

TECNOLOGÍAS DE CONTROL DEL CONTENIDO DE ALMIDÓN: PROCESO DE
HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA MEDIANTE α -AMILASA

STARCH CONTENT CONTROL TECHNOLOGIES: ENZYMATIC HYDROLYSIS
PROCESS USING α -AMYLASE

M.Sc. Saul Dueñas Casas¹ (0000-0002-8878-5484), Universidad de Matanzas,

saul33dc@gmail.com

M.Sc. Javier Díaz Pineda² (0000-0003-2480-6175)

DrC. Héctor Luis Ramírez Pérez³ (0000-0003-1383-5149)

Resumen

El almidón es un polisacárido que se incorpora al proceso de producción de azúcar crudo por medio de la caña como principal materia prima. Dentro del mismo, ocasiona múltiples efectos negativos que afectan la calidad y eficiencia del proceso, de ahí la necesidad de su eliminación. En el presente trabajo se estudian las tecnologías que permiten el control de este parámetro a escala industrial. Dentro de las mismas se presta especial atención al proceso de hidrólisis enzimática del almidón, específicamente con la enzima α -amilasa, el cual es uno de los métodos más aplicados y eficientes para su control. A pesar de la existencia de estudios a escala industrial de la aplicación de la α -amilasa, no existe un consenso sobre en qué flujo o unidad del proceso de producción de azúcar crudo aplicar la misma.

Palabras claves: *alfa amilasa; almidón; hidrólisis enzimática; proceso de producción de azúcar*

Abstract

Starch is a polysaccharide that is incorporated into the raw sugar production process through sugarcane as the main raw material. Within it, it causes multiple negative effects that affect the quality and efficiency of the process, hence the need for its elimination. In the present work, the

technologies that allow the control of this parameter on an industrial scale are studied. Within them, special attention is paid to the enzymatic hydrolysis process of starch, specifically with the enzyme α -amylase, which is one of the most applied and efficient methods for its control. Despite the existence of studies on an industrial scale of the application of α -amylase, there is no consensus on in which flow or unit of the raw sugar production process to apply it.

Keywords: *enzymatic hydrolysis; alpha amylase; starch; sugar production process.*

Dentro del sector industrial, la producción de azúcar crudo se considera uno de los procesos más importantes en el área de la industria alimentaria y el comercio, por los innumerables aportes que realiza a la economía del país. Por lo que cualquier investigación dirigida a aumentar la calidad y eficiencia del proceso de producción de azúcar crudo, beneficia nuestra sociedad.

Muchas investigaciones se han realizado sobre los tipos de polisacáridos que se encuentran en la caña de azúcar y sus efectos negativos en el proceso de producción de azúcar crudo (González, 2018; León, 2018). Sin embargo, en el transcurso de la última década la presencia de almidón en la industria ha tomado una importancia relevante para la comercialización de azúcar.

El almidón es un polisacárido que se incorpora al proceso por medio de la caña de azúcar que es la principal materia prima (Castro, 2015). Su presencia en el proceso de producción de azúcar crudo demora o inhibe la cristalización y aumenta las pérdidas de azúcar en la miel final, causa demoras en el proceso debido a viscosidades excesivas y pérdidas de sacarosa por modificaciones en el crecimiento del cristal (Castro, 2015; Penados, 2004), tiene la tendencia de ocluirse en el cristal de azúcar crudo (Eggleston *et al.*, 2007; Penados, 2004; Zhou *et al.*, 2008), reduce la filtración y la afinación del azúcar crudo, y constituye un impedimento para el proceso de decoloración en la refinación (Eggleston *et al.*, 2007). De aquí la importancia de la cuantificación del mismo en el proceso de producción de azúcar crudo, en aras de la toma de medidas que reduzcan su contenido.

