

Obtención de jarabes glucosados por hidrólisis enzimática empleando almidón de sorgo CIAPR-132

C. Nieblas-Morfa^{1*}, I. Gallardo Aguilar¹, L. Rodríguez Rodríguez¹, F. Sarría-Quesada³, J. Batista de Almeida² and M. Pérez Pentón¹

¹Facultad de Química y Farmacia Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Cuba

²Departamento de Biotecnología Escola de Engenharia de Lorena da USP. Brasil

³Unidad Empresarial de Base Glucosa de Cienfuegos. Cuba.

Obtaining glucose syrups by enzymatic hydrolysis using sorghum starch CIAPR-132

Obtenció de xarops glucosats per hidròlisi enzimàtica emprant midó de sorgo CIAPR-132

RECEIVED: 16 DECEMBER 2016. REVISED: 2 FEBRUARY 2017. ACCEPTED: 10 MARCH 2017

SUMMARY

This research is aimed at studying the possible replacement of corn by sorghum in the production glucose syrups for food industry, considering the evaluation of the potential of this cereal. In this sense a compound experimental design of 2^k type using the software Statgraphics Centurion XV in processing the results of the process developed in the laboratory was performed. To do this, the influence of three independent variables were analyzed: α -Amylase enzyme concentration (X₁) in the levels of 0,06 and 0,16% w/w, the concentration of enzyme Amyloglucosidase (AMG) (X₂) in the levels of 0,18 and 0,375% w/w and saccharification time (X₃) in the levels of 24 and 48 hours; on the variable responses ° Brix and Total Reducing Sugars (SRT) ; besides of each experiment, the yield achieved was determined. The best results were for the greatest concentration of alpha amylase enzyme and enzyme concentration AMG and saccharification time in the lower values. The best results was of 52,22 °Brix and 68,76% of ART.

Keywords: Sorghum; concentration; enzyme; hydrolysis; saccharification.

RESUMEN

La presente investigación está encaminada al estudio de la posible sustitución del maíz por el sorgo en la producción de jarabes glucosados para la industria alimenticia, considerando la evaluación de las potencialidades de dicho cereal. En este sentido se realizó un diseño experimental compuesto del tipo 2^k, utili-

zando el Software Statgraphics Centurion XV en el procesamiento de los resultados del proceso desarrollado en el laboratorio. Para ello se analizó la influencia de las variables independientes: concentración de enzima alfa amilasa (X₁) en los niveles de 0,06 y 0,16 %p/p, la concentración de enzima amiloglucosidasa (AMG) (X₂) en los niveles de 0,18 y 0,375 %p/p y tiempo de sacarificación (X₃) de 24 y 48 horas sobre las variables respuestas °Brix y Azúcares Reductores Totales (ART); además se determinó el rendimiento de cada experimento, obteniéndose los mejores resultados para la mayor concentración de enzima alfa amilasa, concentración de enzima AMG y tiempo de sacarificación en los menores valores. Los mejores resultados se obtuvieron para el Brix de 52,22 y ART de 68,76%.

Palabras clave: Sorgo; concentración; enzima; hidrólisis; sacarificación.

RESUM

La present investigació està encaminada a l'estudi de la possible substitució del blat de moro per el sorgo en la producció de xarops glucosats per a la indústria alimentària, considerant l'avaluació de les potencialitats d'aquest cereal. En aquest sentit es va realitzar un disseny experimental compost del tipus 2^k, utilitzant el Programari Statgraphics Centurion XV en el processament dels resultats del procés desenvolupat

*Corresponding author: cnieblas@uclv.cu

al laboratori. Per a això es va analitzar la influència de les variables independents: concentració d'enzim alfa amilasa (X_1) en els nivells de 0,06 i 0,16%p/p, la concentració d'enzim amiloglucosidasa (AMG) (X_2) en els nivells de 0,18 i 0,375%p/p i temps de sacarificació (X_3) de 24 i 48 hores sobre les variables respostes °Brix i Sucres Reductors totals (ART); a més es va determinar el rendiment de cada experiment, obtenint els millors resultats per a la major concentració d'enzim alfa amilasa, concentració d'enzim AMG i temps de sacarificació en els valors més petits. Els millors resultats es van obtenir per al Brix de 52,22 i ART de 68,76%.

Paraules clau: Sorgo; concentració; enzim; hidròlisi; sacarificació.

INTRODUCCIÓN

El sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) es el quinto cereal más importante en el mundo después del trigo, maíz, arroz y cebada. Sin embargo las propuestas tecnológicas utilizadas en Cuba, no contemplan su utilización en la producción de almidón, el cual es susceptible de ser convertido mediante hidrólisis enzimática en jarabes altamente demandados en la industria alimenticia, sin embargo este cereal constituye una alternativa promisoriosa en la sustitución de importaciones dada las ventajas de su cultivo, además de contribuir a la diversificación de la dieta para enfermos celíacos ya que este cereal no contiene gluten.

