristalizables conocidas también como "melazas", son uno de los subproductos de la industria azucarera, las cuales se obtienen en grandes cantidades, por lo que se busca obtener de ellas un producto con mayor valor agregado, como son las dextranas. Estas actualmente son obtenidas por métodos biotecnológicos, sin embargo, se sabe que están presentes en las mieles incristalizables. Con este trabajo se pretende obtener dextranas a partir de melazas utilizando un método de extracción etanol-agua. Se probaron muestras de mieles incristalizables y soluciones alcohólicas a diferentes concentraciones así como la separación por precipitación y centrifugación, además, se determinó la cantidad de azúcares reductores totales presentes utilizando el método del Fenol-Sulfúrico para cada una de las condiciones de extracción. Se encontró que las condiciones óptimas de separación del precipitado son uso de muestras de mieles incristalizables al 50%, solución alcohólica al 80% y centrifugación tomando como parámetro de optimización el mayor rendimiento en la extracción. Para comprobar que el precipitado obtenido (el cual presentó un color café) era dextrana con características similares a las comerciales, se realizaron hidrólisis enzimáticas del precipitado y de una dextrana industrial de alto peso molecular (5,000,000-40,000,000 daltones) con una dextranasa obtenida del hongo *Paeecilomyces lilacinus*. El estudio mostró un comportamiento diferente para ambas sustancias, lo que podría indicar que se trata de dextranas con propiedades diferentes. El producto obtenido, tentativamente dextrana impura, fue blanqueado con hipoclorito de sodio al 6%, obteniéndose una dextrana con apariencia, color y textura similar a la dextranas comerciales. La muestra blanqueada sí tuvo un comportamiento similar a la comercial bajo las condiciones antes mencionadas, por lo que puede decirse que se trata de dextrana, la cual se encuentra con una concentración de 0.46% en la miel incristalizable original.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Generalidades

Con el nombre de miel incristalizable se designa al subproducto de la caña de azúcar que es el resultado del agotamiento de la masa cocida separándose por medio de máquinas centrifugas. Se le conoce también con el nombre de "melaza" y/o miel final ^[10]

Las melazas o mieles incristalizables son uno de los subproductos de la industria azucarera que se obtiene durante la producción del azúcar bruto y su refinó. Estas se obtienen en grandes cantidades y se estima que, del total de la caña de azúcar procesada, aproximadamente una cuarta parte se convertirá en melaza. Se puede decir que estas contienen, además de agua y sacarosa, todas las impurezas del jugo de caña y todas las que se forman y arrastran en el proceso de manufactura, como las dextranas, que se empiezan a producir en el momento de la contaminación del jugo de caña con microorganismos y se mantienen durante todo el proceso acumulándose al final en las melazas y ocasionando que estas tengan una alta viscosidad, lo que dificulta su manejo ^[11]

Leuconostoc mesenteroides, *L. dextranicum*, y otras bacterias del género son microorganismos de la flora natural presente en la caña de azúcar los cuales utilizan como único sustrato a la sacarosa para producir dextranas que intervienen en la formación de la dextrana. Estos provienen del suelo y de los desechos de plantas en estado de putrefacción y su población se ve influenciada por factores como la temperatura, la humedad y la temporada.

En los ingenios azucareros, estos microorganismos son los principales productores del polisacárido e inician su producción en el momento del corte de la caña por contaminación del guarapo la cual continúa durante el transporte y almacenamiento de la misma ^[40]

Los efectos adversos que las dextranas tienen sobre la economía del procesamiento del azúcar, provienen de una combinación de varios factores que, juntos, contribuyen a disminuir la capacidad de la fábrica y la refinería, cuando esta existe.

Se ha observado en la industria azucarera que las dextranas son un problema debido a que ocasionan oclusiones en filtros, causan serias dificultades en el manejo del guarapo por la alta viscosidad generada y provocan una cristalización lenta además de la elongación de los cristales de sacarosa, entre otras. También vuelven más lentos los procesos de filtración y manejo en general del jugo, inhiben la cristalización, reducen la producción de azúcar bruto y distorsionan las mediciones de rotación óptica usadas en la estandarización y determinación de pureza de la sacarosa dando valores sobrestimados debido a que son altamente dextrorrotatorias ^[26,40]

La dextrana es un polisacárido de D-glucosa producido a partir de sacarosa por diferentes bacterias. Está compuesta principalmente de enlaces 1-6 glucosídicos y su estructura varía

dependiendo del organismo o cepa que lo produce. Industrialmente se ha trabajado con varias cepas de *Leuconostoc mesenteroides* y, en particular, con la NRRI -B512F, ya que ésta produce dextrana con un 95% de enlaces 1-6 y sólo 5% de 1-3 las cuales son solubles debido a la baja ramificación que presentan.^{[14][17][18]}

La dextrana es sintetizada por la enzima dextranasa a partir de unidades de glucosa, que son transferidas de la sacarosa al sitio activo e insertadas entre la enzima y el extremo reductor del polímero de dextrana, liberando así unidades de fructosa.

Por su naturaleza, las dextranas presentan propiedades funcionales muy interesantes, lo que permite utilizarlas en una gran variedad de productos. Estas propiedades están estrechamente relacionadas con su peso molecular. De acuerdo a esto, las dextranas se clasifican como dextranas nativas y dextranas fraccionadas.

Las dextranas nativas son las que se obtienen directamente del medio de fermentación, sin sufrir ningún procedimiento de hidrólisis. Estas pueden presentar pesos moleculares de 30-50 millones de daltones, dependiendo de los microorganismos que las producen. Las dextranas fraccionadas son obtenidas a partir de las dextranas nativas por hidrólisis ácida o por síntesis directa.

Las dextranas en la actualidad se usan para un gran número de propósitos industriales. Por sus características de viscosidad, las dextranas se usan en la industria del petróleo como componente básico de los fluidos de perforación de pozos, en la formulación de dentífricos, como desfloculantes en productos de papel, en la preparación de filamentos especiales, en procesos de chapado de metales y como vector de medicamentos entre otros.^{[18][19]}

En la industria de alimentos tienen usos como aditivos, se usan como estabilizador y espesante en jarabes, en concentrados de jugos cítricos, en procesamiento de frutas, en conservación de camarones, en preservación de alimentos (película protectora), como estabilizante de la emulsión en helados, como conservador (en combinación con antibióticos) y en cubiertas protectoras para semillas y, por lo tanto, su valor agregado es mayor al del propio azúcar.^[19] Las aplicaciones anteriormente mencionadas consideran solamente a las dextranas de alto peso molecular.^[16]

Actualmente, en México, la industria azucarera se encuentra en crisis debido, entre otras causas, a que el azúcar es el principal producto que elaboran; por lo tanto, es importante que se puedan diversificar los productos generados por este sector para obtener productos con un valor agregado mayor, como podría ser el caso de las dextranas, utilizando para ello subproductos (miel incristalizable) y derivados (etanol), producidos por esta misma industria.

Actualmente, las dextranas se obtienen por métodos biotecnológicos los cuales son muy costosos, lo que hace que el valor de las dextranas sea alto. Sin embargo, como ya se ha mencionado, se sabe que están presentes en las mieles incristalizables; por esta razón se estudiaron tecnologías limpias que permitan extraer e identificar a las dextranas presentes en las

melazas para que, posteriormente, se realice el estudio técnico-económico para su posible aplicación en la industria alimentaria.

1.2 OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo de investigación es la extracción e identificación de dextranas presentes en mieles incristalizables

Para alcanzar este objetivo se plantean los siguientes objetivos específicos

- **Identificación de los componentes principales de las melazas, realizando un análisis químico (proteína, cenizas, humedad y carbohidratos)**
- **Extracción (propuesta de un sistema limpio de extracción) de las dextranas**
- **Identificación de las dextranas**
- **Caracterización de la materia prima después del proceso de separación de las dextranas y determinación de los cambios ocurridos**
- **Cuantificación del etanol recuperable**

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES

2.1 Antecedentes históricos de la caña de azúcar

Los estudios que se han efectuado recientemente indican que la caña de azúcar es originaria de Nueva Guinea, y no de la India como antes se creía. Es indudable que las cañas que fueron introducidas en la India efectuaron cruzamientos híbridos con cañas silvestres indias y chinas. La caña de azúcar llegó a Persia y después a Egipto a través de las invasiones árabes.¹¹⁶¹

La existencia de azúcar en forma sólida procede de Persia y data del año 500 de nuestra era. La primera mención del azúcar en grano data del año 627 después de Cristo, cuando el emperador bizantino Heracleos, durante la tercera campaña que sostuvo contra los persas, obtuvo azúcar como producto especialmente valioso del botín.¹¹⁶²

Cristóbal Colón en su segundo viaje a América llevó consigo algunos trozos de caña de azúcar que sembró por primera vez en Santo Domingo. Ya para el siglo XVI el azúcar era un artículo importante de comercio entre Europa y las regiones productoras de Brasil, Cuba y México.¹¹⁶³

2.2 Antecedentes históricos de la industria azucarera en México

En México la vida de la industria azucarera fue azarosa y poco estable durante los tres siglos de la dominación española (1521-1821), presentándose las oscilaciones siguientes:

Época de prosperidad, 1537 a 1570
Época de estancamiento, 1571 a 1802
Época de depresión, 1803 a 1808
Época de prosperidad, 1809 a 1811

A la terminación de la dominación española la industria azucarera mexicana quedó destruida casi totalmente.¹¹⁶⁴

2.2.1 México independiente

Después de la destrucción de los ingenios azucareros durante la guerra de independencia, en el período de 1840 a 1850 se volvieron a trabajar, aunque en forma primitiva o provisional, (algunos ingenios en los Estados de Morelos, Puebla, Veracruz y Michoacán) y, para 1878-79, la caña se cultivaba ya en gran parte de la República con las variedades nobles tales como la morada, la rayada y la criollina.¹¹⁶⁵

2.2.2 La industria azucarera nacional en el siglo actual

A principios de este siglo, el ingenio de Zacatepec, Mor., bajo la administración de Don Manuel Pérez, fue el primero en México donde se efectuaron trabajos del mejoramiento del suelo con la

construcción de drenes de tubos de barro Por los años 20's las enseñanzas logradas fueron aplicadas en Atencingo, Pue., y además en 1929 Don Manuel trajo a México las mejores variedades comerciales de caña cultivadas en esa época y a la vez conocimientos sobre la fertilización de la caña

En el despegue de la industria azucarera nacional se han enmarcado una serie de actividades de campo, fábricas y administrativas cuya trascendencia socioeconómica la hacen una de las más importantes agro-industrias del país, ya que su crecimiento ha sido gradual, atravesando etapas críticas que la han colocado en situaciones difíciles de expansión para poder llegar a satisfacer la demanda de un pueblo en constante crecimiento

En la década de los treinta (1930-1939), se obtuvo un rendimiento de campo de 52 ton/ha y 9.63% de rendimiento de fábrica, en la década de los cuarenta's (1940-1949), el rendimiento de campo fue de solo 51 ton/ha y el de fábrica de 9.0%

En la década de los cincuenta's (1950-1959), el rendimiento de campo subió hasta 59 ton/ha y el de fábrica declino hasta el 8.80%

En la década de los sesenta's (1960-1969), el rendimiento de campo fue de 67 ton/ha y 8.70% el de fábrica, en esta época hubo excedentes factibles de exportarse, generando divisas para el país

En la década de los setenta's (1970-1979), el rendimiento de campo se elevó a 73 ton/ha y el de fábrica declino en la zafra 1978-1979 hasta el 8.45%

En la década de los ochenta's (1980-1989), el rendimiento de campo fue de 63 ton/ha y el de fábrica de 9.76%^[6,16]

2.3 Situación y problemática actual

En 1995 el rendimiento de campo fue de 77.99 ton/ha y el de fábrica de 10.66%. Sin embargo, actualmente la industria azucarera enfrenta un importante reto tecnológico-comercial constituido por la irrupción en los mercados nacionales e internacionales de edulcorantes sintéticos y sustitutos y, además, por la revolución biotecnológica. Estos elementos hacen de la modernización de la estructura productiva de esta agroindustria, un imperativo impostergable a fin de garantizar que la misma siga siendo un factor fundamental de desarrollo^[7]

En México, las fábricas de azúcar están rezagadas con respecto al desarrollo existente en otras industrias de la competencia. Igual sucede con el aprovechamiento de los recursos energéticos, lo que limita la operación eficiente de las empresas azucareras e impacta negativamente los costos de producción. Mejorar esta situación resulta de gran relevancia, especialmente en los momentos actuales cuando los países de la región atraviesan por serias dificultades en su desarrollo económico y donde la industria azucarera sigue siendo un factor estratégico en la economía mexicana.

2.4 Estadísticas de producción anual de azúcar y mieles incristalizables en México

En México como ya se menciona la agroindustria azucarera reviste gran importancia en la economía del país. En la tabla 2.1 puede observarse los rendimientos que se han tenido en el sector azucarero durante las últimas cuatro décadas.

Tabla 2.1 "RESUMEN DE PRODUCCIÓN, ZAFRAS 1959/60 - 1994/95" DE LA CÁMARA NACIONAL DE LAS INDUSTRIAS AZUCARERAS Y ALCOHOLERAS¹⁶¹

ZAFRA (Año)	SUPERFICIE CORTADA (ha)	AZÚCAR PRODUCCION REAL (Tm)	MIL. PUNTA AZÚCAR (Tm)	RENDIMIENTO CANJE	RENDIMIENTO FABRICA	RENTES/HA MIL. PUNTA AZÚCAR DE CANJA	RENTES/HA AZÚCAR PUN DE HULCAMEA
60	288 531	1 034 729		3 575	7 311	5 215	
61	287 341	1 197 412		4 172	9 122	4 876	
62	298 473	1 415 422		4 742	9 731	4 469	
63	316 275	1 618 134		5 113	9 933	5 117	
64	331 846	1 815 463		5 476	9 975	5 473	
65	369 813	1 982 969		5 362	8 864	5 168	
66	381 458	2 011 160		5 275	8 707	5 283	
67	406 519	2 325 250		5 727	9 213	5 725	
68	390 875	2 197 728		5 618	9 033	5 618	
69	401 043	2 391 966		5 964	8 853	5 962	
70	432 852	2 320 784	1 548 134	5 368	9 040	5 491	
71	416 906	2 392 853	1 677 420	5 737	9 231	5 744	
72	411 690	2 359 428	1 693 126	5 743	8 999	5 701	
73	440 370	2 542 277	1 264 692	5 776	8 879	5 887	
74	447 278	2 688 182	1 268 587	6 017	8 629	6 023	
75	469 632	2 848 272	1 560 147	6 064	8 870	6 068	
76	418 574	2 746 526	1 678 290	6 578	8 870	6 600	
77	415 779	2 741 065	1 676 513	6 572	8 979	6 112	
78	445 137	2 846 361	1 839 846	6 467	8 803	6 461	
79	467 792	3 000 366	1 831 826	6 416	8 870	6 416	
80	478 688	2 603 153	1 311 168	5 445	8 177	5 438	
81	479 112	2 367 022	1 145 257	4 918	8 255	5 188	
82	474 476	2 676 681	1 320 298	6 031	8 483	6 120	
83	474 448	2 894 372	1 397 482	6 168	8 901	6 168	
84	474 486	3 045 670	1 397 503	6 427	8 877	6 429	
85	518 136	3 227 838	1 386 402	6 848	9 046	6 230	
86	543 967	3 690 780	1 577 041	7 885	9 136	6 796	
87	574 848	3 739 333	1 552 310	6 712	9 046	6 499	
88	561 184	3 791 652	1 360 496	6 674	9 060	6 198	
89	538 214	3 471 380	1 315 945	6 653	9 076	6 447	
90	510 396	3 171 683	1 321 469	6 814	9 010	6 216	
91	530 841	3 660 897	1 467 669	7 192	9 356	6 725	
92	477 204	3 290 650	1 252 793	5 434	9 228	6 196	
93	509 459	4 036 704	1 430 115	5 802	10 254	7 993	
94	491 902	3 549 220	1 230 121	6 342	10 411	7 215	
95	514 471	4 277 442	1 566 985	7 599	10 666	8 113	

2.5 Aspectos generales del proceso de elaboración de la caña de azúcar

El azúcar que se consume en México proviene de la caña, la cual se propaga comercialmente por trozos de su tallo generalmente con tres o cuatro yemas, de donde germinan las nuevas plántulas. Generalmente se usa para semilla, caña joven de 7 a 9 meses de edad, sembrándose de 8 a 12 toneladas por hectárea en promedio. Una vez depositada la semilla de caña de azúcar en el campo deben transcurrir de 14 a 18 meses para que alcance su madurez industrial que permita su primer corte. Para los cortes subsecuentes basta con esperar de 12 a 14 meses durante los cuales la caña de azúcar vuelve a tener hojas y a desarrollar su tallo.

La siembra de la caña de azúcar en esas condiciones sirve para 3.5 o más ciclos agrícolas. El primero se conoce con el nombre de "plantilla", el segundo con el de "soca" y los subsecuentes con el nombre de "resoca". La época durante la cual se hace el corte de la caña de azúcar se llama *zafra*, (molienda de la caña en los ingenios) [16].

Cuando la caña de azúcar llega a su madurez, se corta, se despoja de sus hojas o "flazle" que puede utilizarse como alimentos para el ganado o bien como mejorador del suelo. A continuación los tallos se transportan hasta el ingenio por ferrocarril, camión, chalan y/o carretas jaladas por tractores que se encargan de depositarlos en su patío o batey. La materia prima, caña de azúcar, se encuentra lista para entrar al proceso de elaboración de azúcar.