Atendiendo al efecto negativo que provoca el almidón en la calidad del azúcar crudo Zhou *et al.* (2008) propone para su eliminación la selección de variedades de caña sobre la base del contenido de almidón. Según Popper *et al.* (2006), la utilización de métodos físicos de separación como la ultrafiltración u ósmosis inversa, funcionan correctamente a pequeña escala, pero están lejos de ser

desarrollados para su aplicación en procesos reales. Sin embargo, Chiu & Solarek (2009) y Eggleston *et al.* (2015) coinciden en que el tratamiento más eficaz para su eliminación consiste en adicionar la enzima α -amilasa para hidrolizar el almidón presente en el jugo.

El análisis de la calidad en el proceso de producción de azúcar crudo es de vital importancia para el desarrollo de la agroindustria azucarera, pues aumenta el rendimiento de esta actividad en los países productores de azúcar, y a su vez el desarrollo del país (Jiménez *et al.*, 2016). Mientras mayor sea la calidad del producto final, mayores serán los posibles destinos de exportación del mismo y por tanto los ingresos económicos al país.

El procesamiento de la caña de azúcar comienza en el campo, por lo que la calidad del azúcar final depende en gran medida del estado de la caña, su madurez, tiempo entre su corte, molienda y el contenido de materia extraña que es incorporado al proceso durante el corte y alce (Larrahondo, 2013). Cuando se procesa caña verde, que contiene cantidad significativa de hojas, se incrementa la cantidad de no azúcares que ingresa a fábrica, especialmente almidón y aquellos compuestos que aportan color (Zossi *et al.*, 2011).

El cogollo tiene alta incidencia en los niveles de color y de impurezas como los polisacáridos solubles, y representa la principal fuente de entrada de almidón al proceso, el cual depende en gran medida del tipo de caña y el grado de madurez de la misma (Alencar *et al.*, 2011). Esto último se debe al desarrollo del corte mecanizado, pues aumenta la cantidad de materia extraña generalmente formada por cogollo y hojas.

El almidón constituye una impureza que afecta negativamente el proceso de producción de azúcar crudo y el proceso de refinación en cuanto a calidad y cantidad (Zhou *et al.*, 2008). Según Penados (2004), el contenido de almidón es un parámetro de calidad que se tiene en cuenta para la compra de este producto en el mercado internacional y crea la posibilidad de penalidades impuestas por las refinerías que parten del azúcar crudo. Es debido a ello que las refinerías establecen multas financieras a las fábricas que entregan azúcar crudo con concentraciones de almidón mayor que 250 ppm (Cole *et al.*, 2015; Cole *et al.*, 2016; Eggleston *et al.*, 2013).

El almidón es un polímero de glucosa que se encuentra en el protoplasma de las hojas de la caña y en el extremo del tallo de la misma. Se plantea que los mayores depósitos de este polisacárido se localizan habitualmente cerca de los nudos a partir del cual se propaga la caña (Eggleston *et al.*,

2007). Se presenta en forma de gránulos, que habitualmente presentan una forma redondeada, irregular, con tamaños que oscilan entre 2 y 100 μm . Tanto la forma como el tamaño de los gránulos son característicos de la especie vegetal y pueden utilizarse para identificar su origen (Coulate, 1997). Para el caso específico del almidón de caña de azúcar, sus gránulos están formados por mezclas en proporciones variables de dos constituyentes distintos la amilosa y la amilopectina, y ambos son polímeros derivados de la α -D-glucosa (Chen *et al.*, 2016). Según Alencar *et al.* (2011), el almidón extraído de la caña de azúcar posee un 25 % de amilosa y un 75 % de amilopectina.

Las propiedades físico-químicas del almidón más frecuentes en aplicaciones industriales son: la gelatinización y la retrogradación.

Según Peña (2009), la gelatinización ocurre cuando los gránulos de almidón se calientan en suspensión acuosa entre 60-70 $^{\circ}\text{C}$ y empieza un proceso lento de absorción de agua. A medida que se incrementa la temperatura, se retiene más agua y el gránulo empieza a hincharse y aumentar de volumen hasta llegar a cierta temperatura, este hinchamiento provoca que la amilosa y amilopectina sean liberadas en dispersión coloidal, generándose al final de este proceso un gel. Las temperaturas iniciales de gelatinización son características de cada tipo de almidón, pero generalmente se hallan en el intervalo 55-70 $^{\circ}\text{C}$ (Alves *et al.*, 2014).