Actualmente existe un gran interés en la utilización del sorgo como fuente de energía y en la elaboración de alimentos para el consumo humano y/o animal, sustituyendo al trigo en la panificación y al maíz amarillo en la elaboración de alimentos concentrados¹.

El almidón y sus derivados son utilizados en muchos procesos industriales. Su uso no está limitado al procesamiento de alimentos, también se aplica en la industria del papel, textil, farmacéutica y en adhesivos². Su contenido de amilosa y amilopectina, temperatura de gelatinización, consistencia del gel y textura, comportamiento viscoso y propiedades térmicas permite su utilización en la industria alimenticia como estabilizante, agente de relleno, adhesivo, ligante, enturbiante, formador de películas, estabilizante de espumas, agente de anti envejecimiento de pan, gelificante, glaseante, humectante y espesante³.

El almidón es el principal carbohidrato y componente del sorgo, constituye aproximadamente el 79% del peso del grano seco⁴, presenta gránulos esféricos de tamaño que oscila entre 5 a 20 μm de diámetro. Está compuesto de 20-30 % de amilosa y 70-80 % de amilopectina, siendo influenciada esta relación por factores ambientales y genéticos⁵. Esta relación afecta las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón. El contenido de amilosa afecta fuertemente la gelatinización y la retrogradación, la viscosidad y la gelación; y se ha encontrado que la estructura fina de la amilopectina (distribución de las cadenas) también tiene influencia en la gelatinización y las propiedades de retrogradación del almidón⁶.

Tradicionalmente se ha considerado el maíz como una de las fuentes principales de obtención de almidón, por su bajo costo de producción y alto rendimiento. Sin embargo, el sorgo presenta grandes ventajas agronómicas con respecto al maíz ya que es más resistente a la sequía y a las altas temperaturas, además de que constituye un cultivo de rotación por su aporte al suelo de niveles significativos de materia orgánica reduciendo así el uso de fertilizantes nitrogenados.

Hidrólisis del almidón

Industrialmente la hidrólisis se realiza por métodos enzimáticos o con soluciones de ácidos, como el ácido clorhídrico o sulfúrico, y se aplica calor para facilitar el rompimiento de los enlaces glucosídicos. En el método enzimático se utilizan alfa amilasa, beta amilasa, amiloglucosidasa, pululanasa y fosforilasa; obteniéndose productos como jarabes, mezcla de dextrinas, maltosa, glucosa y almidón modificado. Esta modificación da como resultado que el almidón forme geles de gran claridad y muy fuertes, y soluciones de menor viscosidad⁷.

En la etapa de licuefacción o dextrinización empleando la enzima alfa amilasa por ejemplo la Termamyl (120L), que es un preparado enzimático líquido y concentrado a base de α -Amilasa termoestable, producida a partir de una cepa de *Bacillus licheniformes*, se hidrolizan los enlaces glucosídicos α -1,4 al azar de la amilosa y la amilopectina, convirtiendo el almidón en dextrinas y oligosacáridos solubles. Estas enzimas producen jarabes con Equivalentes de Dextrosa (ED) entre 15-25 %, la mayoría trabajan óptimamente a pH entre 5,5-7 y son termoestables (trabajan de 85-95°C), aunque resisten temperaturas de hasta 130°C⁸. En la reacción se adiciona hidróxido de calcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$ al 0,1% a fin de optimizar la actividad de la enzima⁹.

En la etapa de sacarificación se emplean las enzimas exo-amilasas, que también rompen enlaces α -1,4 glicosídicos tales como las β -amilasas o rompen ambos enlaces α -1,4 y α -1,6 glicosídicos semejante a la amiloglucosidasa o glucoamilasa y α -glucosidasa. Actúan sobre los residuos de glucosa externos de la amilosa y la amilopectina y así producen solamente glucosa (glucoamilasa y α -glucosidasa), o maltosa y dextrinas límite β - (β -amilasa). Las desramificantes hidrolizan los enlaces α -1,6 glicosídicos¹⁰. Una de las enzimas muy utilizadas es la AMG 300L, que es una amiloglucosidasa producida a partir de una cepa seleccionada de *Aspergillus niger*, es clasificada como una exoenzima y denominada industrialmente como enzima sacarificante. Dicha enzima hidroliza tanto los enlaces α -1,4 como α -1,6 del almidón licuificado, por lo tanto convierte a las dextrinas en glucosa o dextrosa⁸. El pH óptimo de acción enzimática está entre 4-4,5 y la temperatura de 58-60°C⁹.

Actualmente existe un gran interés en la utilización del sorgo como fuente de energía y en la elaboración de alimentos para el consumo humano y/o animal, sustituyendo al trigo en la panificación y al maíz amarillo en la elaboración de alimentos concentrados¹ y en la obtención de varios tipos de jarabes⁸.