Los manojos de tallos de caña de azúcar depositados en el batey se colocan mediante gruas en la mesa lavadora y/o alimentadora las cuales tienen una inclinación en contra de los transportadores de duelas, en donde puede aplicarse agua para lavar la caña de la tierra que se le adhiere en los campos, o directamente se descargan en esta para ser desheizados hacia los conductores que los llevan hasta los equipos de preparación, haciéndola pasar bajo cuchillas giratorias que cortan los tallos y los convierten en astillas, entre mazas de rayado grueso que quiebran la caña y exprimen gran parte del jugo, por desfibradores en forma de rollos de martillos que desfibran la caña sin exprimir jugo, o, más generalmente, a través de combinaciones de dos o tres métodos.

En esta forma la caña introducida al ingenio, una vez pesada previamente, pasa la fase de "preparación". Dentro del ingenio el proceso en general consta de los pasos que se describen a continuación. [7,16]

2.5.1 Molienda o extracción del jugo

El primer paso en el proceso fabril del azúcar de caña es la extracción del jugo (guarapo) mediante la compresión de la caña entre cilindros de gran tamaño llamados mazas. Los molinos son unidades múltiples de combinaciones de tres mazas (cañera, superior y bagacera) entre las cuales pasa sucesivamente la caña exprimida o bagazo. Para ayudar a la extracción del jugo, se rocía la torta de bagazo, al salir de cada unidad molidora, con chorros de agua o de jugo pobre en azúcar, esto ayuda a la extracción de azúcar por lixiviación. Este proceso, llamado imbibición o, menos frecuentemente, maceración, tiene muchas variantes. Los mejores procedimientos de molienda logran extraer, en forma de jugo, más del 95% del azúcar

que contiene la caña, este porcentaje se llama la extracción de sacarosa, o simplemente, la extracción.

El bagazo que sale del último molino contiene el azúcar no extraído, la fibra leñosa y 40 a 50% de agua. Este producto suele ir a las calderas para servir de combustible, pero muchas fábricas compran el combustible que necesitan y utilizan el bagazo como complemento en alimento para ganado, para fabricación de papel, para tablas-roca y otros productos agrícolas (composte) o comerciales.

El jugo extraído de los molinos arrastra partículas de bagazo por lo que es necesario efectuar un colado en un colador fijo de mallas, con un sistema de raspadores que pasan sobre el colador, montados sobre cadenas móviles para llevar este bagazo o bagacillo nuevamente al sistema de molinos, dejando caer sobre el colchon de bagazo o usándolo como "ayuda-filtro" en los filtros de "cachaza" o sólidos de la clarificación.¹⁷⁾

2.5.2 Clarificación ó depuración de jugo

La clarificación consiste básicamente en la purificación o defecación del jugo de la caña extraído por los molinos, el cual es ácido, turbio y de color verde oscuro.

En el proceso de clarificación (o defecación), ideado para eliminar tanto las impurezas solubles como las insolubles, es universal el uso de la cal y el calor como agentes clarificadores. La lechada de cal, preparada con aproximadamente una libra (450 g) de CaO por tonelada de caña, neutraliza la acidez natural del jugo y forma sales insolubles de cal, principalmente en forma de fosfatos de calcio. El calentamiento del jugo alcalino, hasta el punto de ebullición, o un poco más allá de este punto, coagula la albumina y algunas de las grasas, ceras y gomas y el precipitado que así se forma englobando tanto los sólidos en suspensión como las partículas más finas. Mediante la sedimentación, se logra la separación de los lodos del jugo claro, esto se hacía antiguamente en tanques individuales de decantación llamados defecadores-, mientras que hoy en día es casi universal el uso de clarificadores cerrados continuos de varias bandejas. Los lodos se filtran en filtros de tambor rotativo al vacío o, en algunas fábricas, en filtros de láminas a presión. En algunos casos existe un sistema conocido como sulfitación, para lograr la primera disminución de pardeamientos y olores indeseables por inactivación de la actividad enzimática quemando azufre en presencia de aire y mezclando el SO₂ resultante con el jugo o guarapo en una torre en cascada a contracorriente.^{17,24)}

El jugo de los filtros prensa y el agua de lavado retorna al proceso o se añaden directamente al jugo y la torta de las prensas, llamada "cachaza", se tira o se lleva a los campos como fertilizante. El jugo clarificado, de color café oscuro, retorna a los evaporadores sin sufrir tratamiento adicional.

2.5.3 Evaporación

El jugo clarificado, que posee casi la misma composición que el jugo crudo extraído (con la excepción de las impurezas precipitadas que fueron extraídas por el tratamiento con cal) contiene aproximadamente 85% de agua. Las dos terceras partes de esta agua se evapora en evaporadores de múltiples efectos al vacío, que consisten en una sucesión (generalmente cuatro) de celdas de ebullición al vacío llamadas cuerpos, dispuestas en serie para que en cada

cuerpo haya más vacío que en el cuerpo anterior y de esta forma el jugo que dicho cuerpo contiene hierva a menor temperatura. Así, los vapores producidos en un cuerpo podrán calentar a ebullición el jugo que contiene el siguiente. Con el uso de este sistema, el vapor que se introduce al primer cuerpo logra producir evaporación en múltiple efecto (que, de hecho, fue una innovación en su momento que representó ahorros considerables de generación de vapor) ¹⁷¹El vapor que sale del último cuerpo va a un condensador

Al jugo concentrado que sale de los evaporadores se le conoce como "meladura" y sale en forma continua del último cuerpo o evaporador con un contenido aproximado de 65% de sólidos y 35% de agua, este es enviado a tanques de almacenamiento o retención para el proceso de cristalización ¹²⁴

2.5.4 Cristalización

La cristalización se lleva a cabo en recipientes conocidos como "tachos", en los cuales se concentra la meladura que sale de los evaporadores hasta quedar saturada de azúcar. Al llegar a este punto, se introducen cristales de siembra para que sirvan de núcleos a los cristales de azúcar y se va añadiendo más meladura a medida que se evapora el agua. Los cristales originales, que fueron formados por la destreza del operador del cristizador o por control mediante instrumentos, crecen, sin que formen cristales adicionales, a medida que en ellos se va depositando azúcar procedente de la masa en ebullición. Este crecimiento de los cristales continúa hasta que al quedar lleno el recipiente han alcanzado un tamaño previamente determinado. La mezcla de cristales y meladura queda concentrada hasta formar una masa densa, conocida como masa cocida. La templa o contenido del tanque se descarga a través de una válvula inferior hacia un mezclador o cristizador ¹²⁴

2.5.5 Centrifugación

La centrifugación o "purga" es básicamente la separación de los cristales de azúcar de la meladura o "licor madre"

La masa cocida que se llevo al mezclador o cristizador se hace pasar a máquinas giratorias llamadas centrifugas. El canasto cilíndrico de la centrifuga, que esta suspendido de una flecha o huso tiene sus costados perforados y forrados de tela metálica. El forro perforado retiene los cristales de azúcar, que pueden ser lavados con agua si se desea. Las aguas madres o mieles pasan a través del forro, impulsadas por la fuerza centrifuga, quedando esta lista para recibir otra carga de masa cocida. Las instalaciones modernas son exclusivamente del tipo de alta velocidad (o alta gravedad) con control automático total o parcial de todo el ciclo de purga.

En el sistema de cocción triple la primera cocción o templa de jarabe puro rinde azúcar crudo y miel "A", ésta se retorna al tanque para ser recocida junto con una remonta de masa cocida de primer grado y forma una segunda masa cocida "B" que a su vez rinde otra cosecha de cristales. El azúcar procedente de las templeas "B" se juntan con el azúcar "A" para constituir la producción comercial de la fábrica. La segunda miel "B" es de pureza mucho menor y, a su vez, se vuelve a cocer con nuevo jarabe para formar una templa de grado bajo "C". Estas masas cocidas de grado bajo permanecen durante varios días en los cristalizadores donde se enfrían, la

masa es mantenida en movimiento por medio de espas giratorias. El azúcar "C" se mezcla con jarabes y se utiliza para siembra de masa cocida "A" y "B". La meladura final es un material pesado y viscoso que contiene aproximadamente una tercera parte de sacarosa, otra tercera parte de azúcares reductores y el resto de cenizas, "no azúcares" orgánicos y agua, además, sirve como base para la fabricación de alcohol, alimentos para ganado, producción de levadura, etc, y se le conoce como "miel final" o "miel incristalizable".

Una vez terminada la centrifugación los cristales de azúcar permanecen dentro de la malla y se les conoce como mascabado. Son de color ligeramente café y tienen una película delgada de miel adherida a su superficie.

Para transformar el azúcar mascabado en azúcar estándar blanco se elimina la película de miel por medio de lavados dentro de la misma centrifuga, se seca y se envasa.

En la elaboración del azúcar blanco refinado se requieren de 4 pasos principales.

- 1) El mascabado se disuelve en agua caliente.
- 2) El licor obtenido se trata nuevamente para eliminar al máximo las impurezas, defecándolo con cal y ácido fosfórico.
- 3) El licor obtenido se le pasa por columnas de carbón activado y se filtra para eliminar el color, quedando tan puro como el agua cristalina.
- 4) El licor incoloro se recristaliza mediante su ebullición en tachas al vacío, se separan los cristales de azúcar en las centrifugas, se seca el azúcar y después se envasa.^[7-24]

2.6 Subproductos y derivados de la caña de azúcar

2.6.1 Generalidades

A nivel mundial hay alrededor de 70 países productores de caña de azúcar, cuya área sembrada abarca 13 millones de hectáreas, de las cuales el 61% se encuentra en América Latina y el Caribe. El azúcar que se extrae de la caña contribuye significativamente a la alimentación de la población a la vez que para muchos países de América Latina y el Caribe, tradicionalmente ha representado una importante fuente de divisas y uno de los pilares principales para las economías nacionales.

Las potencialidades para la diversificación de la agroindustria cañera se derivan precisamente de los elementos fisiológicos que constituyen a la materia prima. La caña de azúcar está compuesta básicamente de azúcares (fundamentalmente sacarosa) y de carbohidratos estructurales del complejo lignocelulósico, los cuales ofrecen diferentes posibilidades de industrialización.

Por ejemplo, a partir de los sacaridos de la caña de azúcar, vía fermentativa o química, se obtienen productos intermedios o finales con grandes posibilidades de utilización en el sector

agropecuario, la industria alimentaria, química, farmacéutica y otros. Por su parte, el compuesto lignocelulósico está constituido básicamente de celulosa, lignina y pentosanas; a partir de estos componentes pueden obtenerse tableros, pulpa y papel, combustible, electricidad y otros derivados.

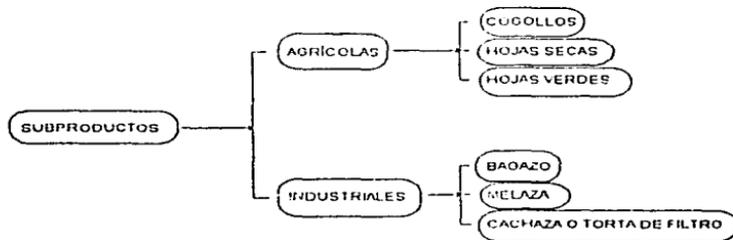
Bagazo, melaza, torta de filtro o cachaza, ceniza de hornos, efluentes líquidos y gases de combustión, además de los residuos agrícolas, son producciones colaterales a la producción azucarera y que constituyen los subproductos de esta agroindustria.

Se denominan derivados de la caña de azúcar aquellos productos que se obtienen industrialmente a partir de los subproductos de la agroindustria cañera.

Por ejemplo la melaza es un subproducto, mientras que el alcohol y la levadura torula son derivados que se obtienen a partir de ese subproducto.^[19]

Los productos que se obtienen del proceso agrícola e industrial cañero se pueden agrupar según el lugar en que se obtienen, sea en campo o en fábrica. Como se muestra en la siguiente figura, los subproductos agrícolas están constituidos por cogollos, hojas secas y hojas verdes (paja) mientras que los industriales están integrados principalmente por bagazo, melaza y cachaza o torta de filtro (Fig. 2.1).

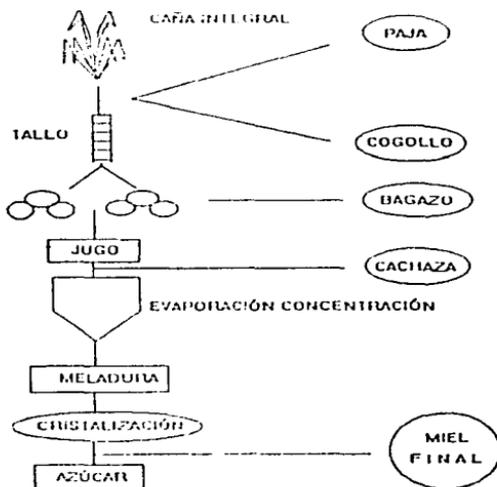
Figura 2.1 TIPO DE SUBPRODUCTOS DEL SISTEMA AGROINDUSTRIAL CAÑERO^[19]



2.6.2 Transformación industrial de los subproductos

Tradicionalmente, los subproductos agrícolas e industriales de la caña de azúcar (Fig. 2.2) fueron calificados y tratados como desechos, en la mayoría de los casos, indeseables. Sin embargo, cada día se aprecia más el valor económico de los mismos en tanto que sirven de materia prima para la producción de una extensa gama de bienes y servicios. En la actualidad existen elementos asociados a las características y tendencias del desarrollo agroindustrial que permiten afirmar que se está en el umbral de una nueva cultura en la concepción de la agroindustria cañera ^[19]

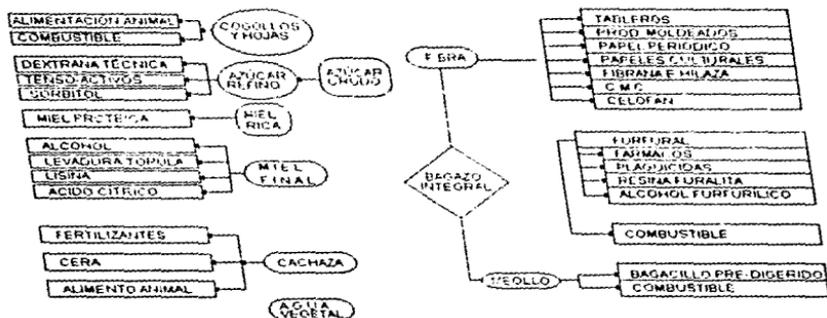
Figura 2.2 SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA AZUCARERA^[19]



En efecto, científicos y técnicos relacionados con la agroindustria demuestran, cada vez con más fundamento, la factibilidad técnica y las ventajas económicas que se derivan de las producciones industriales basadas en el aprovechamiento integral de la caña de azúcar y sus subproductos (Fig. 2.3). A esta rama se le llama suetoquímica, en un símil con la petroquímica.

La disponibilidad del volumen adecuado de subproductos es la condición necesaria para el desarrollo de la diversificación en su dimensión industrial, a pesar de que la diversificación industrial en América Latina y el Caribe, presenta un desarrollo relativamente alto.

Figura 2.3 PRINCIPALES DERIVADOS DE LA CAÑA⁽¹⁾



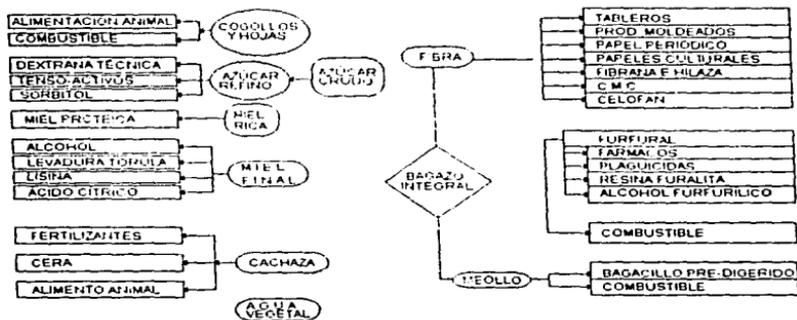
2.6.3 Diversificación y desarrollo de la agroindustria cañera

Cada vez más, los productores involucrados en la actividad azucarera en la región latinoamericana y del Caribe, tanto en el nivel de campo como de fábrica, están convencidos de

En efecto, científicos y técnicos relacionados con la agroindustria demuestran, cada vez con más fundamento, la factibilidad técnica y las ventajas económicas que se derivan de las producciones industriales basadas en el aprovechamiento integral de la caña de azúcar y sus subproductos (Fig. 2.3). A esta rama se le llama sucroquímica, en un simil con la petroquímica.

La disponibilidad del volumen adecuado de subproductos es la condición necesaria para el desarrollo de la diversificación en su dimensión industrial, a pesar de que la diversificación industrial en América Latina y el Caribe, presenta un desarrollo relativamente alto.

Figura 2.3 PRINCIPALES DERIVADOS DE LA CAÑA^[23]



2.6.3 Diversificación y desarrollo de la agroindustria cañera

Cada vez más, los productores involucrados en la actividad azucarera en la región latinoamericana y del Caribe, tanto en el nivel de campo como de fábrica, están convencidos de

que la modernización de la estructura productiva y el desarrollo del sistema agroindustrial cañero debe llevarse a cabo a través de un proceso de diversificación de su reproducción. En este sentido se plantea a la diversificación como una estrategia dirigida a optimizar el uso de los recursos naturales, tecnológicos e industriales con que cuenta la región de América Latina y el Caribe, a la vez que representa la alternativa de modernización más viable para garantizar la rentabilidad y competitividad de la ya mencionada agroindustria.