Ramírez (2012), define la retrogradación como la insolubilización y la precipitación espontánea, principalmente de las moléculas de amilosa, debido a que sus cadenas lineales se orientan paralelamente y accionan entre sí por puentes de hidrógeno a través de sus múltiples hidróxilos. Brumovsky (2014) y Chiu & Solarek (2009), establecen que la retrogradación ocurre cuando la solución de almidón concentrada se enfría y en ausencia de agitación se forma un gel rígido.

Las variedades de caña de azúcar presentan diferentes contenidos de almidón y de otras impurezas asociadas (Alencar *et al.*, 2011). Además, el contenido de almidón es más alto en cañas inmaduras con respecto a las maduras y se observa que el mismo decrece cuando la maduración en la caña aumenta. Según Castro (2015), la concentración del almidón en la caña puede oscilar entre 275 y 1500 mg/kg de sólidos, con un promedio aproximadamente de 700 mg/kg. Otros como Viginotti *et al.* (2014) declaran que el contenido de almidón en el jugo de caña se encuentra en un rango de 1600 a 2600 mg/L.

Rein (2007), plantea que en el proceso de molienda, gran parte del almidón que es insoluble en la caña se solubiliza por efecto del calor y pasa a los jugos. Durante el proceso de clarificación el almidón se hace parcialmente soluble eliminándose una fracción, mientras que otra parte pasa a la meladura. Si la cantidad de almidón que pasa a la meladura es mayor de 150 ppm comienzan a existir afectaciones en el proceso (Penados, 2004).

Las partículas de almidón tienden a coagularse a temperaturas entre los 65 y 80 °C. Esta coagulación forma partículas densas y de gran tamaño que pueden aumentar la viscosidad de la meladura, lo que demora e inhibe la cristalización, impide el agotamiento de las mieles y dificultan la purga en las centrifugas (Penados, 2004), además de provocar pérdidas de sacarosa por modificaciones en el crecimiento del cristal (Zossi *et al.*, 2008). Debido a su naturaleza de carbohidrato y su gran solubilidad es muy difícil de remover en el proceso, tiene la tendencia de ocluirse en el cristal de azúcar crudo (Penados, 2004). Entre un 30 y 40 % de este polisacárido se incrusta en el cristal de azúcar crudo durante la cristalización (Rein, 2007), así que representa una pérdida en términos de azúcar disponible para el proceso (Zossi *et al.*, 2008). Castro (2015), plantea que el almidón disminuye la eficiencia del proceso ya que se adhiere a las paredes de los tachos aumentando el tiempo de cocimiento de las masas. Además, las altas viscosidades provocan el incremento de los costos energéticos al disminuir la transferencia de calor en los evaporadores, cristalizadores y tachos incrementando así el punto de ebullición del jugo (Castro, 2015).

Contenidos de almidón en jugo mayores a 950 mg/kg de sólidos en base seca dificultan los procesos de filtración, decantación, evaporación y cristalización; el incremento de la pureza en las melazas, así como el aumento de la viscosidad por efecto de la gelatinización de los gránulos de almidón (Zossi *et al.*, 2008).

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

Aunque en el proceso de producción de azúcar crudo durante la etapa de clarificación se elimina una gran parte, el almidón soluble producto de la gelatinización por el efecto de la temperatura

permanece en el jugo de caña de azúcar, y de esta manera continua en todo el proceso (Zhou *et al.*, 2008).