Partiendo de que este cereal puede ser utilizado como precursor de diversos productos biosintéticos a partir

de la hidrólisis del almidón, como son los edulcorantes, ampliamente demandados en la industria alimentaria y al ser considerado un cereal de poco uso industrial, no compite con otros cereales y, en Cuba resulta una materia prima de producción nacional, es que se plantea como objetivo: Proponer la posible sustitución del maíz por el sorgo en la producción de jarabes glucosados, considerando la evaluación de las potencialidades del sorgo para la industria alimentaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

En la investigación se emplea como materia prima fundamental almidón obtenido a partir de sorgo rojo (CIAPR-132), dada las ventajas del cultivo de este cereal, además de poseer una composición química casi idéntica a la del maíz¹¹. Este tipo de sorgo es desarrollado en el Centro de Investigaciones Agropecuarias de la Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Cuba. Se preparó una suspensión al 35% p/p almidón-agua, adicionando agua destilada al almidón previamente pesado y añadido en beaker de un litro de capacidad.

En los procesos de hidrólisis-sacarificación del almidón fueron utilizadas enzimas comerciales. En la etapa de licuefacción o dextrinización se utilizó la Termamyl (120L), dicho producto hidroliza los enlaces glucosídicos α -1,4 al azar de la amilosa y la amilopectina, convirtiendo el almidón en dextrinas y oligosacáridos solubles. Estas enzimas producen jarabes con ED entre 15-25 %, la mayoría trabajan óptimamente a pH entre 5,5-7 y son termoestables (trabajan de 85-95°C), aunque resisten temperaturas de hasta 130°C⁸, adicionándose durante la reacción hidróxido de calcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$ al 0,1%, a fin de optimizar la actividad de la enzima⁹. En la etapa de sacarificación se utilizó la AMG 300L, que es una amiloglucosidasa producida a partir de una cepa seleccionada de *Aspergillus niger*, es clasificada como una exoenzima y denominada industrialmente como enzima sacarificante. Dicha enzima hidroliza tanto los enlaces α -1,4 como α -1,6 del almidón licuificado, por lo tanto convierte a las dextrinas en glucosa o dextrosa⁸. El pH óptimo de acción enzimática está entre 4-4,5 y la temperatura de 58-60°C⁹.

Diseño experimental en la obtención de jarabes glucosados

En la realización de los experimentos se utilizó un diseño experimental factorial completo del tipo 2^k con réplica para los cuatro primeros experimentos, dando un total de 12 experimentos. Las variables analizadas fueron: concentración de alfa-amilasa X_1 (0,06-0,16%), concentración de amiloglucosidasa X_2 (0,18-0,375%) y tiempo de sacarificación X_3 (24-48h). Los niveles de las concentraciones son mayores y menores que con los que se trabaja a nivel industrial de 0,08% p/p, ya que se trabaja con otro sustrato, almidón de sorgo y no de maíz y considerando que la concentración de sustrato utilizado es de 35 %, un tiempo de sacarificación de 24-48 horas, según lo reportado por Serna⁸ y coincidiendo con lo establecido a nivel industrial.

Mediante la utilización del Software Statgraphics Centurion XV se obtienen los modelos para las variables analizadas: °Bx y ART.

Descripción del proceso desarrollado en el laboratorio

Etapa de licuefacción o dextrinización: Una vez preparada la suspensión de almidón al 35% peso, se le añade el hidróxido de calcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$ al 0,1%; con el objetivo de favorecer la actividad de la enzima amilasa y contribuir a la clarificación del jarabe. Se procede a ajustar el pH a un valor entre 6-6,5 utilizando HCl 0,1N con un pH-metro (MARCA HANNA 213). Luego se coloca el beaker en las hornillas de calentamiento (MARCA IKA RET) y se sumerge en el líquido el agitador mecánico (MARCA IKA RW-16), lográndose un mezclado perfecto y homogenización de la suspensión. Se eleva la temperatura hasta los 85°C, y cuando comienza la gelatinización se añade la enzima; se eleva la temperatura hasta los 90°C y se mantiene por un espacio de tiempo de 2 horas; obteniéndose finalmente el almidón licuificado o dextrinizado. El almidón licuificado se trasvasa a erlenmeyers de un litro de capacidad, se lleva a temperatura ambiente y se le ajusta el pH a valores de 4-4,6 para proceder a la etapa de sacarificación.

Etapa de sacarificación: La sacarificación se realiza con la enzima AMG 300L en una zaranda (MARCA CERTO MAT IS) manteniendo la temperatura entre 58-61°C en los intervalos de tiempos establecidos según el diseño de experimentos. Antes de proceder a la refinación se inactiva la enzima elevando la temperatura a 75-80°C.