Al hablar de diversificación del sector cañero, se identifican dos dimensiones: i) Diversificación agrícola, que es la implantación de cultivos alternativos mediante la intercalación y rotación de los mismos en el área cañera y ii) diversificación industrial, que comprende el uso alternativo de la caña de azúcar y el aprovechamiento integral de la materia prima mediante la transformación de los subproductos que se generan tanto en la cosecha de la caña como en el procesamiento de la misma.

En México existen más de 20 plantas dedicadas a la industrialización de los subproductos de la caña de azúcar y de productos derivados, algunos de los cuales muestran una importancia significativa en términos de tamaño y valor económico de su producción, como es el caso de la producción de pulpa y papel, tableros, alimento animal, lisina y glutamato de sodio.

A partir de la miel se obtiene alcohol, cuya producción diaria asciende a 547 1 miles de litros en 31 destilerías.¹³⁹⁾

2.7 Bagazo

El bagazo es el subproducto fibroso que se obtiene en los molinos del ingenio azucarero durante el proceso de extracción del jugo para la fabricación de azúcar.

El bagazo es una materia prima que desde el punto de vista químico está compuesto de aproximadamente 52% de celulosa, 29% de hemicelulosa (fundamentalmente pentosanas) y 19% de lignina. Morfológicamente consta de 60% de fibras, 30% de parénquima o médula conocida como "mojollo" o bagacillo y 10% de finos o solubles.

La utilización del bagazo como materia prima para la producción de derivados requiere que se efectúen una serie de operaciones que exigen el conocimiento de las características del mismo y que sean dominadas técnicamente las mejores tecnologías para su preparación adecuada y minimizando efectos contaminantes de los propios procesos.

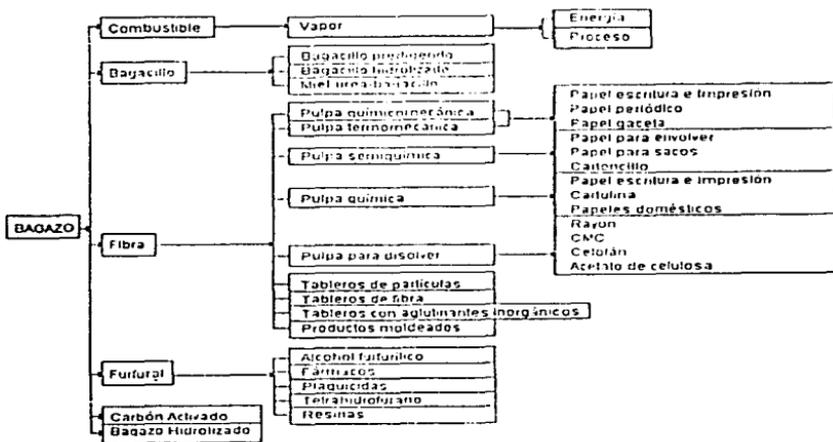
En comparación con otros residuos vegetales, puede decirse que el bagazo reúne una serie de condiciones que hacen que sea el material fibroso con más posibilidades de industrialización, ya que se encuentra potencialmente disponible en grandes cantidades (por cada tonelada de azúcar se obtienen aproximadamente 2.5 toneladas de bagazo con 50% de humedad), existe experiencia en su manipulación, almacenamiento y además se utiliza mundialmente en la producción de pulpas papeleras, productos aglomerados, furfural y otros (Fig. 2.4).

El desarrollo de la industria química unido a la crisis energética ha hecho que en menos de 20 años se haya elevado el valor de este subproducto, que sólo se utilizaba como combustible en los ingenios azucareros.

La inestabilidad en los precios del azúcar y del petróleo, el ahorro en términos de divisas que implica la sustitución del bagazo por combustible, determina que se analice una política, a largo plazo, de industrialización de derivados que consista en el uso más racional del bagazo sobrante en la industria.

La industria azucarera, además de instalar las mejoras necesarias con el fin de contar con bagazo excedente para ser utilizado en la producción de derivados, debe dedicar esfuerzos al estudio del uso adecuado de los residuos de la cosecha como combustibles en las calderas de los ingenios azucareros. (14)

Figura 2.4 DERIVADOS DEL BAGAZO (14)



2.8 Melazas

Con el nombre de miel incristalizable se designa al subproducto de la caña de azúcar que es el resultado del agotamiento de la masa cocida separándose por medio de máquinas centrifugas. Se le conoce también con el nombre de "melaza" y/o miel final ^[1,10]

La definición de miel incristalizable que se da comunmente, se refiere a ellas como el "líquido viscoso y pesado que se separa de la masa cocida final y de la cual ya no puede cristalizar mas azúcar" ^[14]

Si se quiere definir estrictamente el concepto de melazas es necesario establecer una distinción entre melazas teóricas y melazas prácticas. La melaza "teórica" es una mezcla de agua, azúcar y otros compuestos, tal que ya no pueda cristalizar mas la sacarosa residual, aun en las mejores condiciones físicas y técnicas. Una melaza "práctica" es aquella masa cocida de la que ya no puede recuperarse una cantidad significativa de sacarosa ^[4,14]

Existen definiciones basadas en la formación de las melazas o mieles incristalizables, las cuales coinciden en señalar que se trata de una combinación hidratada de consistencia líquido-siruposa de sacarosa, fructosa y sales orgánicas e inorgánicas en diferentes proporciones ^[2,1]. Se trata pues de líquidos muy viscosos y altamente coloreados cuyo uso principal es la producción de alcohol por fermentación, suplemento animal, sustrato para la industria biotecnológica de fermentaciones y en algunos casos se utilizan como saborizantes ^[14,15]

La composición de las melazas varía en cada centro productor y es difícil suponer un valor promedio para todas las melazas. Esta variación permite definir la variabilidad de los derivados que pueden obtenerse a partir de este subproducto. La composición promedio se muestra en el anexo A (Tabla A. 1)

Por el volumen y la viscosidad no es muy fácil ni económico almacenar las melazas. Además, si se almacenara en tanques a temperaturas por encima de los 40°C se podría presentar diversos problemas, como la descomposición que conlleva a pérdida de azúcares totales, aumento de azúcares reductores, incremento del porcentaje de no-azúcares, pérdida de sólidos totales y aumento de coloración.

Este tipo de problemas son muy conocidos, por lo que el manejo, almacenamiento y transporte de la melaza se efectúa a temperaturas no mayores de 40 a 42°C.

La cantidad de melaza que se obtiene de la producción de azúcar, varía entre 2.75 y 4.5% del peso de la caña, porcentaje que está ligado a aspectos agrícolas (suelo, variedad, clima, fertilizantes) e industriales (recuperación, eficiencia, inversión).

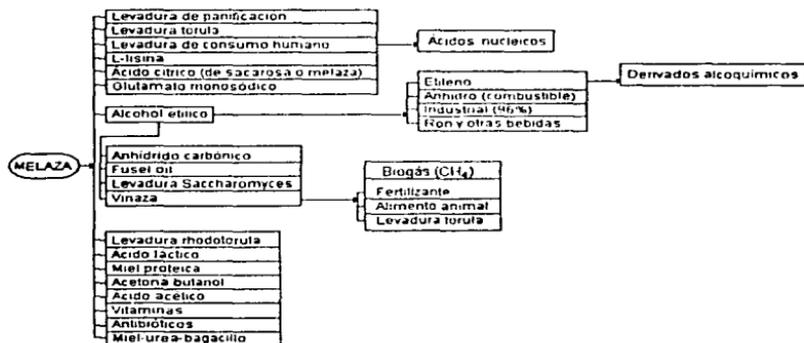
La melaza puede dar origen a una serie de derivados de primera generación. En la industria de los derivados, los principales usos de las melazas se encuentran en la producción de alcohol etílico, levaduras, miel proteica, L-lisina, glutamato de sodio y ácido cítrico. Los países de

América Latina y el Caribe, obtienen este último a partir del azúcar, mientras que la India es el único país que emplea la melaza como materia prima para la producción de ácido cítrico (Fig. 2.5).

La melaza que se produce en los países en desarrollo es prácticamente la que se comercializa en el mercado internacional, después de atender su demanda interna en la producción de alcohol, raciones alimenticias y otros derivados. En los últimos años se ha iniciado la producción de mieles ricas para alimentación animal y fines industriales, con lo que se libera un mayor volumen de melaza para atender la demanda internacional.

La calidad de la melaza determina su uso. A modo de ejemplo, se puede señalar que al fabricar bebidas alcohólicas, la melaza debe tener un alto grado de pureza, eliminando totalmente las impurezas que de otra manera generarían mal olor en la bebida que se desea obtener ^(10,14,15)

Figura 2.5 DERIVADOS DE LA MELAZA⁽¹²⁾



El empleo de la melaza en los países productores, se ha incrementado desde finales de la década de los setenta, con la consecuente disminución de excedentes de exportación. Actualmente se estima que en veinte de los principales países productores de melaza en el mundo, con excepción de la CEE, EEUU, URSS, Cuba, México, República Dominicana y Guatemala, están utilizando en gran proporción la melaza para producir alcohol.

En la producción de alcohol, de levadura torula y levadura para consumo humano, el precio de la melaza tiene un peso fundamental en el costo del producto, sobre todo en el alcohol, en el que representan poco menos del 50%. En cambio, en la producción de L-lisina, el porcentaje del precio de la melaza respecto al costo final, es de alrededor de 16%.

La variabilidad en los precios de la melaza en el mercado mundial ha afectado los análisis de costos de producción de los derivados que se obtienen a partir de la misma. En virtud de ello, la decisión de canalizar dicha materia prima para el establecimiento de una industria de derivados o su comercialización en el mercado internacional se hace más difícil.

A continuación, en la tabla 2.2 se presentan los costos de producción de algunos derivados de las melazas ⁽¹⁹⁾.

Tabla 2.2 INFLUENCIA DEL PRECIO DE LA MELAZA EN EL COSTO DE PRODUCCIÓN DE DERIVADOS⁽¹⁹⁾

Concepto	Consumo de melaza (t por t)	% de participación de melaza en el costo de producción.
Alcohol	4.3	45
Levadura torula	4.25	42
Levadura para consumo humano	5.45	40
L-lisina (clorhidrato de)	7.6	16
Acido cítrico	3.2	14
Glutamato de sodio	4.9	20

Base: precio de la melaza, 60 dolares/tonelada.

Generalmente se da por hecho que la producción de melaza corresponde a su consumo, debido a que es difícil almacenar grandes cantidades de una zafra a otra.

2.9 Desarrollo de los derivados de las melazas

2.9.1 Alcohol por vía fermentativa

La producción de alcohol etílico o etanol por la vía fermentativa es un proceso biotecnológico que utiliza como materias primas la melaza y/o el jugo de caña directamente. En los últimos quince años se ha incrementado la producción, especialmente para ser utilizado como carburante en automóviles.

La tecnología de producción de alcohol etílico a partir de las mieles es muy conocida. Es la primera industria de derivados que se desarrolló utilizando un subproducto de la industria azucarera.

La producción de etanol ha evolucionado en los últimos años y la viabilidad económica está influenciada por diversos factores específicos de cada país. En muchos casos se considera que los factores determinantes son el valor unitario de la materia prima, su disponibilidad actual o futura, usos a los que estará destinado, posibilidades de exportación.

Usos

El etanol tiene diversas aplicaciones, estimándose que se emplea especialmente en los siguientes campos: producción de productos químicos, solventes, bebidas alcohólicas y carburante. Los usos del alcohol están en relación directa a las condiciones de desarrollo del país consumidor (7,19).

2.9.2 Levaduras

Se obtienen de mieles de caña, remolacha, cítricos, mieles hidrolizadas y otras, también se pueden recuperar a partir de la producción de alcohol etílico.

Entre las levaduras más conocidas están la panadera y la torula. La levadura panadera se produce en casi todos los países de América Latina y el Caribe, pues su presencia es fundamental para la producción de distintos tipos de panes. Por lo general, las levaduras de los géneros *Candida* y *Saccharomyces* se utilizan en la alimentación para aprovechar sus componentes nutricios especialmente proteínas y vitaminas.

Desde un punto de vista estratégico, la producción de levaduras es una alternativa para sustituir importaciones de productos en la formulación de piensos para la alimentación animal. Los países en desarrollo que, en su mayoría, no cuentan con recursos para satisfacer sus déficits de proteínas, pueden mejorar la situación alimentaria al aprovechar su fuente de carbohidratos en la producción de levaduras.

La levadura torula es un producto alimenticio con alto contenido proteico que se obtiene a partir de un proceso fermentativo de la melaza. Posee una relación proteína/carbohidratos más alta que la de los forrajes; contiene L-lisina, lo que hace que la torula sea un suplemento para la

alimentación con cereales de bajo contenido de este aminoácido esencial. La levadura torula se puede usar en cualquier especie de animales aunque es más frecuente utilizarla en la preparación de piensos para el ganado avícola.

Las levaduras de forraje se utilizan fundamentalmente para alimentar cerdos y aves, con lo que se puede incrementar el valor del producto mediante la obtención de cepas ricas en metionina.

Entre las ventajas de la levadura como recurso proteico se pueden citar la gran velocidad de reproducción, alto contenido de proteína con buena calidad, requerimientos nutritivos simples y alto contenido de minerales.^[7,19]

2.9.3 Miel proteica

Los países en desarrollo, localizados en zonas tropicales o subtropicales, no poseen las condiciones climáticas ni el desarrollo tecnológico para obtener cosechas productivas de cereales (con la excepción de Argentina y Brasil), que son la fuente principal para alimentación animal.

La miel proteica es un producto desarrollado en Cuba con el fin de suministrar carbohidratos y proteínas en proporciones de 16% de proteína y 40% de materia seca. La miel proteica se obtiene por la mezcla de crema de levadura y mieles A y B o melazas. El producto es un líquido viscoso, con una composición variable que depende del tipo de miel utilizada en la producción. Por ello se pueden producir varios grados (tipo A, tipo B, tipo rica o mezcla de A y rica).

El uso principal de la miel proteica es en la alimentación de ganado porcino, de engorda y reproducción. La dieta se complementa con vitaminas y minerales para el balance nutricional de las diferentes especies de animales.

Indudablemente la producción de miel proteica o proteínica para la alimentación del ganado porcino proporciona posibilidades para la producción de carne, basada totalmente en la caña de azúcar, garantizando una base alimenticia no convencional con la utilización de métodos biotecnológicos.^[7,19]

2.9.4 L-lisina

La L-lisina se produce por procedimientos biotecnológicos, como la fermentación. En este caso la *Cornibacterium glutamicum* actúa sobre la melaza. El nombre técnico de este producto es el ácido 2,6 diaminohexanoico, que es un producto alifático diamino monocarboxílico, con un peso molecular de 146g/g mol.

El producto se presenta en forma cristalina como clorhidrato. También se puede preparar en forma de bioconcentrado con 15 a 25% de L-lisina o como L-lisina cristalina con 80% de pureza.

La L-lisina se comercializa en tres formas

- 1) El monohidrocloreto de L-lisina, producto seco en polvo con un contenido no menor al 98.5% de monohidrocloreto de L-lisina. Esta presentación es la más común
- 2) Acetato de L-lisina, cristales o polvo cristalino, con no menos de 98% del producto puro.
- 3) Solución al 50% de L-lisina ⁽¹⁹⁾

Usos

Se considera que la L-lisina es el aminoácido más importante en la contribución nutricional dentro de los roles biológicos y su consumo es indispensable en las dietas, tanto para alimentación humana como en mezclas alimenticias para animales, especialmente cerdos y aves. También se considera un producto importante en la industria farmacéutica. En Estados Unidos, la estructura de consumo señala 67% para alimento de cerdos, 29% para aves y 4% para otros usos ⁽¹⁹⁾

2.9.5 Glutamato de sodio

El glutamato de sodio se obtiene a partir de ácido glutámico que es uno de los aminoácidos no esenciales, presentes en todas las proteínas compuestas

Este ácido, igualmente llamado ácido 2-aminopentadiónico, con un peso molecular de 147, al reaccionar con sosa cáustica produce glutamato de sodio que tiene un peso molecular de 169. El glutamato de sodio se presenta en forma de pequeños cristales blancos conteniendo una molécula de agua

La sal de sodio del ácido L-glutámico es la que tiene la capacidad de acentuar el sabor. En la actualidad el proceso principal para su obtención es por vía fermentativa. Otros procesos son el de hidrólisis, que se utilizó para la producción a partir del gluten de trigo o maíz, considerado obsoleto hoy en día y el proceso de síntesis química basado en el acrilonitrilo

Hay poca información disponible en cuanto a los procesos mencionados ya que estos se encuentran protegidos por patentes

El Dr. S. Kinoshita fue quien desarrolló el proceso para obtener glutamato de sodio a partir de la melaza por vía fermentativa, para lo cual inoculó el *Micrococcus glutamicus* en un medio que además de la glucosa de la melaza contenía amonio o urea. Actualmente, Japón es el país con mayor conocimiento y tecnología en relación a este derivado producido a partir de la melaza de caña de azúcar ⁽¹⁹⁾

Usos

Otros usos se dan en la industria farmacéutica, en depilatorios, como agente fijador en preparaciones de "permanentes" y otros

La proporción de sus usos depende de las costumbres locales, por ejemplo, en Estados Unidos es la siguiente: sopas 20%, alimentos procesados 22%, venta a los consumidores 12%, mezclas de especias 16%, diversos usos institucionales 22%, alimentación animal 2%, y otros usos 6% ⁽¹⁹⁾

2.9.6 Ácido cítrico

El ácido cítrico es uno de los ácidos que más se utilizan en el mundo. Es un ácido dibásico y ello permite la formación de sales neutras, una de tipo monoalcalina y dos sales diferentes dialcalinas. También forma sales complejas solubles con varios iones metálicos.