El contenido de almidón es un parámetro importante a considerar durante el proceso de elaboración de azúcar crudo, en la industria, es común cuantificar su contenido en el proceso para disminuir sus efectos negativos en la capacidad productiva (Zossi *et al.*, 2008). Los efectos negativos del almidón en la calidad y eficiencia del proceso de producción de azúcar crudo y refino, evidencian la necesidad de su eliminación, por lo que los países productores de azúcar, desarrollan investigaciones dirigidas a mejorar las tecnologías de control de este parámetro.

Una de las alternativas de solución es la selección de las variedades de caña sobre la base del contenido de almidón, pero igual así persiste la presencia de este solo que en pequeñas cantidades (Zhou *et al.*, 2008). La utilización de métodos físicos de separación como la ultrafiltración u ósmosis inversa, funcionan correctamente a pequeña escala, pero están lejos de ser desarrollados para su aplicación en procesos reales (Popper *et al.*, 2006). Otras de las alternativas de solución es la utilización de métodos tales como: la extracción mecánica del almidón insoluble, la clarificación al vacío y la centrifugación del jugo, sin embargo, estos métodos exigen grandes inversiones encareciendo el proceso, y ofrecen resultados parciales pues no eliminan la fracción soluble (Jiménez, 2017). Eggleston *et al.* (2003), expresan que si en la clarificación se opera la alcalización en caliente una fracción del almidón es removido y precipita por el precalentamiento del jugo antes de alcalizar y clarificar. Sin embargo, Zhou *et al.* (2008) comentan que si se trabaja la alcalización en frío el suceso anterior no ocurre, solo una parte del contenido de almidón precipita durante el proceso de clarificación. Aunque estas tecnologías y operaciones representan un gran avance, solo permiten eliminar una parte del almidón en el proceso, mientras el resto afecta el rendimiento del mismo.

Chiu & Solarek (2009) y Popper *et al.* (2006), coinciden en que el uso de la enzima α -amilasa es el método más eficiente para hidrolizar el almidón en los ingenios azucareros y refinerías. Pues elimina problemas de viscosidad y cristalización, reduce las pérdidas de sacarosa en la miel final y elimina las sanciones por la presencia de almidón en el azúcar (Popper *et al.*, 2006). Según Zhou *et al.* (2008), la hidrólisis es más eficaz cuando los gránulos de almidón están parcialmente solubilizados y gelatinizados por la maceración en caliente o el agua de imbibición. Tester & Karkalas (2004),

informan que la hidrólisis enzimática se realiza por lo regular en la estación de evaporación ya que a pesar de que en el proceso de clarificación se remueve un poco de almidón debido a la precipitación no se logra reducir en grandes cantidades como para aliviar los problemas en el proceso.

Cuando los niveles de almidón en el jugo se encuentran alrededor de 1000 ppm /°Brix la hidrólisis de almidón utilizando α -amilasa se hace más difícil ya que el contacto entre el almidón y la enzima es muy bajo, de igual forma este problema puede reducirse aumentando la dosis de solución activa de α -amilasa (Eggleston *et al.*, 2008).

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

Las reacciones de hidrólisis se basan en el rompimiento de tres tipos principales de macromoléculas que son los polipéptidos, los polisacáridos y los ácidos nucleicos (Bugg, 2004). Cuando la molécula está compuesta por almidón el polisacárido es fraccionado en unidades de menor tamaño llamadas dextrinas (oligosacáridos de bajo peso molecular) que son cuantificadas por diferentes métodos como la cromatografía líquida de alta presión (HPLC), azúcares reductores por 3,5-dinitrosalicílico (DNSA), número de dextrosas equivalentes (DE), entre otros (Bugg, 2004).

Según Wook *et al.* (2003), la hidrólisis enzimática de los gránulos de almidón puede verse afectada por la estructura del grano, el tipo de cristal, el tamaño del cristal, la relación amilosa/amilopectina, el peso molecular promedio de esta relación, la presencia de lípidos y condiciones de especificidad de reacción de la enzima. Las variables que más influyen en la cinética de reacción del almidón son: el tipo de catalizador, la temperatura de proceso, la relación sólido-líquido, el diámetro y cristalinidad de la partícula, las cuales involucran la relación de amilosa/amilopectina, y el contenido de lípidos y proteínas (BeMiller, 2019).