Refinación: El producto sacarificado es filtrado con carbón activado granular, utilizando para ello embudos de vidrio y papel de filtro, cayendo el líquido decolorado y filtrado en erlenmeyers de 500 ml.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las (Tablas 1 y 2), se reportan los resultados en cada etapa de hidrólisis, es decir: en la licuefacción y en la sacarificación, donde primeramente se transforman los almidones en dextrinas que son sacarificadas hasta obtener glucosa; jugando un papel importante en las variables respuestas °Brix y ART la influencia de las enzimas Termamyl 120L y amiloglucosidasa (AMG 300L) (Figura 2).

Tabla 1 Resultados de la etapa de licuefacción.

| Experimento | X_1 (%) | X_2 (%) | X_3 (h) | °Bx | ART (%) | ED (%) |
|-------------|-----------|-----------|-----------|------|---------|--------|
| 1 | 0,16 | 0,18 | 48 | 31,1 | 29,56 | 33,97 |
| 2 | 0,06 | 0,375 | 24 | 27,3 | 12,6 | 14,55 |
| 3 | 0,06 | 0,18 | 48 | 30,2 | 9,43 | 10,83 |
| 4 | 0,06 | 0,18 | 24 | 28,0 | 10,44 | 11,99 |
| 5 | 0,16 | 0,18 | 24 | 29,0 | 17,34 | 19,93 |
| 6 | 0,16 | 0,375 | 24 | 39,8 | 24,31 | 27,94 |
| 7 | 0,06 | 0,375 | 48 | 30,0 | 8,92 | 10,25 |
| 8 | 0,16 | 0,375 | 48 | 30,5 | 26,76 | 30,76 |
| 9 | 0,16 | 0,18 | 48 | 35,5 | 44,1 | 50,69 |
| 10 | 0,06 | 0,375 | 24 | 30,9 | 49,2 | 56,8 |
| 11 | 0,06 | 0,18 | 48 | 27,5 | 10,5 | 12,1 |
| 12 | 0,06 | 0,18 | 24 | 30,0 | 11,14 | 12,81 |

Tabla 2 Resultados de la sacarificación.

| Experi-mento | X ₁ (%) | X ₂ (%) | X ₃ (h) | °Bx | ART (%) | ED (%) | Rendimiento (% P/P) |
|--------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------|---------|--------|---------------------|
| 1 | 0,16 | 0,18 | 48 | 51,6 | 59,25 | 68,1 | 20,24 |
| 2 | 0,06 | 0,375 | 24 | 35 | 49,69 | 57,11 | 53,34 |
| 3 | 0,06 | 0,18 | 48 | 46 | 27,94 | 32,13 | 13,63 |
| 4 | 0,06 | 0,18 | 24 | 27,51 | 54,673 | 62,84 | 46,92 |
| 5 | 0,16 | 0,18 | 24 | 36 | 59,94 | 68,89 | 47,9 |
| 6 | 0,16 | 0,375 | 24 | 46,4 | 40,73 | 46,82 | 24,84 |
| 7 | 0,06 | 0,375 | 48 | 33 | 45,58 | 52,39 | 34,91 |
| 8 | 0,16 | 0,375 | 48 | 52,1 | 67,97 | 78,13 | 20,78 |
| 9 | 0,16 | 0,18 | 48 | 51,0 | 73,39 | 84,36 | 32,23 |
| 10 | 0,06 | 0,375 | 24 | 37,9 | 59,1 | 67,91 | 47,56 |
| 11 | 0,06 | 0,18 | 48 | 40,6 | 57,4 | 65,98 | 47,6 |
| 12 | 0,06 | 0,18 | 24 | 39,4 | 50,66 | 58,23 | 51,46 |

Si se analiza la Figura 1 se puede apreciar en la etapa de licuefacción la similitud entre las pendientes de los experimentos (2, 3, 4 y 7) y la de los experimentos (1, 5, 6 y 8) correspondientes a la menor y mayor concentración de enzima alfa-amilasa respectivamente, coincidiendo los mayores valores de Azúcares Reductores (ART) y °Brix con la mayor concentración de enzima, lo que corrobora su influencia positiva en el proceso de hidrólisis y conversión de los almidones en dextrinas. En la etapa de sacarificación, el comportamiento es similar, observándose pendientes muy parecidas entre los experimentos (2, 4, 5 y 6) de 24 horas y los experimentos (1, 3, 7 y 8) de 48 horas, lo que demuestra la influencia de dicha variable en la sacarificación de las dextrinas a glucosa. Además para cada grupo de experimentos mencionados la velocidad de reacción de hidrólisis enzimática es prácticamente constante.