Es un producto que abunda en el reino vegetal, especialmente en los productos cítricos (limón, toronja, naranja) y, en el jugo de limón, se encuentra a una concentración de alrededor de 7%.

En general, se considera que la materia prima debe ser la melaza de remolacha, como se utiliza en Europa y en los Estados Unidos y solamente en la India se está empleando la melaza de la caña de azúcar para la obtención de ácido cítrico. En los países miembros de GEPLACEA se utiliza el azúcar como materia prima ⁽¹⁹⁾

Usos

El ácido cítrico y/o sus sales se utilizan mayormente en la industria alimenticia y bebidas (60%), productos farmacéuticos (12%), limpieza y agua fuerte en metales (6%), tñido de textiles (5%), cosméticos (3%), polvo de lavado (12%) y otros (2%)

En Estados Unidos el uso se aplica en el siguiente porcentaje: bebidas 43%, alimentos 22%, detergentes 25%, productos farmacéuticos y cosméticos 5% y usos industriales misceláneos 5%.

En la industria alimenticia se le da un uso como acidulante, emulsificante, acentuador de sabor y como estabilizador de aceites y grasas. En la preparación de bebidas, con y sin gas, helados y productos de pastelería muy apreciados. También se utilizan en la industria farmacéutica con diversos fines y sus sales de sodio, potasio y hierro tienen amplia aplicación ⁽¹⁹⁾

2.9.7 Goma xantana

La goma xantana es un derivado de la agroindustria azucarera. La goma es un heteropolisacárido constituido por unidades monoméricas que contienen glucosa, manosa y ácido glucurónico en relaciones moleculares 2:8:2:2, respectivamente. Es un producto de muy alto peso molecular, aproximadamente dos millones, con dispersión de los pesos moleculares e incluye en su molécula sustituyentes de acetilo y ácido pirúvico.

Lo anterior contribuye a otorgarle características reológicas especiales, tales como la capacidad viscosificante en forma sinérgica y estabilidad en sus soluciones. Al ser una goma

se puede disolver y dispersar fácilmente en agua formando geles, soluciones y suspensiones viscosas.

La goma xantana se obtiene por un proceso biotecnológico con la acción de microorganismos en sustratos que contienen sacarosa (melaza o azúcar). Se ha determinado que es aconsejable el uso de soluciones azucaradas, en parte por su pureza y porque la concentración se puede controlar de manera uniforme.⁽¹⁷⁾

Como microorganismo se emplea *Xanthomonas campestris* presente en cultivos de coliflor y col, donde ataca fitopatológicamente a estas legumbres. El microorganismo, por medio de las técnicas de la biotecnología, se orienta biológicamente a sintetizar la goma xantana con las características reológicas que se requieren en el mercado.

Estas características reológicas se deben a la estructura ramificada de su molécula y su elevado peso molecular. La viscosidad aparente aumenta en forma exponencial con la concentración de las soluciones o dispersiones de goma xantana, dando viscosidades más altas que los alginatos, dextrinas y CMC. Tiene además otras características reológicas, tal como el punto de "cedencia", por el cual las soluciones de xantana requieren un esfuerzo inicial diferente de cero para que pueda fluir. Por estas propiedades la goma xantana, en ausencia de deformación, se pueden considerar como un sólido. Este punto depende del porcentaje de la goma en las soluciones. Esta propiedad no la tienen otros hidrocoloides en solución, lo cual le proporciona campos de aplicación especiales.

Otra propiedad reológica importante es la pseudoplasticidad, por la cual disminuye la viscosidad cuando hay un aumento de la deformación del fluido, es decir que se produce un adelgazamiento de las soluciones por acción de la agitación.

La goma xantana puede producirse en grado técnico y en grado alimenticio, dependiendo del nivel que se alcance en el proceso.

Usos

Los usos de la goma xantana están orientados a la alimentación y en usos industriales, en este caso la aplicación principal está orientada a los fluidos de perforación de pozos petroleros, en su terminación y mantenimiento, incluyendo los aspectos de recuperación secundaria.

La utilización en la agroindustria está enfocada a la preparación de soluciones de fertilizantes, fungicidas, herbicidas y plaguicidas que se aplican por aspersión. Se ha empezado a utilizar en otras industrias como la farmacéutica, cerámica, pinturas, textil, imprentas y explosivos entre otras.

Su mayor uso está en la alimentación, pues la goma xantana permite otorgar varias características que son necesarias en la preparación de ciertos alimentos.

También se utiliza en la obtención de alimentos presecados de preparación instantánea, en rellenos de pastelería, para optimizar el procesamiento de pastas y masas de panadería, en la fabricación de jugos de fruta, en la manufactura de helados a los cuales les controla la sinéresis (control del gel para evitar la exudación de la superficie)

La Administración de Alimentos y Fármacos (FDA) de Estados Unidos y organismos de la CEE y Canadá la han sometido a rigurosos ensayos, habiendo sido aprobada para alimentación humana ⁽¹⁹⁾

2.9.8 Dextrana

2.9.8.1 Antecedentes

Los polisacáridos microbianos pueden ser burdamente divididos dentro de dos grupos, homopolisacáridos y heteropolisacáridos. Los homopolisacáridos incluyen aquellos polímeros producidos de sacarosa por una variedad de bacterias, los miembros mejor conocidos de este grupo son las dextranas.

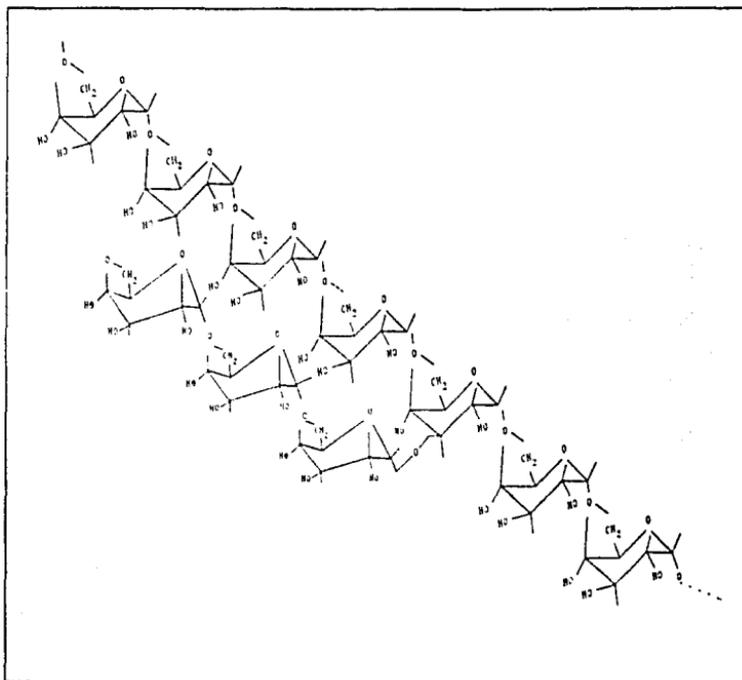
El término dextrana fue acuñado por Scheibleren en 1874 al encontrar que la causa de que espesara el jugo de caña de azúcar era la presencia de un carbohidrato con fórmula empírica $(C_6H_{10}O_5)_x$ y con una rotación óptica positiva. Ya en 1861 Pasteur había mostrado que estas masas mucilaginosas tenían un origen microbiano y Van Tieghem denominó a la bacteria que las causa *Leuconostoc mesenteroides*, aunque también *Leuconostoc dextranicum*, familia *Streptococcea* y familia *Lactobacteriaceae* son capaces de producirlos ⁽²⁵⁾

“Dextranas” es entonces un nombre colectivo para un amplio tipo de polisacáridos bacterianos extracelulares compuestos de la unidad monomérica alfa(1-6), principalmente. Existe una gran cantidad de dextranas con estructuras variables, desde las lineales hasta las altamente ramificadas y se obtienen de una gran variedad de microorganismos mediante síntesis enzimática. La enzima es una glucosiltransferasa denominada dextransacarasa y que es producida por *Leuconostoc mesenteroides*, *L. dextranicum*, *Streptococcus mutans*, *Str. Sangis* y otras bacterias lácticas. Todas las especies tienen una característica en común: la sacarosa es el único carbohidrato apropiado para la producción del polisacárido ^(2,3,13,15)

Las propiedades del polisacárido y la estructura final obtenida están estrechamente relacionadas a la cepa particular del que es producido.

Los trabajos más recientes se han llevado a cabo sobre la dextrana producida por *Leuconostoc mesenteroides*, en especial la cepa NRRL B512F. Esta cepa produce una dextrana con estructura lineal que contiene 95% de enlaces alfa(1-6) y solamente un 5% de ramificaciones en alfa(1-3), y es la cepa utilizada industrialmente en los Estados Unidos de América y en Europa Occidental para la producción del polisacárido (Fig. 2-6) ^(18,15,26)

Figura 2.6 ESTRUCTURA DE DEXTRANA DE *Leuconostoc mesenteroides* B-512F¹⁵



2.9.8.2 Síntesis

La síntesis de dextrana en la naturaleza y en la industria se lleva a cabo por la acción de una glucosil transferasa: la dextranasa que cataliza la reacción de transferencia de unidades glucosil a partir de sacarosa, formando un polímero de glucosa y la fructosa como subproducto^[19]

El proceso tiene lugar en dos partes: en la primera la célula bacteriana se divide arrojando la dextranasa al medio de cultivo. En la segunda parte, la polimerización enzimática de uniones de glucosa a dextrana tienen lugar gradualmente, mientras la dextrana es formada, el medio se espesa hasta formar una masa viscosa. Cuando la viscosidad tiene su valor más alto, se supone que el rendimiento máximo es obtenido. La dextrana es precipitada con metanol, etanol o acetona. El precipitado blanco gomoso es posteriormente secado y pulverizado para dar un hidrocólide de color blanco a ligeramente amarillento^[20]

La síntesis del polisacárido adquiere relevancia en la industria azucarera donde es sintetizado en forma no controlada por microorganismos presentes en el guarapo, causando una serie de dificultades.

2.9.8.3 Propiedades

La dextrana es un polisacárido natural soluble en agua fría o caliente dando soluciones claras y viscosas. Son insaboras, químicamente inertes y compatibles normalmente con muchos ingredientes usados en alimentos.

Tiene características típicas de un hidrocólide, tales como propiedades emulsificantes y estabilizantes en sistemas de aceite-agua, es también conocido por sus cualidades humectantes e imparte atributos de cuerpo a los alimentos líquidos.

Las estructuras químicas con bajo grado de ramificación proporcionan un alto grado de estabilidad a la despolimerización hidrolítica, la cual la hace utilizable como extensor de plasma sanguíneo sintético.

Fisiológicamente, la dextrana cuando es ingerida es hidrolizada lentamente a carbohidratos absorbibles que son utilizados. Esto fue mostrado en pruebas de alimentación en animales de laboratorio.

Se ha observado que existe colapso intestinal de la dextrana lo cual no solo es atribuible a la acción microbiana sino a enzima(s) presente(s) en la mucosa intestinal^[19]

Baker reportó que pruebas biológicas demostraron que cuando una dextrana que contiene una alta proporción de enlaces alfa (1-6) es incluida en una dieta normal sobre un régimen regular la ganancia en peso es inhibida^[19]

Quando la dextrana es comestible y asimilada sin efectos desfavorables en el sistema humano parece ser que el enlace alfa(1-6) es resistente al ataque por bacterias y a enzimas presentes en el tracto gastrointestinal. Esto sugeriría su uso en comidas bajas en calorías o en dietas de reducción de peso.^[18]

2.9.8.4 Aplicaciones

Productos horneados

Se ha mostrado que la incorporación de pequeñas cantidades de dextrana en masa para elaborar pan, produjeron panes que fueron más suaves y tuvieron un mayor volumen que los panes ordinarios hechos de masa sin dextrana. Las dextranas preferidas fueron las provenientes de *Leucorhizus mesenteroides* con un peso molecular en el intervalo de 20,000,000-40,000,000 de daltones.^[19]

Bebidas

Se ha usado dextrana para remplazar del 10 al 20% de la malta de la producción de la cerveza pilsener. Las cervezas tuvieron un buen sabor y estabilidad en la espuma y tuvieron el mismo color que la cerveza pura de malta.

El derivado de carboximetil dextrana es un efectivo estabilizante de espuma cuando es agregado a la cerveza o a otras bebidas de malta fermentadas a concentraciones de cerca de 0.5%.

Las dextranas han sido usadas como estabilizadores para bebidas de leche con chocolate e incluso se encontró efectividad en la estabilización de bebidas suaves y extracto de sabor. El uso de dextrana es útil en la producción de jarabes de azúcar no cristalizables, donde la estabilidad y viscosidad fueron características importantes. También se ha sugerido el uso de dextranas como agentes de cuerpo en bebidas bajas en calorías y en bebidas libres de azúcar.^[20]

Confitería

Las dextranas son consideradas como un constituyente deseable para uso en golosinas en las cuales hay como ingrediente azúcar. Su valor está en la capacidad para prevenir la cristalización, mejorar la retención de humedad, mejorar el cuerpo y mantener el sabor y la apariencia. Su uso es efectivo en dulces, jaleas y frutas enlatadas.^[20]

Cubiertas de protección

Las dextranas han sido empleadas para conservar una larga variedad de alimentos por medio de la prevención del secado de los alimentos durante el almacenamiento y protegiéndolos contra efectos de deterioro por la exposición al aire.

Se han usado en solución acuosa para la dispersión de dextrana nativa o hidrolizada para preservar camarones y otros productos. Similantemente, otros alimentos tales como carnes, fruta

seca y quesos pueden ser recubiertas con una capa de dextrana, la cual protege al alimento de secado en almacenamiento e incluso permite al producto ventilar los gases ^[20]

Médicas

Las dextranas han sido propuestas para usarse en un gran número de aplicaciones médicas e industriales pero el más grande uso ha sido en medicina, donde las dextranas parcialmente hidrolizadas han sido exitosamente usadas como extendedores de plasma sanguíneo en el tratamiento de shock. Para esta aplicación se requieren dextranas con un peso molecular en el intervalo de 10 mil a 50 mil daltones ^[20]

Usos diversos

También se han probado las dextranas como un acondicionador en gomas de mascar así como un estabilizante en productos helados. Pueden ser usadas incluso en la manufactura de cremas sintéticas y productos congelados. En general, las dextranas pueden remplazar por completo o en parte a algunas gomas tales como la goma arábica, caraya, tragacanto o alginatos ^[20, 30]

También se han propuesto los siguientes usos

- a) Recuperación secundaria de petróleo ^[26]
- b) Desfloculantes en productos papeleros ^[27]
- c) Proceso de chapado de metales ^[17, 26]

Las dextranas de alto peso molecular podrían ser antigénicas y causar efectos secundarios en algunos sujetos, por lo que la tendencia actual ha resultado en la comercialización de la dextrana 70 (PM 70,000) y dextrana 40 (PM 40,000) ^[17]

2.9.8.5 Dextranas en la industria azucarera

La presencia de *Leuconostoc mesenteroides* y otras bacterias del género como flora normal de la caña de azúcar es ahora generalmente aceptado como el factor más importante que contribuye al deterioro post-cosecha de la caña de azúcar. La flora microbiana es muy amplia y no puede adjudicarse a un microorganismo particular. La formación de estas gomas. Los microorganismos presentes en la caña cortada provienen del suelo y de los desechos de plantas en descomposición, y la población se ve influenciada por la temperatura, la humedad y la temporada. Las bacterias comúnmente encontradas en hojas y tallos pertenecen a las especies *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Xantomonas*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Leuconostoc*, *Bacillus* y *Cornibacterium*.

La forma más común de cosechar la caña en nuestro país consiste en prender fuego al campo, práctica que aumenta la temperatura del tallo entre 55 y 85°C. La quema de los cañaverales no

afecta grandemente a los microorganismos pues una gran variedad de ellos se encuentran viables minutos despues del quemado ⁽¹⁴⁾

Por lo general *Leucomostoc mesenteroides* y otras bacterias del genero, además de causar pérdidas significativas de sacarosa y acidificar la caña o remolacha con ácidos orgánicos, son capaces de convertir la sacarosa en dextranas que pueden seriamente afectar la eficiencia con la cual la caña o remolacha deteriorada podria ser procesada. Los efectos adversos que las dextranas tienen sobre la economía del procesamiento del azúcar, provienen de una combinación de varios factores que, juntos, sirven para disminuir la capacidad de la fabrica y refineria. Las dextranas insolubles por ejemplo contribuyen a tapan los filtros, tuberias, tamices y tanques y pueden interferir seriamente con la remoción de la materia suspendida en la etapa de clarificación de la manufactura del azúcar sin refinar. Estas gomas tambien promueven la formación de costras que resultan en pérdidas de calor en los evaporadores del jugo de caña.