Las enzimas son biomoléculas de naturaleza proteica que aceleran la velocidad de reacción hasta alcanzar un equilibrio. Constituyen el tipo de proteínas más numeroso y especializado y, actúan como catalizadores de reacciones químicas específicas en los seres vivos o sistemas biológicos (Barbosa *et al.*, 2014). Por lo tanto, se han considerado catalizadores ociosos desde un punto de vista ambiental, en reacciones que implican compuestos complejos o lábiles (Barbosa *et al.*, 2014; Fatemeh *et al.*, 2014).

Las enzimas implicadas en las bioconversiones de almidón son de gran interés industrial y se ha prestado considerable atención a la obtención de nuevas enzimas con propiedades mejoradas o nuevas aplicaciones. Las enzimas termoestables que hidrolizan el almidón, como la amilasa, la pululanasa y la glucoamilasa, desempeñan un papel importante en las industrias alimentaria, química y farmacéutica (Aguloglu *et al.*, 2014; Mollania *et al.*, 2010). El término amilasa abarca una clase de enzimas que se producen en una amplia variedad de organismos, y se refiere a α -amilasas, β -amilasas y glucoamilasas (GA) (Young & deMan, 2018). Aunque estas enzimas pueden derivarse de varias fuentes, que incluyen plantas, animales y microorganismos, las amilasas microbianas generalmente satisfacen la demanda industrial.

La α -amilasa (α -1,4-glucoano-4-glucohidrolasa) cataliza la hidrólisis de los enlaces α -1,4-glicosídicos del almidón, el glucógeno y diversos polisacáridos relacionados de forma aleatoria y libera diferentes tamaños de oligosacáridos en una configuración α -anoméica (Aguloglu *et al.* 2014; Bhanja & Tapati, 2015; Gibbs *et al.*, 2015). Las α -amilasas con características adecuadas para las condiciones del proceso industrialmente relevantes tales como temperatura, pH, naturaleza del sustrato, concentración de sustrato, concentración de enzima, presencia de iones metálicos, surfactantes y otros agentes estabilizantes deben seleccionarse apropiadamente según la demanda (Sivaramakrishnan *et al.*, 2016). Las características bioquímicas de la α -amilasa purificada pueden variar notablemente entre las especies e incluso entre las cepas de la misma especie (Bhanja & Tapati, 2015; Dey & Banerjee, 2012). En función de su pH óptimo para la actividad, las α -amilasas también se clasifican como ácidas, neutras o alcalinas.

En los últimos tiempos, la demanda de enzimas industriales ha ido en aumento debido a sus beneficios económicos y ambientales, (Chandrasekaran, 2016; Kuddus, 2018) pues no son tóxicas atendiendo a que son de origen natural. Son muy específicas en su manera de actuar, por lo que no propician reacciones secundarias indeseables, no requieren condiciones costosas desde el punto de vista económico pues funcionan en condiciones moderadas de temperatura y pH, además se inactivan fácilmente una vez alcanzado el grado de transformación deseado (Polaina & MacCabe, 2007). Las amilasas se encuentran entre las enzimas industriales más importantes que tienen impacto en los estudios biotecnológicos y representan alrededor del 25-33 % del mercado mundial

de enzimas (Ashwini *et al.*, 2011; Kumar *et al.*, 2016). Son una de las enzimas más versátiles, con una larga historia de aplicaciones catalíticas en industrias alimentarias y farmacéuticas.