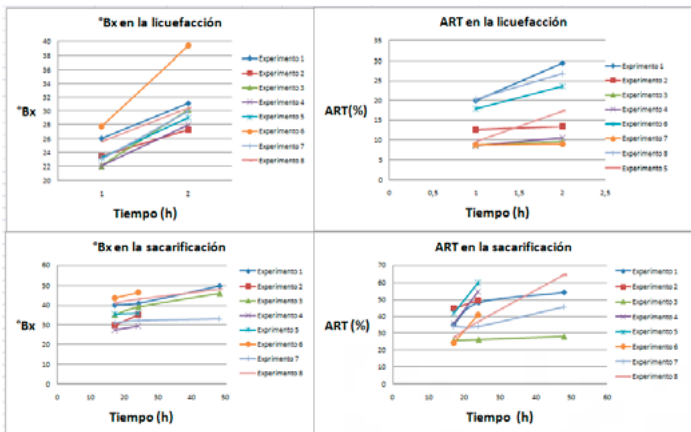


Fig 1. Comportamiento del °Bx y los ART en función del tiempo para la licuefacción y la sacarificación.

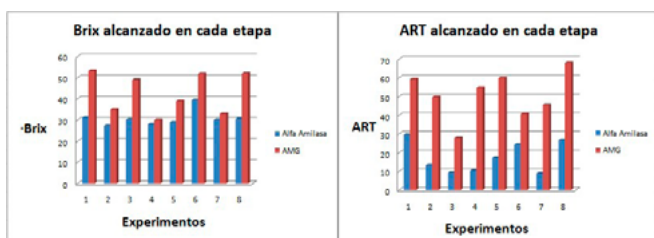


Fig 2. Influencia de las enzimas en el °Bx y los ART.

En la Figura 2 se observa el comportamiento invariable del Brix en la etapa de licuefacción mediante la acción de la enzima alfa amilasa, debido a que el tiempo de reacción fue el mismo para cada experimento, no sucediendo así para la acción de la AMG donde el tiempo de acción de esta enzima tiene mayor significación que la concentración, apreciándose el mismo comportamiento para los ART, lo cual es favorable al demostrarse que la etapa de sacarificación puede efectuarse a mayor tiempo y disminuyendo la concentración de enzima AMG, que es muy costosa. Sin embargo para la alfa amilasa, los mejores resultados de ART se obtienen para la mayor concentración.

En la Figura 3 se muestra el comportamiento de los azúcares reductores en función del tiempo durante las etapas de hidrólisis y sacarificación. En la primera etapa se aprecia un aumento considerable de los azúcares reductores durante las primeras dos horas del proceso, siendo alta la velocidad de conversión, evidenciándose el efecto positivo de la enzima alfa amilasa; no ocurriendo inicialmente así con la AMG ya que luego de ajustar el pH es cuando se añade esta enzima que actúa lentamente hasta alcanzar las condiciones de trabajo es decir los 60°C y a partir de ahí, alrededor de la 17 horas aumenta la velocidad de formación de la glucosa a partir de las dextrinas obtenidas en la hidrólisis y después de las 24 horas de sacarificación, se aprecia un comportamiento de la enzima prácticamente constante, lo que pudiera indicar que hay una inhibición por formación de producto en el proceso.

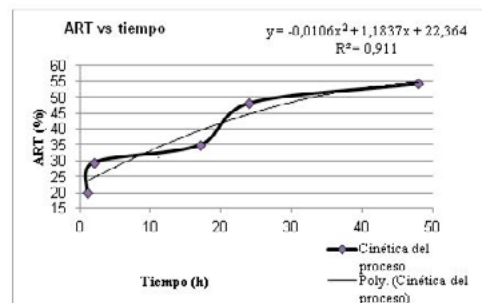


Fig 3. Comportamiento de la conversión en el tiempo.

Análisis estadístico del diseño experimental

Para analizar los resultados del proceso, se someten los datos de la tabla 2 a tratamiento estadístico, utilizando el Software Statgraphics Centurion XV para estudiar la influencia de cada una de las variables independientes sobre las variables respuestas: °Brix, %ART. Al considerar la influencia de las variables independientes en el °Brix, se obtiene la ecuación 1 del modelo, que se ajusta para un valor de R²=92,97%:

$$\text{Brix} = 41,84 + 4,92 * X_1 + 0,41 * X_2 + 3,32 * X_3 + 2,46 * X_1 * X_2 + 1,84 * X_1 * X_3 - 2,64 * X_2 * X_3 \quad (1)$$

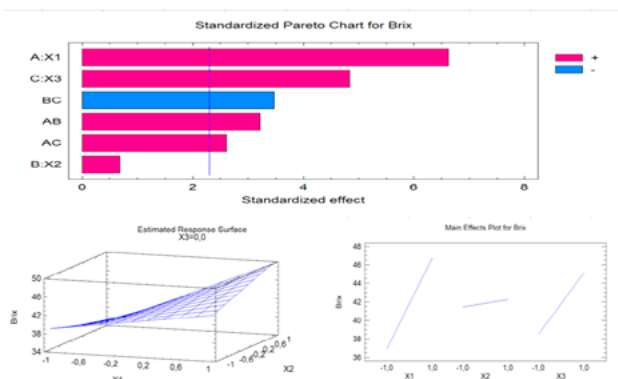


Fig 4. Relación entre el Brix y las variables: concentración de alfa-amilasa, concentración de AMG y tiempo de sacarificación.