Las viscosidades de los jugos de sacarosa cruda, jarabes y "mascuques" (mezcla de cristales y licor madre de los jarabes concentrados) son incrementadas por la presencia de dextranas solubles y tienen efectos indeseables en los procesos de filtración, clarificación, evaporación y refinación. Tambien ha sido demostrado que las dextranas solubles retardan la velocidad de cristalización de la sacarosa y tambien afectan la forma del cristal. Los cristales normales de sacarosa son monoclinicos y ligeramente elongados a lo largo de sus ejes "b", mientras que los cristales desarrollados en presencia de dextrana estan elongados a lo largo de sus ejes "c". El mecanismo de elongación de los ejes c, es incierto, sin embargo se ha sugerido que esto es causado por la adsorción temporal de moleculas del polisacárido dentro de las caras de crecimiento del cristal. El efecto parece ser favorecido por el incremento en la temperatura y el peso molecular o concentración de la dextrana ⁽¹⁵⁾

La formación de cristales en forma de aguja es particularmente indeseable porque causan que la calidad de la refinación del azúcar se vea disminuida y baja la eficiencia con la cual la parte cristalina de los jarabes es separada de los cristales de sacarosa en las maquinas centrifugas.

Un efecto importante de las dextranas en el procesamiento del azúcar es que ellas interfieren con los métodos polarimétricos usados en el control de la pureza de la sacarosa. Las dextranas son altamente dextrorrotatorias y, a menos que sean removidas antes de la determinación, causan que la pureza de las muestras se vea sobreestimada, por incrementar la lectura polarimétrica. Esto implica que al pretender medir sacarosa se mide tambien la dextrana y debe pagarse mas por un producto con menos contenido real de sacarosa a los productores de caña. Desde el punto de vista comercial no hay medios enteramente satisfactorios para prevenir la síntesis microbiana de dextranas en caña o remolacha dañada, ni la eliminación completa de dextranas de jugos crudos de caña deteriorados.

Actualmente la forma mas efectiva de prevenir la formación y una excesiva proporción de dextrana en caña de azúcar es minimizar el tiempo o espera entre el corte y el procesamiento de la caña. Alguna disminución de niveles de dextrana en jugos crudos de caña es aparentemente alcanzada en la etapa de clarificación de la manufactura del azúcar en la cual se adiciona oxido

de calcio o algún otro agente precipitante; ahora se han hecho consideraciones de la posibilidad de tratar los jugos crudos con preparaciones enzimáticas degradadoras de dextranas ^[15,18]

2.9.8.6 Dextranasas

Las dextranasas son enzimas poco utilizadas en la industria pero tiene un potencial importante. Sus aplicaciones son de tres tipos

- 1) hidrólisis de la placa dental para combatir la caries
- 2) hidrólisis controlada para la producción de dextranas de bajo peso molecular para uso clínico ^[17]
- 3) hidrólisis de la dextrana contaminante en la industria azucarera como se mencionó anteriormente ^[2,15]

La existencia de dextranasas ha sido reportada en hongos, levaduras, bacterias, tejidos animales y tejidos vegetales. Las endodextranasas son secretadas por diversos hongos y unas cuantas bacterias, las exodextranasas se encuentran predominantemente en tejido de mamíferos. ^[15]

Dextranasas fungales

Las dextranasas fungales actúan al azar sobre la molécula de dextrana produciendo isomaltosa principalmente, y también isomaltotriosa y glucosa y pueden provenir de diferentes cepas de microorganismos como son *Penicillium*, *Aspergillus*, *Verticillium* y *Spiraria*.

Actualmente se están explorando otro tipo de especies como *Paecilomyces lilacinus* para aplicaciones industriales. Esta cepa no ha sido relacionada con la producción de toxinas ^[15]

La contaminación primordial en ingenios azucareros es causada por *Leucomstoe mesenteroides* que produce una dextrana soluble con un 95% de enlaces alfa (1-6) y que, por la longitud de su cadena, produce fuertes incrementos en la viscosidad del jugo aun en bajas concentraciones.

Paecilomyces lilacinus es capaz de producir una dextranasa en forma extracelular. Este microorganismo tiene la ventaja de no estar relacionado filogenéticamente con productores de toxina como *Penicillium*. El pH óptimo de la enzima es 5.4 y la fermentación tiene buenos resultados a pH 7.0.

La enzima muestra actividades óptimas a pH 5.4, 65°C y no muestra inhibición por producto o por sustrato. La presencia de un 12% de azúcar fue evaluada, considerando la aplicación de la enzima en la industria azucarera y no se encontraron diferencias significativas en actividad ^[15]

Con base en lo aquí mencionado se llevará a cabo la determinación de la presencia de dextranas en mieles incristalizables de un ingenio azucarero del estado de Veracruz, México.

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y METODOLOGÍA

Para alcanzar los objetivos planteados en el presente trabajo de investigación se siguió la metodología propuesta en la literatura y se planteó una nueva metodología para la extracción e identificación de la dextrana obtenida

3.1 Origen de la muestra

La muestra de miel incristalizable provenía de un ingenio ubicado en el estado de Veracruz, México. Para su caracterización química, la metodología usada fue la siguiente

- Determinación de humedad. Método destilación por arrastre con tolueno^{[14],[7]}
- Determinación de cenizas. Método de la AOAC^{[1],[9]}
- Determinación de proteína. Método de Kjeldahl^{[1],[9]}
- Determinación de carbohidratos totales. Método del Fenol-Sulfúrico^[21]
- Determinación de azúcares reductores. Método DNS^[12]

También se hicieron estos análisis a las muestras de miel extraída

El fundamento y procedimiento de estas metodologías son descritas en detalle en el anexo B.

3.2 Metodología general propuesta para el estudio de las dextranas

Debido a que en la literatura no se cuenta con la metodología para la extracción e identificación de la dextrana se propuso la siguiente

- Extracción de la dextrana
- Determinación de carbohidratos totales y proteína de la muestra extraída
- Separación y preparación de la muestra
- Determinación de carbohidratos totales y azúcares reductores
- Hidrólisis enzimática
- Separación del polisacárido soluble e insoluble
- Blanqueo

- Determinación de azúcares reductores y carbohidratos totales
- Hidrólisis enzimática de la muestra blanqueada
- Cuantificación del etanol recuperable

El diagrama general de esta metodología se muestra en la figura 3.1. A continuación se describe la metodología propuesta para el estudio de la dextrana.

3.3 Extracción de la dextrana

Se probaron cinco diferentes concentraciones de etanol en agua destilada y cuatro diferentes diluciones de miel incristalizable en agua destilada, dando veinte combinaciones para verificar la cantidad de material precipitado por decantación. Las concentraciones utilizadas fueron las siguientes:

Solución de etanol	Miel incristalizable
20 % v/v	15 % p/v
40 % v/v	30 % p/v
60 % v/v	50 % p/v
80 % v/v	70 % p/v
90 % v/v	

Para la extracción se trabajó a temperatura ambiente (20°C).

Es importante hacer notar que durante la preparación de las muestras de melaza, en la muestra al 50 % p/v se observó la precipitación de unos sólidos los cuales tuvieron que ser separados por filtración. Una vez extraídas las dextranas se filtraron sobre papel filtro Whatman #1 (125 mm de diámetro del poro), previamente puesto a peso constante. Después de hecha la filtración se secaron a 60°C (porque a esta temperatura no hay una alteración en las dextranas).

Para una mejor recuperación del material precipitado se empleó la centrifugación a 1,500 rpm, (20°C durante 10 min), con las muestras de miel incristalizable al 50% y 70% ya que se observó que la precipitación con estas muestras era mayor.

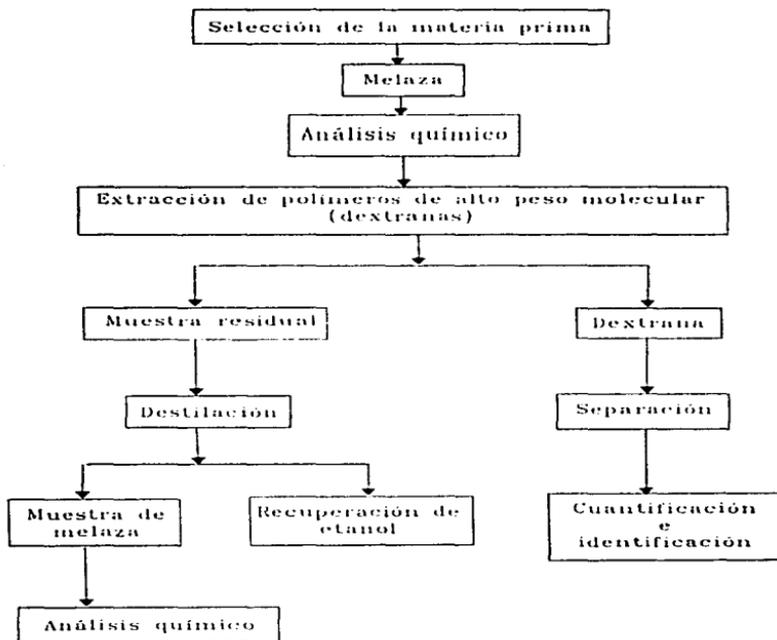
3.3.1 Determinación de carbohidratos totales y proteína de las muestras extraídas

Para poder tener un criterio más confiable en la elección de la mejor condición de extracción se determinó el contenido de carbohidratos totales en el precipitado obtenido. Para realizar este análisis se utilizó la misma metodología usada para las mieles incristalizables.

Se determinó el contenido de proteína empleándose para ello la misma metodología usada para las mieles incristalizables.

Las determinaciones se hicieron en todas las muestras extraídas utilizando muestras de miel incristalizables al 50 y 70 % p/v y soluciones alcohólicas al 50, 60, 80 y 90 % v/v.

Figura 3.1 METODOLOGÍA



3.4 Separación y preparación de la muestra para realizar la hidrólisis enzimática

3.4.1 Diálisis

Las muestras extraídas fueron dializadas (utilizando una membrana de poro de 3.4 kDaltones) para eliminar proteínas, carbohidratos de bajo peso molecular y color.

El procedimiento que se siguió para realizar la diálisis fue el siguiente:

- **Extraer la dextrana**
- **Disolverla en un volumen pequeño de agua destilada**
- **Preparar las membranas de diálisis de aproximadamente 20 cm de longitud poniéndolas en 500 mL de agua destilada aproximadamente 30 min**
- **Hacer el amarre de uno de los extremos con hilo grueso**
- **Llenar aproximadamente a la mitad de su capacidad las membranas con la muestra disuelta**
- **Amarrar el extremo libre, dejando un pedazo de hilo de aproximadamente 20 cm de longitud**
- **Suspender en un volumen de agua de aproximadamente 20 L la membrana de diálisis**
- **Hacer un cambio de agua cada 15 minutos durante las primeras 4 h y, posteriormente, cada hora**

Cuando ya no se perciba el olor dulce y el color café en el agua, se pone la membrana en agua destilada por 1 hora y posteriormente se corta la membrana en uno de sus extremos y se vacía el contenido a un matraz.

La duración de esta prueba es de 4 días o hasta el momento en que el agua deje de salir oscura y con olor a dulce.

3.4.2 Liofilización

La preparación de la muestra para realizar la hidrólisis enzimática consistió primero en liofilizar (con un vacío de -1 Psi y una temperatura de operación de -45°C) la muestra dializada para eliminar la humedad.

El procedimiento para liofilizar la muestra fue el siguiente:

La preparación de la muestra dializada, consistió en congelar la muestra en matraces kitasato utilizando un baño de acetona-hielo seco para llegar a una temperatura de aproximadamente -30 °C.

Al mismo tiempo se prendió el sistema de enfriamiento de la liofilizadora hasta que llegó a -45°C , momento en el cual se prende el vacío.

Cuando se llegó a -1 Psi de vacío se procedió a colocar las muestras en la liofilizadora

El tiempo de liofilización varía dependiendo de la cantidad de muestra. Para este estudio fue de aproximadamente 24 h

3.4.3 Determinación de carbohidratos totales y azúcares reductores

A la muestra dializada y liofilizada se le determinó el contenido de azúcares reductores utilizando el método del DNS para comprobar si estos se habían eliminado durante la diálisis, asimismo se determinó la cantidad de carbohidratos totales

3.5 Metodología para la identificación de la dextrana

3.5.1 Hidrólisis enzimática (precipitado obtenido, dializado y liofilizado)

Se midió la actividad enzimática de la dextranasa de *Panicillomyces lilacinus* usando la siguiente metodología:

- Dilución de la enzima 1:200
- Poner la enzima diluida en un recipiente con hielo
- Poner 4 tubos de ensayo con 1 mL de dextrana al 2.5% en un baño de agua a 60°C , por 5 minutos
- Adicionar 250 μL de la enzima
- Agitar y tomar alícuotas de 100 μL en los siguientes tiempos: 0, 3, 6 y 9 minutos
- Colocar el hidrolizado en tubos que contienen 100 μL de DNS
- Tapar y agitar
- Poner los tubos por cinco minutos en un baño de agua hirviente
- Enfriar a temperatura ambiente
- Adicionar 1 mL de agua y agitar
- Leer la absorbancia a 540 nm

Para corroborar que el sólido obtenido tiene las características de una dextrana nativa, se realizó una hidrólisis enzimática con una dextranasa obtenida de *Paeclitomyces lilactinus*, en las siguientes condiciones: temperatura 60 °C, pH 5.4 (solución reguladora de acetatos), tiempo de hidrólisis de 0 a 60 minutos (Fig 3.2). Además, se realizó una hidrólisis simultánea de una dextrana (obtenida industrialmente) de alto peso molecular bajo estas mismas condiciones.

Posteriormente, para cuantificar la cantidad de dextrana presente en el precipitado se determinó la cantidad de azúcares reductores utilizando el método de DNS.

3.6 Separación del polisacárido soluble e insoluble

La muestra dializada y liofilizada se disolvió en agua destilada y en regulador de acetatos (pH 5.4), encontrándose que después de media hora se observaba un precipitado en el fondo del matraz. Para realizar la separación del polisacárido soluble e insoluble se centrifugó a 15,000 rpm, a 20°C por 10 min.

3.7 Identificación del polisacárido soluble

3.7.1 Blanqueo

Para eliminar el color que presentaba la dextrana soluble se realizó un blanqueo con hipoclorito de sodio al 6%, posterior a esto, se realizó una diálisis y liofilización para eliminar el hipoclorito residual.

3.7.2 Determinación de carbohidratos totales

Para conocer de una manera indirecta el contenido de polisacárido en la muestra, se determinaron los carbohidratos totales utilizando el método ya mencionado.

3.7.3 Hidrólisis enzimática de la muestra blanqueada

Se realizó una hidrólisis enzimática con la muestra blanqueada bajo las condiciones de hidrólisis antes mencionadas.

3.8 Equipamiento usado

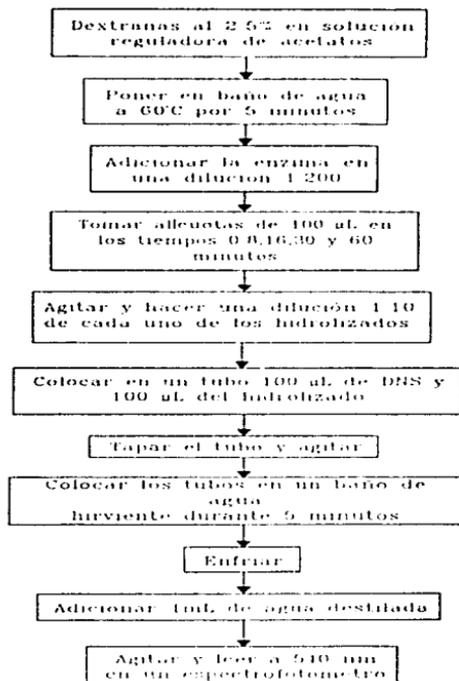
Aparato para la determinación de humedad en alimentos por destilación directa, marca PIREX.

Equipo de digestión y destilación (Método Kjeldahl, Facultad de Química)

Equipo de destilación simple, marca PIREX

Balanza analítica, marca OHAUS, serie No. N36434, Canadá

Figura 3.2 Diagrama de trabajo de la hidrólisis enzimática



Mufla marca SYBRON, modelo F-D1525M-1, empresa fabricante Thermolyne Corporation, EEUUA.

Estufa marca MAPSA, modelo HDT-27, empresa fabricante MAPSA, México.

Centrifuga marca BECKMAN, modelo J2-MC, empresa fabricante BECKMAN, EEUUA.

Espectrofotómetro marca PERKIN-ELMER, modelo C618-0337, PERKIN-ELMER, EEUUA.

Membrana de diálisis marca SPECTRAPOR, tubos estándares de diálisis 3-4 kilodaltones, empresa fabricante SPECTRUM MEDICAL INDUSTRIES, EEUUA.

Liofilizadora marca FREEZE-DRYER, modelo RP2V, empresa fabricante S.G.D, Argentina.

3.9 Análisis estadístico

El análisis estadístico (en este caso la media aritmética y análisis de regresión) son solamente un instrumento de ayuda en el análisis e interpretación de los datos.

3.9.1 La media aritmética

La media de la muestra se define como el promedio aritmético de todos los valores de la muestra es:

$$X = (X_1 + \dots + X_n) / n = \sum_{i=1}^n X_i / n = \Sigma X / n$$

donde n es el número de observaciones en la muestra.

La media aritmética está afectada por cada elemento de la muestra y principalmente por los valores extremos. Dos propiedades interesantes de la media aritmética son: 1) la suma de las desviaciones a partir de la media aritmética es cero y 2) la suma de los cuadrados de las desviaciones a partir de la media aritmética es menor que la suma de los cuadrados de las desviaciones a partir de cualquier otro valor.