Debido a las características y funciones que presentan tienen diversas aplicaciones industriales y biotecnológicas, entre las que se encuentran: la preparación de siropes y fructosa (Porfirif *et al.*, 2016), en la licuefacción del alcohol (Wood *et al.*, 2016) en las fábricas de desfibrado, preparación de adhesivos (Roy & Mukherjee, 2013), tratamiento de aguas albañales, la alimentación animal (Spohner *et al.*, 2015), en la industria de los detergentes (Kumar *et al.*, 2016), panadera (Patel *et al.*, 2016) y en la industria azucarera (Gibbs *et al.*, 2015). Recientemente, sus papeles en la síntesis de péptidos bioactivos y como aditivo en detergentes comerciales están ganando atención (Kumar *et al.*, 2016).

Las α -amilasas también encuentran aplicación en el procesamiento de caña de azúcar como auxiliares para resolver problemas relacionados con la viscosidad y la filtración de azúcar cruda que surgen por la presencia del almidón en el proceso (Eggleston *et al.*, 2013; Young & deMan, 2018). Debido a la diversa funcionalidad de las α -amilasas comerciales, su aplicación óptima en la industria de la caña de azúcar requiere un conocimiento completo de sus actividades y potencial para hidrolizar diferentes formas de almidón bajo diversas condiciones industriales (Cole *et al.*, 2015).

En 1958, Nicholson & Horsley publican sobre la presencia de amilasas en el jugo de caña, y describen un método para la eliminación del almidón a partir de estas, estos reportan una descomposición de almidón del 80-90 %, a 70 °C y pH de 5.7 a 5.9 (Nicholson & Horseyley, 1958). Este método de "enzima natural", fue experimentado en varias industrias azucareras y adoptado como una práctica estándar por la Compañía Azucarera Tongaat (Bruijn & Jennings, 1968). Con la aplicación de este mismo método Carter, reporta una descomposición del almidón presente del 50 al 60 % a pH de 6.5 en 8 min, para zafras posteriores se alcanza un promedio de descomposición de almidón del 70 % (Carter, 1967). En experimentos a escala de laboratorio con sirope a 65 °Brix, el máximo de hidrólisis obtenido fue de 55 % en 30 min a 70 °C, usando la misma relación almidón-enzima que con los jugos de caña (Bruijn & Jennings, 1968).

Schoonees (2004), corrobora el uso de α -amilasa en algunas de las Industrias Cañeras de Suráfrica para controlar los altos niveles de almidón en el sirope del evaporador, estas son añadidas antes o después del evaporador de cuádruple efecto y son en su mayoría efectivas en reducir los niveles de

almidón en la azúcar cruda por debajo de 130 ppm (Schoonees, 2008). Dentro de la estación de evaporación Zhou *et al.* (2008), plantea la adición de α -amilasa en el pre-evaporador, mientras que Penados (2004), plantea agregarla en el penúltimo o último vaso del múltiple efecto, puesto que a estas condiciones de operación se favorece la hidrólisis. También el pH, la temperatura y tiempo de retención en esta etapa propician la acción de la enzima (Eggleston *et al.*, 2006). Bruijn & Jennings (1968), investigaron el efecto de la enzima en el jugo clarificado concentrado, en los evaporadores múltiple efecto gemelos de Amatikulu, obteniendo un promedio de destrucción de almidón de 70 % . Gonzáles (2018), considera que, de las etapas del proceso de obtención de azúcar crudo, la enzima pudiera ser agregada en la etapa de purificación, puesto que en la misma se realiza la alcalización. La adición de CaOH conocido como lechada de cal, aporta el cofactor Ca^{2+} que permite la estabilidad de la enzima además de mejorar su actividad catalítica (Peña, 2009).

La mayoría de la industria americana de azúcar controla el almidón con la aplicación de la enzima α -amilasa producida a partir del *Bacillus subtilis* (Zhou *et al.*, 2008). En países, como: Australia y Estados Unidos, se alivian problemas por la presencia de almidón en los jugos de caña de azúcar con la aplicación de la alfa amilasa, sin embargo, el tratamiento con estas enzimas es caro, complicado y a veces ineficaz (Eggleston *et al.*, 2006).