Como se puede apreciar, tanto en el modelo obtenido, como en el diagrama de Pareto, de Superficie Respuesta y Efectos Principales, la concentración de alfa amilasa, el tiempo de reacción y la interacción entre cada una de las variables tienen influencia significativa, no sucediendo así con la concentración de AMG. El Brix se favorece con el aumento de cada una de las variables independientes analizadas y con la interacción entre las concentraciones de ambas enzimas y la concentración de la alfa amilasa con el tiempo, no sucediendo así con la interacción entre el tiempo de sacarificación y la concentración de AMG que es negativa, lo cual corrobora el comportamiento de esta enzima a partir de las 24 horas donde los mejores rendimientos se logran para estos tiempos.

Para los ART, del análisis de regresión multivariable, se obtiene la ecuación 2 del modelo, que se ajusta para un valor de $R^2=75,19\%$:

$$\text{ART} = 53,89 + 5,02 - 1,54 * X_2 + 1,84 * X_3 - 2,75 * X_1 * X_2 + 6,49 * X_1X_3 + 2,79 * X_2 * X_3 \quad (2)$$

Los gráficos de Superficie de Respuesta, Efectos Principales y el diagrama de Pareto se muestran en la Figura 5.

El porcentaje en que el modelo explica la variabilidad de los ART es menor que para el Brix, lo cual se debe a que solamente son significativas la concentración de la enzima alfa-amilasa y la interacción de esta con el tiempo de reacción (Figura 5); ambas de forma positiva, lo que significa que el proceso se favorece con el aumento de las mismas.

Una vez analizada la influencia de cada una de las variables independientes sobre las variables respuestas, se procede a determinar la combinación de los niveles de los factores analizados, que maximizan los valores del Brix y ART sobre la región indicada, obteniéndose valores óptimos de 52,22°Bx y 68,76% respectivamente.

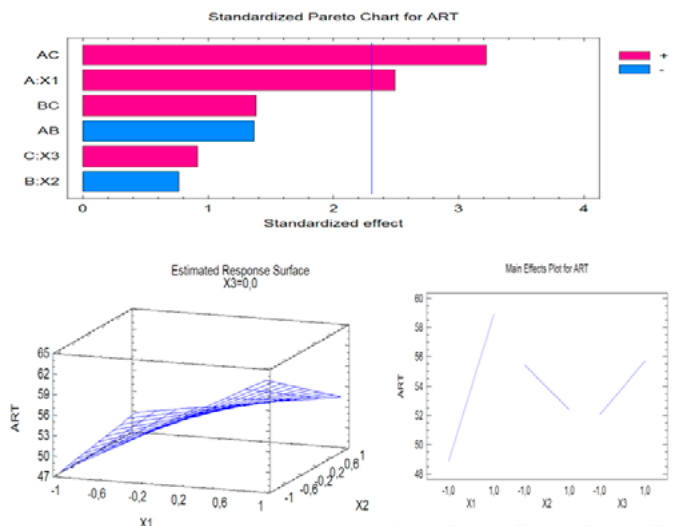


Fig 5. Relación entre los ART y las variables: concentración de alfa-amilasa, concentración de AMG y tiempo de sacarificación.

Determinación a la calidad de los jarabes

En la Tabla 3 se muestran los ED determinados a los jarabes por el Método del 3,5 Dinitrosalicílico (DNS) y por el Método de Eynon Lane, donde se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre los ED determinados por ambos métodos, lo cual se demostró realizando una prueba t para comparar medias, rechazándose la hipótesis nula de que ambas medias son iguales $\mu_1=\mu_2$ para un nivel de confianza del 95%, dando un valor $p=0,000712467$, es decir menor que el coeficiente de significación α , para ello se utilizó el Software Statgraphics Centurion XV.

Tabla 3 Resultados del Brix y ED en los licores.