Las ventajas de la media aritmética son: 1) es el promedio más comúnmente empleado, 2) es fácil de calcular, 3) se entiende fácilmente, 4) se presta a manipulaciones algebraicas.^[11]

3.9.2 Análisis de regresión

Cuando poseemos información acerca de dos o más variables relacionadas es natural buscar un modo de expresar la forma de las relaciones funcionales. Además es deseable conocer la

consistencia de la relación. Esto es, no se busca únicamente una función matemática que diga de qué manera están relacionadas las variables, sino que se quiere saber también con qué precisión se puede predecir el valor de una variable si se conocen los valores de las variables asociadas. Las técnicas utilizadas para lograr estos dos objetivos se conocen como métodos de regresión y métodos de correlación. Los métodos de regresión se usa para determinar la "mejor" relación funcional entre las variables.

El procedimiento estadístico para encontrar la línea recta de "mejor ajuste" a un conjunto de puntos es en cierto modo, una formalización del procedimiento empleado al hacer un ajuste visual de una recta.^[27]

El programa usado en este trabajo fue el análisis de regresión lineal de la computadora personal Scientific Library 116, FX-850P, manual del propietario (Casio, 1992).

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de la caracterización química de las mieles del ingenio en estudio, así como de esas mieles una vez extraídas las dextranas, muestran que la extracción, en efecto, elimina una gran proporción de cenizas, proteínas y, naturalmente, los carbohidratos totales, que forman parte del sólido precipitado (Tabla 4.1).

Tabla 4.1 Análisis químico de las mieles incristalizables
(en paréntesis, en base seca)

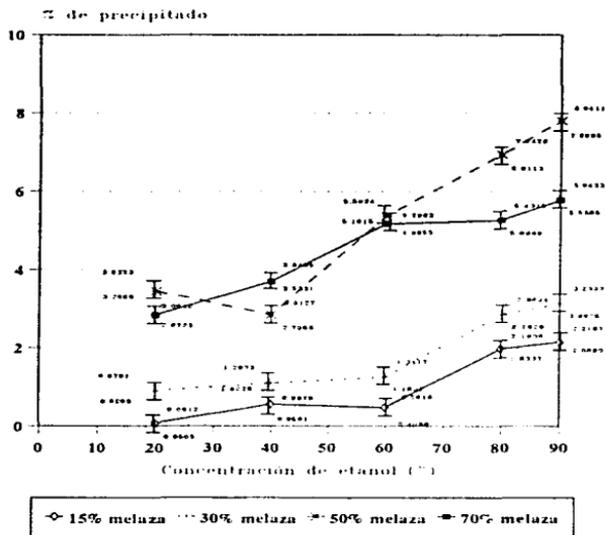
Determinación	Antes de la extracción	Después de la extracción
% Humedad	22.46	70.58
% Cenizas	8.81 (11.3618)	1.95 (6.6281)
% Proteína	3.07 (3.9592)	0.30 (1.0197)
% Carbohidratos	65.59 (84.5886)	26.95 (91.6044)
Total	99.93 (99.9066)	99.78 (99.2522)

Se realizaron las extracciones por precipitación con diferentes proporciones de melaza en agua destilada (20, 30, 50 y 70% en peso de melaza por volumen de agua) y para cada muestra de melaza acuosa se probó la precipitación de sólidos con soluciones alcohólicas al 20, 40, 60, 80 y 90% en volumen, obteniéndose el mayor porcentaje de precipitado para las muestras de melaza en agua al 50 y 70% (Fig. 4.1).

Posteriormente, con estas dos muestras se volvió a realizar la extracción utilizando la centrifugación como método de separación empleando las soluciones alcohólicas (30, 50, 60, 80 y 90 % v/v) (Fig. 4.2).

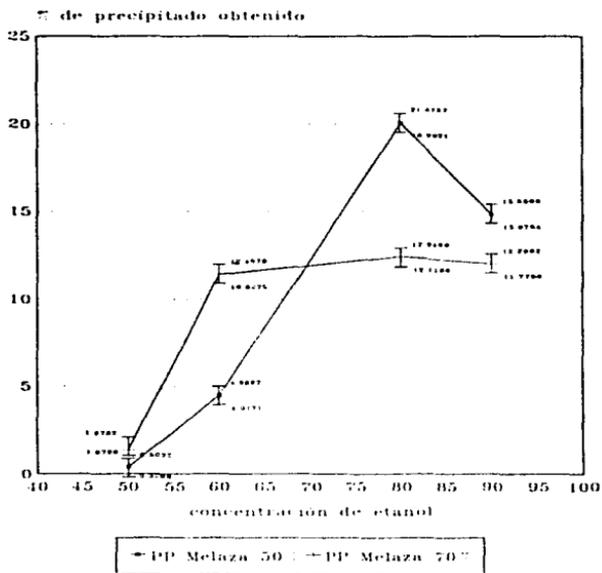
Figura 4.1 Condiciones de extracción de dextrana

Separación por precipitación



Proporción de mezcla 1:1 miel incristalizable / etanol
 (Datos obtenidos de un promedio de cinco determinaciones)

Figura 4.2 Condiciones de extracción de dextranas
 Separación por centrifugación



(Datos obtenidos de un promedio de cinco determinaciones)

Los precipitados obtenidos en esta última extracción se cuantificaron, se les determinó el contenido de carbohidratos totales (ya que este resultado permitió conocer con un gran margen de seguridad que el precipitado con mayor contenido de carbohidratos totales era el que contenía la mayor cantidad de dextranas debido a que éstas son un polisacárido de unidades de glucosa), el porcentaje de proteína expresado en g de carbohidratos totales y de proteína por cada 100g de miel incristalizable (Tabla 4.2).

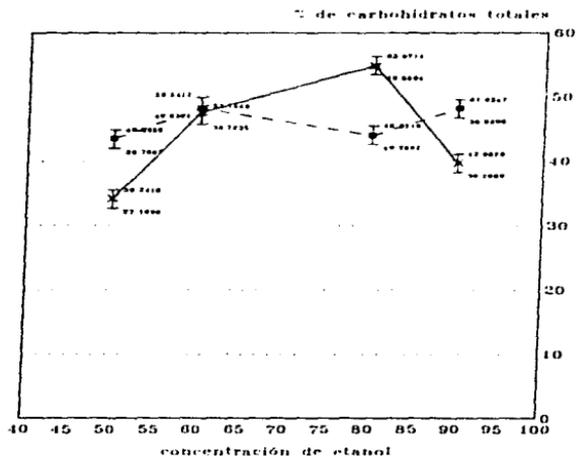
Tabla 4.2 Condiciones de extracción

Condiciones	% de precipitado	% de carbohidratos totales	% de proteína
melaza 50% solución alcohólica 30%	no se observa precipitado	no se observa precipitado	no se observa precipitado
melaza 50% solución alcohólica 50%	0.3999	34.2460	4.14
melaza 50% solución alcohólica 60%	4.5171	47.6200	7
melaza 50% solución alcohólica 80%	20.0753	54.8411	4.9
melaza 50% solución alcohólica 90%	14.8252	39.7288	5.99
melaza 70% solución alcohólica 30%	precipitación incipiente	precipitación incipiente	precipitación incipiente
melaza 70% solución alcohólica 50%	1.3679	43.4771	4.36
melaza 70% solución alcohólica 60%	11.4340	48.2618	5.24
melaza 70% solución alcohólica 80%	12.4481	44.0084	5.71
melaza 70% solución alcohólica 90%	12.0301	48.1790	6.02

Estos datos permitieron corroborar que, durante la extracción, también se precipitan proteínas y cenizas y que el porcentaje de carbohidratos en las muestras varía del 43% al 48% para la muestra de melaza acuosa al 70% y del 32% al 54% para la melaza acuosa al 50% (Fig. 4.3).

Figura 4.3 Condiciones de extracción de dextranas

Separación por centrifugación



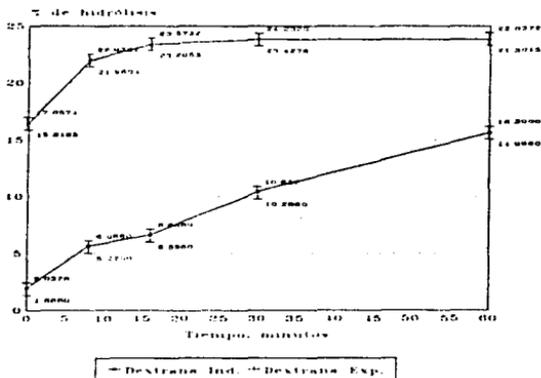
✕ CT Melaza 50% ■ CT Melaza 70%

(Datos obtenidos de un promedio de cuatro determinaciones)

Para realizar la hidrólisis enzimática de las dextranas obtenidas en este trabajo, se procedió a purificar el precipitado obtenido con melaza al 50% y solución alcohólica al 80% (ya que con ella se obtuvo el mayor porcentaje de precipitado y de carbohidratos, presuponiendo con ello que tiene un contenido mayor de polisacáridos). Se realizaron las diálisis y liofilización de la muestra y, posteriormente, se cuantificó la cantidad de carbohidratos totales y azúcares reductores, comprobándose que estos últimos se habían eliminado durante la diálisis (0% de azúcares reductores). También se determinó de manera indirecta, el contenido de carbohidratos totales, que fue del 49,4575% expresado como g de carbohidratos totales por 100g de precipitado.

Los resultados de las hidrólisis realizadas simultáneamente en la dextrana extraída y en una dextrana comercial de alto peso molecular, muestran que el grado de hidrólisis es diferente para cada muestra indicando que se trata de dos muestras de dextranas con propiedades no comparables por este método (Fig. 4.4).

Figura 4.4 Hidrólisis enzimática de dextranas
(Cada 15 ml de enzimas
Tiempo de hidrólisis)



Dextranasa de *Panethomyces Illinois*

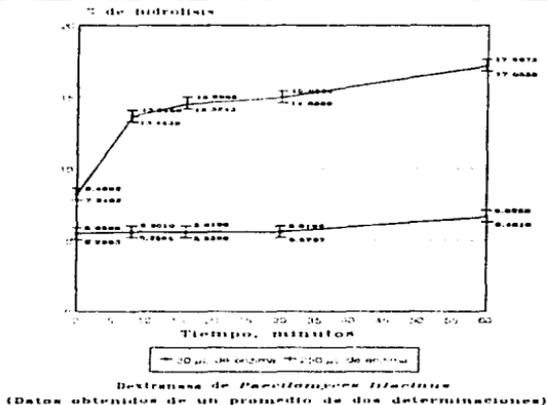
(Datos obtenidos de un promedio de dos determinaciones)

Durante la hidrólisis se observó a los 30 minutos la presencia de un precipitado el cual fue separado de la dextrana soluble usando centrifugación. Las fracciones soluble e insoluble fueron dializadas, liofilizadas y cuantificadas encontrándose 1.8339g de polisacárido insoluble lo que representa el 0.183% expresado como g por 100g de miel incristalizable (muestra original) con un contenido de carbohidratos totales de 30.0752% y 2.6038g de dextrana soluble lo que representa el 0.5365% expresado en g por 100g de miel incristalizable (muestra original) teniendo un contenido de carbohidratos de 91.8235%.

La dextrana soluble la cual presentó un color café, fue blanqueada con hipoclorito de sodio al 6%, después de lo cual fue dializada y liofilizada para eliminar el hipoclorito residual, obteniéndose 1.5206g de muestra blanqueada lo que representa el 0.4575% de la muestra de miel incristalizable original y con un contenido de carbohidratos totales del 90.256%.

Se realizó una hidrólisis enzimática con la dextrana blanqueada observándose que es hidrolizada por la dextranasa de *Paezilomyces lilacinus* lo que confirma que se trata de dextrana (Fig. 4.5).

Figura 4.5 Hidrólisis enzimática de la dextrana
Muestra blanqueada



El etanol se recuperó por destilación. Fue del 56.3125%, expresado como mL por 100 mL de etanol puro (Tabla 4.3).

Los resultados presentados en las tablas y las figuras son el promedio de las determinaciones realizadas; el resultado de cada una de ellas se muestra en el anexo C.

Tabla 4.3 Etanol recuperado

Muestra residual mL	mL de etanol recuperado	% etanol recuperado	promedio
154	53.5	55.7292	56.3125
154	54.0	56.2500	
154	54.2	56.4583	
154	54.7	56.9792	
154	53.9	56.1458	

Dado que las dextranas son un polisacárido de glucosa, al ser extraídas de las melazas, el contenido de carbohidratos totales de la misma disminuye.

Debido a la alta viscosidad que presentan las mieles incristalizables, los sólidos permanecen en suspensión y son arrastrados durante la separación con el precipitado de interés. Sin embargo, en las muestras de miel con dilución al 50% donde se observó una buena separación de estos sólidos.

La cantidad de precipitado obtenido presenta una relación proporcional a la cantidad de miel incristalizable acuosa utilizada y a la cantidad de solución alcohólica.

- 0.0561 g a 2.1570 g con melaza acuosa al 15%.
- 0.9099 g a 3.1417 g con melaza acuosa al 30%
- 3.4575 g a 7.8048 g con melaza acuosa al 50%
- y de 2.8476 g a 5.7865 g con melaza acuosa al 70%.

Reportados como gramos por cada 100 g de miel incristalizable.

En la realización de la hidrólisis simultánea de la muestra y una dextrana industrial de alto peso molecular, se observó que para la misma cantidad de enzima adicionada hay diferencias en el

grado de hidrólisis de la enzima con ambas muestras. Esto parece indicar que se trata de dextranas diferentes.

Las dextranas presentes en las melazas son producidas por diferentes microorganismos y tienen características diferentes. En el caso de la dextrana de alto peso molecular usada en este trabajo, la cual proviene de un microorganismo en particular (*Leuconostoc mesenteroides*), al parecer se tienen características diferentes a las de las dextranas extraídas de la miel, por lo que no puede hacerse una comparación efectiva.

El blanqueo permite obtener una dextrana soluble con un color crema y con características físicas, como apariencia y textura, similares a las de las dextranas comerciales.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

De este trabajo experimental puede concluirse lo siguiente:

1. Las condiciones más adecuadas para la separación de polímeros de alto peso molecular (dextranas) son utilizando muestras de miel incristalizable diluida en agua destilada al 50%, con una solución alcohólica al 80% y usando centrifugación como método de separación, ya que se encontró que los porcentaje de precipitación (20.0753g por 100g de miel incristalizable) y carbohidratos totales (54.8411g por 100g de precipitado) fueron los más altos.
2. La dextranasa obtenida del hongo *Paeclomyces lilacinus* empleando 10 unidades enzimáticas si hidroliza la muestra de dextrana obtenida por extracción de mieles incristalizables.
3. Se encontró en las melazas un 0.183% de un polisacárido insoluble y un 0.54 % de dextrana soluble.
4. El polisacárido soluble blanqueado con hipoclorito al 6% es hidrolizado por la dextranasa de *Paeclomyces lilacinus*. Con la adición de 30µL de enzima (60 min.) se hidroliza el 6.6422 % y con 250µL de enzima (60 min.) se hidroliza el 17.1765%. Esto indica que con la metodología propuesta en este trabajo se puede realizar la extracción, cuantificación e identificación de las dextranas presentes en las mieles incristalizables en estudio.
5. El alcohol empleado en la extracción de la dextrana puede ser recuperado por re-distilación de los residuos con eficiencias de casi 60%.

5.2 Recomendaciones

Sin embargo, con base en estos experimentos, se recomienda:

1. Continuar los experimentos probando ya las dextranas aisladas en usos específicos del área alimentaria y, tomando dextranas comerciales como control, verificar su eficiencia.
2. Realizar una evaluación técnico-económica de factibilidad para definir la bondad del proyecto, incluyendo la recuperación del etanol.
3. Con base en el análisis químico realizado en este proyecto se recomienda hacer estudios para saber los usos posibles de la melaza tratada ya sin dextranas, especialmente para la producción de levadura comercial y otros productos biotecnológicos de alta calidad.
4. Para conocer con exactitud la pureza del etanol recuperado es recomendable que se realice un estudio analítico, utilizando el CLAR o HPLC o el cromatografo de gases, a fin de aumentar la rentabilidad del proceso.

BIBLIOGRAFÍA

- 1-Aragón, M. E. y Villa, I (1994) *Prácticas de laboratorio de análisis de alimentos*. Departamento de Alimentos y Biotecnología, Tesis de Licenciatura, UNAM, Facultad de Química, México D.F.
- 2-Badui, S (1993) *Química de los alimentos*, 3ª Edición, Edit Alhambra, pp 62-65,319 México, D.F.
- 3-Baker, J, Jr (1959) *Dextrans in industrial gums*, Academic Press, pp 531-563. Nueva York. N.Y. EEUUA.
- 4-Birch, G y Parker, J (1978) *Sugar: Science and technology* Applied Science Publishers Ltd, Londres, Inglaterra
- 5-Bowers J (1992) *Food theory and applications*, Second Edition, Macmillan Pub Com, pag 130 Republic of Singapore
- 6 -CNIAA (1995). *Camara Nacional de las Industrias Azucarera y Alcoholera Resumen de producción zafra 1959/60-1994/95*, 4ª Edición, México D.F.
- 7.-Campos, T. y Rios M. A (1995) *Tratamiento aerobio de vinazas pretratados anaerobiamente en un reactor de biodiscos de 3000 litros Tesis de Licenciatura UNAM, Facultad de Química, México, D.F*
- 8 -Castillo, E., Iturbe, F., López-Munguía, A., Pelenc, V., Paul F y Monsan P (1992) *Dextran and oligosaccharide production with glucosyltransferases from different strains of *Leuconostoc mesenteroides**. Reprinted from *Enzyme Engineering XI*. Vol 672 of the *Annals of the New York Academy of Sciences*, November 30
- 9.-Castillo, H (1996) *Estudio sobre la caracterización de sacaridos en mieles incristalizables de ingenios azucareros de caña de azúcar Validación de las metodologías analíticas en un polarímetro y un cromatógrafo de líquidos de alta resolución Tesis Profesional, UNAM, Facultad de Química, México, D.F*
- 10 - Chávez, L.R (1974) *Industrialización de los subproductos de la caña de azúcar Tesis de Licenciatura, UNAM, Facultad de Química, México D.F*
- 11 - Darias, P y Quincoses-Suarez, M (1976) *Colloids in sugar manufacture Relationship between proteins and colloids contents* ATAC, 35(5),10-21
- 12 -Dubois, M., Gilles, A.; Hamilton, K, Rebers, A. y Smith F (1956) *Analysis biochemistry*, pag. 175 *Colorimetric method for determination of sugar and related substances*.