Schoonees (2008), archiva por acción de las enzimas naturales presentes en la caña un 90 % de desdoblamiento del almidón proveniente del jugo mezclado para un tratamiento preservativo y a bajas temperaturas y por acción de α -amilasa un 98 % de desdoblamiento. Bruijn & Jennings (1968), reportan con la aplicación de una dosis de enzima media de 7.2 ppm de amilasa bacteriana en el jugo mezclado, la destrucción del almidón en un rango de 78 a 93 %, con un promedio del 86 %, en 15 min, las pruebas se realizaron a escala industrial. Cole *et al.* (2016), demuestran que un desdoblamiento eficiente puede ser logrado con tiempos de hidrólisis de 60 min para jugos mezclados, con un contenido de almidón insoluble mayor del 80 al 90 % y concentraciones de α -amilasa de 0,5 a 500 ppm. Para una razón de 1-2.5 gramos de α -amilasa por tonelada de caña molida (aproximadamente 2 ppm), Penados (2004), reporta una remoción de 30 a 50 % de almidón. La experiencia cubana en la aplicación de α -amilana en el proceso de azúcar crudo, se orienta hacia la dosificación de esta enzima en el tanque de jugo clarificado, en dosis de 2-5 g (de enzima importada) por tonelada de caña molida, lo que logra remociones de más de 65 % en jugos con un

contenido de almidón relativamente elevado (Namer *et al.*, 1988). También se han obtenido buenos resultados, dosificando la enzima en la etapa de meladura, a razón de 5 g/tcaña, esto es factible de hacer cuando la enzima es termostable a las temperaturas del proceso y no sufre afectación de su actividad hidrolítica por valores de grados brix cercanos a 60 (Namer *et al.*, 1988).

Se puede concluir que, con la introducción del corte mecanizado, aumenta la cantidad de materia extraña que se incorpora en la industria, formada por cogollos y hojas, principal fuente de entrada del almidón al proceso. La presencia de almidón en los jugos demora o inhibe la cristalización, aumenta las pérdidas de azúcar en la miel final, además de causar demoras en el proceso al incrementar las viscosidades de los jugos. El método de control del almidón más recomendado en los procesos de producción de azúcar crudo, es el proceso de hidrólisis enzimática mediante la α -amilasa. A pesar de los múltiples estudios existentes sobre el tema, no existe un consenso sobre la corriente de aplicación de la hidrólisis en el proceso de producción de azúcar crudo.

Referencias bibliográficas

- Aguloglu, B., Enez, S., Özdemir, F., y Matpann B. (2014). Purification and characterization of thermostable α -amylase from thermophilic *Anoxy bacillus flavithermus*. *Carbohydrate Polymers* 102, p. 144-150.
- Alencar, J., Hoffmann, P., y Harumi, H. (2011). Sugarcane starch: quantitative determination and characterization. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31 (3), p. 806-815.
- Alves, F.V., Polesi, L.F., y Aguiar, C.L. (2014). Structural and physicochemical characteristics of starch from sugarcane and sweet sorghum stalks. *Carbohydrate Polymers*, 111, p. 592-597.
- Ashwini, K., Kumar, G., y Karthik, L. (2011). Optimization, production and partial purification of extracellular α -amylase from *Bacillus sp.* Marini 3. *Scholars Research Library, Archives of Applied Science Research* 3, p 32-42.
- Barbosa, O., Ortiz, C., Berengue-Murcia, A., Torres, R., Rodriguez, R. y Fernandez-Lafuente, R. (2014). Glutaraldehyde in bio-catalysts design: useful crosslinker and versatile tool in enzyme immobilization. Royal Society of Chemistry (UK), *RSC Advances* 4, p. 1583-1600.
- BeMiller, J.N. (2019). *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists*. 3rd Edition, London WP: AACC International Press, p. 427.