| Experimento | X_1 (%) | X_2 (%) | X_3 (h) | °Bx | Método del 3,5 Dinitrosalicílico | | Método de Eynon-Lane | |
|-------------|-----------|-----------|-----------|------|----------------------------------|--------|----------------------|--------|
| | | | | | ART (%) | ED (%) | ART (%) | ED (%) |
| 1 | 0,16 | 0,18 | 48 | 53,3 | 40,66 | 46,73 | 43,197 | 49,65 |
| 2 | 0,06 | 0,375 | 24 | 35 | 30 | 34,48 | 42,67 | 49,05 |
| 3 | 0,06 | 0,18 | 48 | 49 | 20,69 | 23,78 | 33,56 | 38,57 |
| 4 | 0,06 | 0,18 | 24 | 30 | 20,41 | 23,46 | 39,49 | 45,4 |
| 5 | 0,16 | 0,18 | 24 | 38,9 | 17,71 | 20,35 | 33,82 | 38,87 |
| 6 | 0,16 | 0,375 | 24 | 51,8 | 29,11 | 33,46 | 41,97 | 48,24 |
| 7 | 0,06 | 0,375 | 48 | 33 | 15,49 | 17,8 | 22,58 | 25,95 |
| 8 | 0,16 | 0,375 | 48 | 52 | 29,73 | 34,17 | 34,43 | 39,57 |
| 9 | 0,16 | 0,18 | 48 | 54,5 | 40,1 | 46,1 | 43,15 | 49,59 |
| 10 | 0,06 | 0,375 | 24 | 41,4 | 26,24 | 30,16 | 42,54 | 48,89 |
| 11 | 0,06 | 0,18 | 48 | 40,5 | 17,84 | 20,5 | 33,56 | 38,57 |
| 12 | 0,06 | 0,18 | 24 | 38 | 17,23 | 19,81 | 39,65 | 45,57 |

En este sentido se hace necesario el estudio de la determinación de los ART de este tipo de sustrato, utilizando los dos métodos, pues los resultados correspondientes al método del 3,5 DNS están corroborados para la determinación de azúcares en jugos de caña de azúcar¹².

Tabla 4 Especificaciones de jarabe de glucosa vía enzimática obtenido a partir del almidón de maíz.

| Especificaciones físico-químicas | ED | Brix | pH | Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$) |
|----------------------------------|--------|-----------|---------|---|
| | 92 mín | 65 óptimo | 4,4-4,6 | 150 mín |

Fuente: NRIAL 086

Tabla 5 Propiedades organolépticas de los jarabes obtenidos a partir del sorgo.

| | |
|---------|---|
| Aspecto | Líquido medianamente viscoso, sin turbidez. |
| Olor | Característico, casi imperceptible, libre de olores extraños. |
| Sabor | Característico, dulce excesivo. |
| Color | Naranja |

Tabla 6 Caracterización físico-química de los jarabes de sorgo.

| Exp. | X ₁ (%) | X ₂ (%) | X ₃ (h) | Densidad (g/ml) | pH | Acidez (%) | Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$) |
|------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------|------|------------|---|
| 1 | 0,16 | 0,18 | 48 | 1,209 | 4,93 | 0,0146 | 693 |
| 2 | 0,06 | 0,375 | 24 | 1,127 | 5,04 | 0,009 | 1638 |
| 3 | 0,06 | 0,18 | 48 | 1,187 | 4,79 | 0,017 | 1010 |
| 4 | 0,06 | 0,18 | 24 | 1,109 | 4,89 | 0,012 | 640 |
| 5 | 0,16 | 0,18 | 24 | 1,141 | 4,73 | 0,0146 | 1532 |
| 6 | 0,16 | 0,375 | 24 | 1,203 | 4,8 | 0,0146 | 883 |
| 7 | 0,06 | 0,375 | 48 | 1,109 | 4,36 | 0,012 | 617 |
| 8 | 0,16 | 0,375 | 48 | 1,212 | 4,79 | 0,023 | 1148 |
| 9 | 0,16 | 0,18 | 48 | 1,218 | 4,59 | 0,017 | 710 |
| 10 | 0,06 | 0,375 | 24 | 1,167 | 3,6 | 0,026 | 1373 |
| 11 | 0,06 | 0,18 | 48 | 1,151 | 5,15 | 0,017 | 1603 |
| 12 | 0,06 | 0,18 | 24 | 1,153 | 4,54 | 0,02 | 177 |

Con respecto a las propiedades organolépticas, en el único aspecto que difieren los jarabes de glucosa obtenidos de distintas fuentes: almidón de maíz y almidón de sorgo rojo es en el color, y esto se debe a la coloración pigmentada y rojiza del tipo de sorgo empleado. Con respecto al Brix y los equivalentes de dextrosa en ningún experimento se alcanzaron los valores requeridos en fábrica, producto a que las muestras no se concentraron mediante evaporación y a nivel industrial solo se pueden alcanzar los valores reportados después de la evaporación.

Al analizar el diseño experimental como un 2³ se obtienen los modelos donde se puede apreciar la influencia poco significativa de la concentración de la enzima AMG sobre cada una de las variables respuestas, estadísticamente la enzima no parece tener significación y esto se debe al alto porcentaje de amilopectina que presenta el almidón de sorgo rojo, pues la función de la AMG consiste en romper por completo los enlaces de la amilosa y desramificar lentamente a la amilopectina, por lo que el almidón de sorgo rojo comparado con otros sustratos demora más tiempo en llegar a la máxima conversión en glucosa. Sin embargo, físicamente ella si actúa convirtiendo las dextrinas en glucosa, y esto se puede apreciar cuando se analiza el comportamiento del Brix y los ART en esta etapa de sacarificación (Figura 1). Si se analiza el comportamiento de la alfa-amilasa se aprecia cómo influye significativamente en cada variable respuesta analizada, pues esta enzima actúa directamente so-

bre los enlaces glucosídicos α -1,4 de la amilosa, lo que significa que en la etapa de licuefacción los almidones se transforman prácticamente en malto dextrinas y oligosacáridos solubles. El tiempo de sacarificación no influye significativamente en la conversión de dextrinas en glucosa, observándose un comportamiento prácticamente constante de los ART después de las 24 horas de sacarificación (Figura 1 y 3).