- 13.-Fennema, O (1985) **Introducción a la ciencia de los alimentos**, Editorial Reverté ,S.A., pag. 150. Barcelona, España.
- 14.-Franco, R. H (1973) **Proceso de elaboración de algunos productos de demanda nacional a partir de mieles incristalizables** Tesis de Licenciatura, UNAM, Facultad de Química, México D.F.
- 15.- Gálvez, A (1991) **Dextranas y dextranasas** Tecnología de Alimentos, México, 26, 6, 5
- 16.-García, A (1984) **Manual de campo en caña de azúcar** Serie Divulgación Técnica IMPA, Libro 24, 3ª Edición corregida, actualizada y aumentada Instituto para el Mejoramiento de la Producción de Azúcar. México, D F
- 17.-García, M., Quintero, R y López-Munguía, A (1993) **Biología alimentaria** 2ª Edición, Edit. Limusa, 2ª Edición, México D F
- 18.-GEPLACEA/PNUD (1990) **Manual de los derivados de la caña de azúcar**, 2da Ed. Colección GEPLACEA/PNUD. Serie diversificación. México, D.F
- 19.-GEPLACEA/PNUD (1991) **La diversificación de la agroindustria de la caña de azúcar en América Latina y el Caribe** Colección GEPLACEA. Serie Diversificación. México D F
- 20.-Glicksman M (1969) **Gum technology in the food industry** Academic Press, pp 334-344. Nueva York NY EEUUA
- 21.- Hart, L y Fisher, H J (1991) **Análisis moderno de los alimentos**, 2ª Ed Edit. Acribia pp. 499-501. Madrid, España.
- 22.- Honig, P (1969) **Principios de Tecnología Azucarera** 1ª Ed Edit. Continental, pp 110-123, 126-144 México D F
- 23.-ICIDCA (1986) **La industria de los derivados de la caña de azúcar** Instituto Cubano de Investigación de los Derivados de la Caña de Azúcar. Científico-técnica Ed. La Habana, Cuba.
- 24.-Jiménez, M y Martínez, M A (1995) **Instalación y arranque de un reactor anaerobio en un tren anaerobio-aerobio de una planta piloto de tratamiento de vinazas** Tesis de Licenciatura, UNAM, Facultad de Química, México, D F
- 25.-Mark, H., Bikales, N y Overberger, G Editores (1986) **Dextran encyclopedia of polymer science and engineering** 2ª Ed Vol 4, pag. 752 John Wiley & Sons, Inc Nueva York, NY EEUUA
- 26.-Martínez, J P. (1985) **Desarrollo de un proceso para la producción industrial de dextranas**. Tesis de Licenciatura. UNAM, Facultad de Química, México D F

- 27.-Mendenhall, W. y Reinmuth J. (1981). **Estadística para administración y economía**, 3ª Edición, Edit. Limusa, pp. 323-327. México, D.F. ; Casio (1992). **Manual del propietario**.
- 28.- Moroz, R. (1963). **Principles of sugar technology** , Vol. 3. Elsevier Pub. Co., Amsterdam, Holanda.
- 29.-Noa, H. (1983) **Perspectivas económicas de los derivados de la caña de azúcar. Tesis de grado**. La Habana, Cuba.
- 30.- **AOAC**. (1984). **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist** (1984). 14va edición. Washington, D.C. EEUUA.
- 31.-Ostle, B. (1983). **Estadística aplicada. Técnicas de la estadística moderna, cuando y donde aplicarlas**. Octava reimpresión, Edit. Limusa, pp. 72-25, 185-195. México, D.F.
- 32.- Owen, L. (1949). **The microbiology of sugar, syrups and molasses**, Barr-Owen Research Enterprises, Louisiana, FL. EEUUA.
- 33.- Paturau, M (1969). **Byproducts of the sugarcane industry**. Elsevier Pub. Co. Nueva York, NY. EEUUA.
- 34.-Pearson, D. (1973). **Laboratory techniques in food analysis**. John Wiley y Sons, Nueva York, NY. EEUUA.
- 35.-Pennington, N. y Baker C. (1990). **Sugar. A user's guide to sucrose**. AVI, Nostrand Reinhold, Nueva York, NY. EEUUA.
- 36.-Rodríguez, M.L. **Chemical composition of final molasses of the 1967 sugar cane harvest. Industria Alimenticia**, 2(1), 43-54, 1969.
- 37.-Shallenberger, R.S. y Birch C. G. (1975). **Sugar chemistry**. The AVI Pub. Co., Inc. Westport, CN. EEUUA.
- 38.-Sidebotham, R. (1974). **Dextrans**, Adv. Carbohydr. Chem. Bioquem (30),371-444.
- 39.-Subdirección de Investigación Tecnológica del Instituto para el Mejoramiento de la Producción de Azúcar (IMPA, México y GEPLACEA/ PNUD), con base a información de 1986. (1988). **La diversificación de la agroindustria azucarera en México. México cañero**, 1(10), 13-15, Noviembre. México D.F.
- 40.-Valdivia, M. A. (1987). **Efecto de los oxianiones en la síntesis enzimática de dextranas. Tesis de Maestría**. Facultad de Química, UNAM, México D.F.

ANEXO A

Tabla A.1 COMPOSICIÓN PROMEDIO DE MIELES INCRISTALIZABLES DE CAÑA DE AZÚCAR. ^[9-11,22,33,34]

Componentes		Promedio indicativo expresado en % en melazas	
Agua		20	
Sacarosa		35	
Otros carbohidratos			
Gomas solubles, xilosa, arabinosa etc		0.72	
Almidón		0.20	
Inositol		0.18	
Fitina		1.50	
D-manitol		1.80	
Acido urónico		0.60	
Metoxil			
Cenizas (Carbonatadas)		Promedio indicativo expresado en % en melazas	Intervalo de % de cenizas
Bases	K ₂ O	4.80	30-50
	CaO	1.20	7-15
	MgO	0.98	2-14
	Na ₂ O	0.10	0.3-0.9
	Fe ₂ O ₃ / Al ₂ O ₃	0.12	0.4-2.5
Ácidos	SO ₃	1.80	7-27
	Cl	1.80	12-20
	P ₂ O ₅	0.60	1-10
		0.60	1-7
Ácidos nitrogenados		Intervalo de % en melazas	
Proteína cruda		2.5-4.5	
Aminoácidos		0.3-0.5	
24 ácidos presentes de los cuales		mg por g de melazas	
Alanina		0.20-0.20	
g-aminobutírico		0.60-0.80	
Acido aspártico		0.90-1.65	
Acido glutámico		1.02-1.04	
Glicina		0.06-0.07	
Leucina		0.03-0.05	
Lisina		0.05-0.07	

Continuación, Anexo A. (Composición de...)

Ácidos nitrogenados...cont	Intervalo de % en melazas...cont
Serina	0.39-0.80
Treonina	0.30-0.90
Valina	0.11-0.20
Ácidos no nitrogenados	Intervalo en % en melazas
Aconítico	1-6
Cítrico	-----
Málico	-----
Mesacónico	1-2.5
Succínico	-----
Esteres, ceras	
1-Tricostanol	-----
Fitoesterol	-----
Stigmasterol	-----
Pigmentos	
Clorofila	-----
Taninos	-----
Antocianinas	-----
Vitaminas	mg por g de melazas
Biotina (H)	1-3
Colina (B ₄)	880
Ácido fólico (complejo B)	0.3-0.4
Niacina (complejo B)	17-30
Ácido pantoténico (complejo B)	20-60
Riboflavina (B ₂)	2-3
Piridoxina (B ₆)	1-7
Tiamina (B ₁)	0.6-1.0

ANEXO B

METODOLOGÍA EMPLEADA EN LA CARACTERIZACIÓN DE LAS MIELES INCRISTALIZABLES

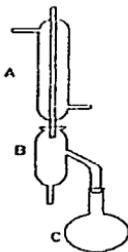
Determinación de humedad

Métodos de destilación directa (Destilación por arrastre con tolueno)

Es indispensable conocer la humedad de la muestra, para darle un valor real a la cantidad de sus componentes; además, en muchos casos, el dato de humedad está relacionado con la edad y/o el estado de conservación de la muestra.

Los métodos de destilación directa para la determinación de humedad implican la destilación a reflujo de los alimentos con un líquido inmiscible con el agua, menos densa que ella y normalmente con un punto de ebullición más elevado, por ejemplo tolueno (p. eb., 110°C) o xileno (p. eb., 140°C). El aparato (Fig. 1) se diseña de manera que el agua y el líquido inmiscible se volatilicen el matraz C, se condensen en A y caigan al colector B.

Figura 1. APARATO PARA LA DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN ALIMENTOS POR DESTILACIÓN DIRECTA¹³⁴



El líquido orgánico se mezcla en B con el mismo líquido y el exceso refluye y vuelve a C.

El agua, más densa, cae a la parte inferior del tubo graduado B donde se mide su volumen. Los sólidos deben pulverizarse finamente.

Procedimiento

En primer lugar, se limpia cuidadosamente el aparato con mezcla crómica, se enjuaga y se seca. Se pesa la muestra en el matraz seco, se llena hasta la mitad con tolueno y se ensamblan el refrigerante A y el colector B. Se hierve el líquido calentando el matraz con una manta eléctrica o con un baño de aceite hasta que no aumenta más el volumen de agua separada en el colector. Se mide el volumen total de agua (V mL) en la parte graduada y si es W el peso tomado de muestra en (g).

Agua en la muestra (%)= $100 \cdot V / W$

Determinación de cenizas: Método de la AOAC

Las cenizas son el producto de la calcinación del material orgánico o inorgánico a altas temperaturas (500-600°C). Este residuo contiene óxidos y sales. Dentro de los aniones que pueden estar presentes están los siguientes fosfatos, cloruros, sulfatos, etc. Los cationes que pueden estar presentes son sodio, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, etc.

El contenido de cenizas puede considerarse una medida de la calidad del proceso y puede ser usado para determinar identidad.

Procedimiento

Pesar aproximadamente de 3 a 5 g de muestra en un crisol (la muestra no debe sobrepasar la mitad del crisol) previamente pesado después de meterlo a la mufla 2 h a 600°C.

Calcinar la muestra, para ello carbonizar primero con mechero hasta que no se desprendan humos.

Meter a la mufla cuidando que la temperatura no pase de 550 °C para evitar que los cloruros se volatilicen.

Se suspende el calentamiento cuando las cenizas estén blancas o grises, aproximadamente 2 a 3 h (si se observan puntos negros, se humedecen con unas gotas de agua destilada, se secan en la estufa a 130 °C y se vuelven a calcinar).

Enfriar en desecador y pesar.

Notas

Se recomienda colocar los crisoles en la mufla fría y dejar que se alcance la temperatura (toda la noche).

La mufla se puede calentar hasta 425°C, se colocan las muestras y se calientan gradualmente hasta la temperatura deseada.

Para mejorar la calcinación, las cenizas pueden ser humedecidas ligeramente con agua.

Evitar las corrientes de aire, especialmente en cenizas esponjosas como son las de los productos azucarados (tapar con una caja petri o un vidrio de reloj, al enfriar)

En muestras líquidas, antes de la ignición se recomienda secar el material dentro de la cápsula, usando un baño de vapor.

Determinación de proteína

Método de Kjeldahl

Principio de la determinación de nitrógeno total

La cuantificación del nitrógeno es un estimador del contenido de proteína. La mayoría de las proteínas tienen una cantidad aproximada de 16 % de nitrógeno.

$$\text{Factor} = \frac{100 \text{ g de proteína}}{16 \text{ g de nitrógeno}} = 6.25$$

$$\% \text{ N}_2 \times \text{factor} = \% \text{ proteína cruda}$$

El método fue desarrollado en el año de 1883 y consiste principalmente en los siguientes puntos:

Digestión

Las condiciones de digestión hacen que se rompan todos los enlaces presentes

- Oxidación de proteínas y compuestos orgánicos por H_2SO_4 .
- Fijación del nitrógeno como sulfato de amonio.

Destilación

- Desprendimiento del amoníaco por una base fuerte

Titulación

- Ácido - base.

Factores que afectan la determinación

1. Efecto de la temperatura en la digestión.

-La recuperación cuantitativa de N_2 depende de la temperatura (temperatura óptima de digestión $360^\circ C$).

2. Influencia del catalizador

-Aumenta la eficiencia en la descomposición del material

-Mayor eficiencia con óxido de mercurio.

Procedimiento

Se pesan en balanza analítica 0.5-1.0 g de muestra en un papel delgado blanco y con todo y papel se introduce en un matraz de Kjeldahl de 800 mL.

Se agregan 0.3 g de sulfato de cobre pentahidratado, 5 g de sulfato de potasio ó sulfato de sodio, 15 mL de ácido sulfúrico concentrado y se añade pedazos de plato poroso o perlas de vidrio para regular la ebullición en la destilación.

Se coloca el matraz en el digestor del aparato Kjeldahl, abrir el extractor del vacío y calentar hasta la total destrucción de la materia orgánica.

Después de la digestión la solución debe quedar completamente cristalina (1 o 2 horas) enfriar.

Diluir la solución digerida con 350 mL de agua destilada y enfriar sobre hielo.

Añadir 40 mL de una solución concentrada de hidróxido de sodio (100 g en 100 mL de agua), que también ha sido enfriada sobre hielo, haciendo la resbalar lentamente por la pared del matraz con manera que se estratifiquen las dos soluciones. No agitar porque puede haber desprendimiento prematuro de amoníaco.

Añadir 0.2 g de polvo de zinc y conectar inmediatamente el matraz a la trampa de Kjeldahl, unida al refrigerante que a su vez está conectado a una alargadera que va introducida en 50 mL de HCl 0.1 N (medidos con pipeta volumétrica), contenidos en un matraz Erlenmeyer de 500 mL y adicionados de 5 gotas de indicador rojo de metilo 0.1% en alcohol. Las conexiones deben ser de un ajuste perfecto para evitar las fugas.

Una vez conectado el matraz agitar para mezclar las dos capas e inmediatamente colocar en la parrilla ya caliente del destilador, regular la ebullición al inicio de esta agitando de vez en vez.

Destilar aproximadamente hasta un volumen de 250 mL.

Suspender la destilación, retirando primero el matraz con el destilado de manera que la alargadera quede por encima y antes de apagar la parrilla dejar destilar unos minutos con objeto de lavar la alargadera por dentro y después lavarla por fuera recogiendo los lavados en el mismo matraz.

Titular el exceso de ácido con solución valorada de NaOH 0.1 N, hasta vire amarillo del indicador.

Corregir mediante una determinación en blanco de los reactivos usados, empleando la misma cantidad de papel.

Cálculos

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(\text{mL. blanco} - \text{mL. problema}) \times N (\text{NaOH}) \times 0.014 \times 100}{\text{peso de la muestra en gramos}}$$

$$\% \text{ Proteína cruda} = \% \text{ Nitrógeno} \times 6.25$$

0.014 = miliequivalentes químicos del Nitrógeno

Nota: Las determinaciones realizadas en este trabajo se recibió el destilado en ácido bórico al 4% y se tituló con HCl 0.1 N previamente valorado.

Determinación de carbohidratos totales

Para la determinación de los carbohidratos solubles totales, una solución acuosa de la muestra generalmente es tratada con ácido sulfúrico concentrado para hidrolizar completamente a los polisacáridos y deshidratar a las moléculas del o los monosacáridos obtenidos, el producto de esta deshidratación se hace reaccionar con compuestos fenólicos para formar compuestos coloridos cuya intensidad es proporcional a la cantidad de carbohidratos presentes.

Método fenol - sulfúrico

Fundamento

Se basa en la oxidación de los azúcares en presencia de sustancias ácidas como la mezcla de ácido sulfúrico-fenol, formando anillos furánicos coloridos cuantificables en el espectrofotómetro.

Ventajas

- Es útil para la determinación de hexosas a 490 nm y pentosas a 480 nm
- Es un método simple, rápido con resultados reproducibles
- No requiere especial atención en el control de las condiciones
- Puede ser utilizado para microdeterminación de azúcares, los metilderivados, oligosacáridos y polisacáridos.

-La intensidad del color desarrollado es función de la cantidad de fenol añadido, la cual debe ser constante, lo que indica menor o mayor concentración de azúcar.

-El color producido es estable por varias horas

Desventaja

-Si se varía la concentración de fenol entre una y otra determinación, afecta la intensidad del color desarrollado

Reactivos

-Fenol: Disolver 50g de fenol en agua y aforar a 1L.

-Destilar

-Ácido sulfúrico concentrado reactivo analítico

Metodología

1. Disolver los carbohidratos solubles con agua en una cantidad conocida de muestra. Por lo general 1 gramo en 50 - 100 mL de agua, dependiendo de la cantidad de carbohidratos que se espere obtener

2. Si la solución no es transparente, filtrar a través de papel, para eliminar cualquier material no soluble

3. En tubos de ensayo perfectamente etiquetados, coloque 1 mL de la solución acuosa de la muestra y adicione 0.6 mL de una solución acuosa de fenol al 5%, mezclando perfectamente después de la adición.

4. Inmediatamente después de la adición de la solución de fenol, adicionar cuidadosamente 3.6 mL de ácido sulfúrico concentrado, mezclando perfectamente

5. Dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente (aproximadamente 30 min) y determinar la intensidad del color naranja obtenido en un colorímetro a 480 nm, frente a un blanco preparado de la misma manera utilizando agua como muestra

Determinación de azúcares reductores

Una característica útil en la cuantificación de carbohidratos es la reactividad del grupo carbonilo presente en los monosacáridos libres o de los sacáridos que no involucran a este grupo en su enlace. Este grupo es fuertemente reductor, de tal manera que al cuantificar grupos

reductores en una solución acuosa de la muestra, se pueden estimar los carbohidratos reductores de la misma.

Método del DNS (ácido dinitrosalicílico)

Fundamento

Se basa en la reducción del ácido DNS por los azúcares reductores, formando un compuesto nitroaminado colorido cuya intensidad de color se mide espectrofotométricamente a 540 nm

Ventajas

- Método preciso y rápido en comparación con los que utilizan derivados fenólicos
- Útil en la determinación de azúcares reductores en solución y en hidrolizados que contengan pequeñas cantidades de levaduras

Desventajas

- La presencia de polifenoles ocasiona reducción en el reactivo

Reactivos

- Disolver 1 g de 3,5 ácido dinitrosalicílico en 20 mL de NaOH 2 N y 50 mL de H₂O con 30 g de tartrato doble de sodio y potasio, aforar a 100 mL
- Curva estándar de glucosa 0.2 - 2 mg/mL preservada en tolueno

Metodología

1. Preparar una solución de 1 mg/mL y llevar 1 mL de esta solución o bien tomar 1 mL del hidrolizado en un tubo de ensaye
2. Adicionar 1 mL del reactivo de DNS y calentar por 5 min en un baño de agua hirviendo
3. Enfriar y diluir con 10 mL de agua
4. Ajustar el espectrofotómetro con un blanco de reactivos y agua igualmente tratado que en la muestra a 540 nm
5. Cuantificar los problemas en la curva estándar.

ANEXO C

TABLAS DE RESULTADOS

Tabla C.1 Caracterización de la melaza usada como materia prima

Análisis químico		
Determinación de humedad	% de Humedad	Promedio 22.46
	21.8458	
	22.7201	
	22.8141	
Determinación de cenizas	% de Cenizas	8.81
	8.8125	
	8.8144	
	8.8089	
Determinación de proteínas	% de Proteínas	3.07
	3.1550	
	2.9077	
	3.1515	
Determinación de carbohidratos	% de Carbohidratos	65.59
	65.5946	
	65.9845	
	65.2048	

Tabla C.2 Caracterización de la melaza residual

Análisis químico		
Determinación de humedad	% de Humedad	Promedio 70.58
	70.7042	
	70.9037	
	70.1321	
Determinación de cenizas	% de Ceniza	Promedio 1.95
	2.0225	
	1.8872	
	1.9403	
Determinación de proteína	% de Proteína	Promedio 0.30
	0.2635	
	0.3221	
	0.3378	
Determinación de carbohidratos	% de Carbohidratos	Promedio 26.95
	27.0730	
	26.4560	
	27.3210	

EXTRACCIÓN Y SEPARACIÓN POR PRECIPITACIÓN

Tabla C.3 Muestra de melaza al 15%

Solución % alcohólica	Peso del precipitado en (g)	Promedio en (g)	% de precipitado
20%	0 00120 0 00099 0 00077 0 00150 0 00104	0 0011	0 0561
40%	0 0011 0 0019 0 0017 0 0014 0 0014	0 0015	0 0766
60%	0 0080 0 0110 0 0095 0 0090 0 0095	0 0094	0 4801
80%	0 0359 0 0384 0 0388 0 0391 0 0423	0 0389	1 9869
90%	0 0425 0 0419 0 0423 0 0409 0 0434	0 0422	2 1554

Tabla C.4 Muestra de melaza al 30%

Solución alcohólica	Peso del precipitado en (g)	Promedio en (g)	% de precipitado
20%	0.0280 0.0270 0.0297 0.0249 0.0284	0.0276	0.9099
40%	0.0329 0.0337 0.0310 0.0334 0.0365	0.0335	1.1044
60%	0.0390 0.0407 0.0381 0.0379 0.0358	0.0383	1.2626
80%	0.0859 0.0868 0.0867 0.0838 0.0898	0.0866	2.8549
90%	0.0950 0.0949 0.0929 0.0957 0.0980	0.0953	3.1417

Tabla C.5 Muestra de melaza al 50%

Solución alcohólica	Peso del precipitado en (g)	Promedio en (g)	% de precipitado
20%	0.1645 0.1769 0.1698 0.1829 0.1764	0.1741	3.4575
40%	0.1517 0.1426 0.1364 0.1408 0.1417	0.1437	2.8538
60%	0.2701 0.2816 0.2698 0.2711 0.2599	0.2705	5.3720
80%	0.3329 0.3517 0.3523 0.3647 0.3489	0.3501	6.9529
90%	0.3899 0.3901 0.3924 0.4049 0.3877	0.3930	7.8048

Tabla C.6 Muestra de melaza al 70%

Solución alcohólica	Peso del precipitado en (g)	Promedio en (g)	% de precipitado
20%	0.1978 0.1993 0.1875 0.1974 0.2150	0.1998	2.8476
40%	0.2701 0.2479 0.2586 0.2611 0.2608	0.2597	3.7013
60%	0.3716 0.3629 0.3611 0.3498 0.3711	0.3633	5.1779
80%	0.3811 0.3698 0.3572 0.3694 0.3735	0.3702	5.2762
90%	0.4170 0.4011 0.3886 0.3998 0.4135	0.406	5.7865

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

EXTRACCIÓN Y SEPARACIÓN POR CENTRIFUGACIÓN

Tabla C.7 Muestra de melaza al 50%

Solubilidad	Peso del precipitado en (g)	% del precipitado (g)	promedio
30%	no se observa precipitación	no se observa precipitación	no se observa precipitación
50%	0.0516	0.3413	0.3999
	0.0485	0.3208	
	0.0766	0.5072	
	0.0636	0.4206	
	0.0619	0.4096	
60%	0.7242	4.8097	4.5171
	0.7372	4.8962	
	0.6388	4.2426	
	0.6956	4.6199	
	0.6048	4.0171	
80%	2.8595	18.9921	20.0753
	3.2335	21.4757	
	2.9591	19.6533	
	2.9707	19.7303	
	3.0903	20.5251	
90%	2.2800	15.1429	14.8252
	2.2333	14.8327	
	2.3413	15.5508	
	2.1042	13.9754	
	2.2019	14.6242	

Tabla C.8 Muestra de melaza al 70%

Solución alcohólica	Peso del precipitado en (g)	% de precipitado	Promedio (g)
30%	precipitación incipiente	precipitación incipiente	precipitación incipiente
50%	0.2827	1.3455	1.3679
	0.3526	1.6782	
	0.2683	1.2770	
	0.2250	1.0709	
	0.3084	1.4679	
60%	2.2884	10.8225	11.4340
	2.3867	11.2859	
	2.3831	11.2704	
	2.6236	12.4078	
	2.4069	11.3834	
80%	2.6108	12.3473	12.4481
	2.7376	12.9469	
	2.6307	12.4413	
	2.6192	12.3870	
	2.5623	12.1180	
90%	2.5188	11.9126	12.0301
	2.5299	11.9647	
	2.6000	12.2962	
	2.5685	12.1972	
	2.4489	11.7798	

DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS TOTALES

(Método del fenol-sulfúrico)

Tabla C.9 Curva patrón de glucosa

Solución estándar de glucosa 100µg/mL

Glucosa µg/mL	mL estándar	mL agua	Absorbancia	Absorbancia	Promedio Abs.
0	0	1	0	0	0
10	0.1	0.9	0.132	0.138	0.135
20	0.2	0.8	0.351	0.360	0.3555
40	0.4	0.6	0.617	0.618	0.6175
60	0.6	0.4	0.804	0.796	0.800
80	0.8	0.2	1.127	1.132	1.1295
100	1	0	1.258	1.261	1.2595

Análisis de regresión

Ordenada al origen: 5.7791E-2

Pendiente: 1.2649E-2

Coefficiente de regresión: 0.9929

Tabla C.10 Muestra de melaza al 50%

Solución alcohólica	Peso de la muestra (g)	Absorbancia	µg/mL	% Carbohidratos	Promedio
15%	0 0110	0 435	29 8199	27 1090	34 2460
	0 0105	0 493	34 4050	32 7666	
	0 0105	0 579	41 2037	39 2416	
	0 0099	0 532	37 4882	37 8669	
	0 0116	0 738	53 7734	46 3564	
60%	0 0111	0 804	58 9909	53 1449	47 6200
	0 0120	0 851	62 7065	52 2554	
	0 0116	0 626	44 9193	38 7235	
	0 0108	0 771	56 3822	52 2057	
80%	0 0116	0 785	57 4889	49 5594	54 8411
	0 0109	0 867	63 9714	63 9714	
	0 0110	0 804	58 9909	58 6281	
	0 0101	0 551	38 9902	38 6041	
90%	0 0115	0 656	47 2909	41 1225	39 7288
	0 0109	0 577	39 4646	36 2060	
	0 0108	0 645	46 4214	42 9828	

Tabla C.11 Muestra de melaza al 70%

Solución alcohólica	Peso de la muestra (g)	Absorbancia	µg/mL	% Carbohidratos	Promedio
50%	0 0103	0 622	44 6031	43 3039	43 4771
	0 0095	0 556	39 3855	41 4584	
	0 0100	0 561	39 7807	39 7807	
	0 0099	0 676	48 8720	49 3656	
	0 0108	0 625	44 8402	41 5185	
60%	0 0119	0 661	47 6862	40 0724	48 2618
	0 0115	0 813	59 7025	51 9152	
	0 0117	0 939	69 6633	59 5412	
	0 0130	0 761	55 5917	42 7628	
80%	0 0125	0 695	50 3741	40 2992	44 0084
	0 0118	0 725	52 7457	44 6997	
	0 0115	0 760	55 5126	48 2718	
	0 0110	0 559	39 6227	36 0206	
90%	0 0113	0 643	46 2632	40 9408	48 1790
	0 0112	0 931	69 0309	61 6347	
	0 0109	0 804	58 9909	54 1201	

Determinación de proteína (método de Kjeldahl)

Tabla C.12 Muestra de melaza al 50%

Solución alcohólica	Peso de muestra (g)	mL de HCl 0.1028 N	% Proteína	Promedio
50%	0.2296	1.05	4.11	4.14
	0.2368	1.1	4.17	
60%	0.4493	3.5	7.00	7.005
	0.4998	3.9	7.01	
80%	1.0119	5.4	4.80	4.905
	1.0053	5.6	5.01	
90%	1.0314	6.8	5.93	5.99
	0.9801	6.6	6.05	

Tabla C.13 Muestra de melaza al 70%

Solución alcohólica	Peso de la muestra en (g)	mL de HCl 0.1028N	% de Proteína	Promedio
50%	0.217	1.3	4.14	4.365
	0.2546	1.6	4.59	
60%	0.6680	4	5.38	5.245
	0.7029	4	5.11	
80%	1.0891	6.9	5.69	5.715
	0.9862	6.3	5.74	
90%	0.9676	6.9	6.1354	6.0277
	0.9867	6.8	5.92	

Tabla C.14 Determinación de carbohidratos totales de la muestra de dextrana dializada y liofilizada

Peso de la muestra (g)	Absorbancia	$\mu\text{g/mL}$	% Carbohidratos	Promedio
0.0011	0.715	51.9551	47.2319	49.4575
	0.725	52.7457	47.9506	
	0.745	54.3267	49.3879	
	0.784	57.4099	52.1908	
	0.759	55.5712	50.5265	

Determinación de azúcares reductores

Tabla C.15 Curva patrón de glucosa
Solución estándar 1000 $\mu\text{g/mL}$

* Glucosa $\mu\text{g/l}$	Absorbancia	Absorbancia	Promedio
0.2	0.102	0.112	0.1070
0.4	0.223	0.232	0.2270
0.6	0.341	0.323	0.3320
0.8	0.445	0.464	0.4545
1.0	0.556	0.572	0.5640
1.2	0.672	0.648	0.6600
1.4	0.701	0.734	0.7170
1.6	0.800	0.823	0.8320
1.8	0.986	1.025	1.0055
2.0	1.130	1.176	1.1530

Análisis de regresión

Ordenada al origen: -2.06818e-3

Pendiente: 0.55225

Coefficiente de regresión: 0.9968

Tabla C.16 Determinación de azúcares reductores de la muestra de dextrana dializada y liofilizada

Peso de la muestra (g)	Absorbancia
0.099	0.000
	0.004
	0.000
	0.000
	0.001

Hidrólisis enzimática

Tabla C.17 Dextrana grado industrial

Tiempo (min)	Absorbancia	Absorbancia	(g/L)	(g/L)	% Conversión	Promedio
0	0.024	0.026	0.4720	0.5082	1.888 2.0328	1.9604
8	0.070	0.082	1.305	1.522	5.220 6.088	5.654
16	0.090	0.089	1.667	1.649	6.668 6.596	6.632
30	0.145	0.140	2.663	2.572	10.652 10.288	10.47
60	0.205	0.223	3.749	4.075	14.996 16.300	15.648

Dextrana grado industrial.

5,000,000-40,000,000 Peso molecular promedio

Compañía SIGMA, No. D-5501

Peso de la dextrana 2.5016 g/100 mL

Dilución del hidrolizado 1:10

Enzima: 15µL dilución 1:100

Relación E/S: 6×10^{-3} mL de enzima/g de dextrana

Tabla C.18 Dextrana experimental

Tiempo (min)	Absorbancia	Absorbancia	(g/L)	(g/L)	% Conversión	Promedio
0	0.214	0.231	3.913	4.220	15.8165 17.0574	16.4369
8	0.298	0.299	5.433	5.451	21.9604 22.0331	21.9967
16	0.215	0.320	5.741	5.832	23.2053 23.5732	23.3892
30	0.329	0.318	5.995	5.796	24.2320 23.4276	23.8298
60	0.299	0.289	5.452	5.270	22.0372 21.3015	21.6693

Dextrana experimental

Dextrana dializada y liofilizada con un contenido promedio de carbohidratos de 49.4574

Peso de la muestra 0.1237 g/2.5 mL

Dilución del hidrolizado 1:10

Enzima: 15 µL dilución 1:100

Relación ES: 6.0630×10^{-1} mL de enzima/g de dextrana

Cuantificación de carbohidratos de los polisacáridos soluble (dextrana) e insoluble

Tabla C.19 Cuantificación de carbohidratos totales del polisacárido insoluble

Absorbancia	µg/mL	% Carbohidratos	Promedio
0.325	30.2864	30.2864	30.0752
0.333	30.9904	30.9904	
0.317	29.5823	29.5823	
0.326	30.3744	30.3744	
0.312	29.1423	29.1423	

Tabla C.20 Cuantificación de carbohidratos totales del polisacárido soluble

Absorbancia	$\mu\text{g/mL}$	% Carbohidratos	Promedio
0.689	62.3207	61.0987	61.8235
0.697	63.0248	61.7890	
0.699	63.2008	61.9616	
0.711	64.2569	62.9970	
0.691	62.4968	61.2713	

Tabla C.21 Cuantificación de carbohidratos totales del polisacárido soluble (dextrana blanqueada)

Absorbancia	$\mu\text{g/mL}$	% Carbohidratos	Promedio
0.968	86.8746	90.4944	90.256
0.978	87.7546	91.4110	
0.942	84.5864	88.1108	
0.983	88.1947	91.8695	
0.956	85.8185	89.3943	

Tabla C.22 Hidrólisis enzimática de la dextrana blanqueada

Tiempo (min)	Absorbancia	Absorbancia	Promedio	(g/L)	% Conversión
0	0.130	0.139	0.1345	2.473	5.4800
8	0.129	0.145	0.137	2.518	5.5797
16	0.136	0.138	0.137	2.518	5.5797
30	0.137	0.138	0.1375	2.527	5.5996
60	0.159	0.168	0.1635	2.998	6.6433

Dextrana dializada y liofilizada con un contenido promedio de CHO's de 49.4574

Peso de la muestra 0.1237 g/2.5 mL

Dilución del hidrolizado 1:10

Enzima: 30 μL dilución 1:200

Relación E/S: 3.3228×10^{-3} mL de enzima / g de dextrana

Segundo ensayo

Tabla C.23 Hidrólisis enzimática de la dextrana blanqueada.

Tiempo (min)	Absorbancia	Absorbancia	Promedio	(g/L)	% Conversión
0	0.209	0.196	0.2025	3.704	8.2077
8	0.343	0.333	0.3380	6.158	13.6456
16	0.330	0.389	0.3595	6.547	14.5076
30	0.373	0.369	0.371	6.755	14.9685
60	0.423	0.429	0.426	7.751	17.1756

Dextrana dializada, liofilizada y blanqueada con un porcentaje de carbohidratos totales de 90.256%.

Dilución del hidrolizado 1:10

Enzima: 250 μ L dilución 1:200

Relación E/S: 2.7699×10^{-2} mL de enzima/g de dextrana