Los rendimientos obtenidos en la hidrólisis-sacarificación del almidón son relativamente bajos, fundamentados por la evaporación en estas etapas, ya que el proceso a escala de laboratorio no se llevó a cabo en un reactor, sino en un recipiente abierto.

CONCLUSIONES

1. En la producción de jarabes glucosados a partir de sorgo, tanto la concentración de enzima alfa amilasa como el tiempo de sacarificación influyen positivamente en el Brix y los ART, siendo los valores óptimos de estas variables respuestas de 52,22% y 68,76% respectivamente.
2. Se obtuvieron valores bajos de rendimiento en el proceso de hidrólisis sacarificación del almidón estando entre 13,63 y 53,34%, fundamentados por las condiciones de operación en que se desarrolló esta etapa en el laboratorio.
3. Por la alta sensibilidad y productividad que presenta el método modificado del DNS para la determinación de los ART y por tanto de los ED, comparado con el de Eynon-Lane, se hace necesario su corroboración para el sustrato en estudio, dadas las diferencias significativas encontradas con el empleo de estos dos métodos.
4. El empleo del sorgo CIAPR-132 es una opción para sustituir parte del almidón de maíz de importación, en la producción de jarabes para la industria alimentaria.

REFERENCIAS

1. Valencia, R.C.; Rooney, B. W. Control Genético del Color del Grano de Sorgo. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. Ed. CENTA. El Salvador. 2009. <http://www.centa.gob.sv/docs/guias/granos%20basicos/control%20genetico%20del%20color%20del%20GRANO%20DE%20SORGO.pdf>(acceso marzo 01, 2017)
2. Juárez, T. A.; Arias, G. G.; Rodríguez G. F. Eterificación del Almidón, Universidad Autónoma de Coahuila, Verano de la Ciencia, 2008, citado por Martínez, A. B. ; Vásquez, M. 2009
3. <http://cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/938/1/Miriam%20Vazquez%20Escobar.pdf> (acceso marzo 01, 2017)
4. Singh, N.; N. S. Kaur; et al. Physicochemical, cooking and textural properties of milled rice from different Indian rice cultivars. Food Chem.2005, 89, 253-259.

5. Paul, C. *Agronomía del sorgo. Origen, Diseminación y Clasificación del Sorgo*. Programa de mejoramiento de Sorgo del ICRISAT para América Latina (ICRISAT/LASIP). Ed. CENTA. El Salvador, C. A. 1-14. 1990.
6. Millán, T. C. *Estudios estructurales y moleculares del almidón de fuentes no convencionales: mango (Mangifera indica L.), plátano (Musa paradisiaca) y okenia (Okenia hypogaea)*. Tesis de Maestría del Instituto Politécnico Nacional, 2004. <http://tesis.ipn.mx/xmlui/handle/123456789/841> (acceso marzo 01, 2017)
7. Sang, Y.; Bean, S.; Seib, P.A.; Pedersen, J.; Shi, Y. Structure and functional properties of sorghum starches differing in amylose content. *J. Agric. Food Chem.* 2009, 56, 6680-6685.
8. Fennema, R. O. *Química de los Alimentos*. Segunda Edición. Zaragoza España. 2000, pp 238-239.
9. Serna, S.O. *Bioconversión de Almidones en Jarabes Dextrinizados, Maltosados, Glucosados y Fructosados*. Quinto Simposio Internacional de Innovación y Desarrollo de Alimentos, Montevideo, Uruguay. 2011. <http://www.innovainfo/docs/presentaciones/20111012/SergioSerna.pdf>.
10. Torres, L. M.; Leonel, M.; Mischán, M. Concentração de enzimas amilolíticas na hidrólise do amido de gengibre. *Ciencia Rural*. Ed. (online) 2012, 42. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33122921032> (último acceso 01-03-2017)
11. Pandey, A.; Nigam, P. et al. Advances in microbial amylases. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 2000, 31, 135-152.
12. Rooney, L.W.; Serna Saldívar, S.O. Sorghum. Chapter 5 in: *Handbook of Cereal Science and Technology*, K. Kulp and J. Ponte, 2da. Edition . Marcel Dekker, Inc. New York, 149-175, 2000.
13. Bello Gil, D.; Carrera Bocourt, E.; Díaz Maqueira, Y. Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, vol. XL, núm. 2, mayo-agosto, 2006, pp. 45-50, 2008.