- Bhanja, D., y Tapati, R.B. (2015). Purification, biochemical characterization and application of α -amylase produced by *Aspergillus oryzae* IFO-30103. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4, p. 483-90.
- Bruijn, J., y Jennings, R.P., (1968). Enzymatic hydrolysis of starch in cane juice. *Proceedings of The South African Sugar Technologists Association*.
- Brumovsky, L. (2014). *Química del almidón*. Universidad nacional de misiones. Argentina. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales.
- Bugg, T. (2004). Introduction to enzyme and coenzyme chemistry 2° ed. Oxford UK; Malden MA USA: *Blackwell Publication*. DOI:10.1002/9781444305364.
- Carter, G.G. (1967). *Proceedings of The South African Sugar Technologists Association*, 41, p.37.
- Castro, N. (2015). *Determinación de la concentración de almidón por caracterización espectrofotométrica en el jugo de caña de azúcar de las variedades: cp72-2086, cp88-1165 y cp73-1547 utilizadas en el ingenio Trinidad Guatemala* (Tesis de pregrado). Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Chandrasekaran, M. (2016). *Enzymes in Food and Beverage Processing*. CRC Press, Taylor & Francis Group. ISBN-13: 978-1-4822-2128-2 (Hardback).
- Chen, G., Zhou, J., Liu, Y., Lu, X., Han, C.; Zhang, W., Xu, Y., y MingYan, Y. (2016). Biosynthesis and Regulation of Wheat Amylose and Amylopectin from Proteomic and Phosphoproteomic Characterization of Granulebinding Proteins. *Scientific Reports*, 6. DOI: 10.1038/srep33111.
- Chiu, C. y Solarek, D. (2009). *Starch: Chemistry and Technology*, Third Edition, p. 629-655. ISBN: 978-0-12-746275-2.
- Cole, M.R., Rose, I., Chung, Y.J., y Eggleston, G. (2015). A structured approach to target starch solubilisation and hydrolysis for the sugarcane industry. *Food Chemistry* 166, 165–172.
- Cole, M.R., Eggleston, G., Gilbert, A., y Chung, Y.J. (2016). Development of an Analytical Method to Measure Insoluble and Soluble Starch in Sugarcane and Sweet Sorghum Products. *Food Chemistry* 190, 50–59.
- Coultale, T. P. (1997). *Manual de Química y Bioquímica de los alimentos*. 2d Edición ACRIBIA, Zaragoza p. 29-36.
- Dey, T.B., y Banerjee, R. (2012). Hyperactive α -amylase production by *Aspergillus oryzae* IFO 30103 in a new bioreactor. *Letters in Applied Microbiology* 54, p. 102–107.

- Eggleston, G., Monge, A., y Ogier, B. (2003). Sugarcane factory performance of cold, intermediate, and hot lime clarification systems. *Journal Food Process and Preservation*, 26 (6), p. 433-454.
- Eggleston, G., Montes, B., Monge, A., y Guidry, D. (2006). Optimization of α -amylase application in raw sugar manufacture. *Processing of Sugar. Process. Res. Conf. Brazil*, vol., p. 319-340.
- Eggleston, G., Viator, R., y Grisham, M. (2007). Glyphosphateripener effects on the processing quality of different sugarcane tissues. *Process ISSCT Congress. South Africa*, vol. 26, p. 1460-1467.
- Eggleston, G., Antoine, A., Montes, B., Stewart, D., Kim beng, C., y Zhou, M. (2008). Further optimization of α -amylase application in Louisiana factories. *ASSCT Louisiana Division meeting. Baton Rouge*, vol., pp.
- Eggleston, G., Cole, M., y Andrzejewski, B. (2013). New Commercially Viable Processing Technologies for the Production of Sugar Feedstocks from Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) for Manufacture of Biofuel and Bioproducts. *Sugar Technology*, 15, p. 232-249.
- Eggleston, G., Wartelle, L., Triplett, A., Montes, B., Pontif, K., Cole M., y Cyr, E.S. (2015). Insoluble and Soluble Starch: Changes Across Sugarcane Factories and How They Are Controlled by Amylase Applications. *International Sugar Journal. Southern Regional Research Center, New Orleans, LA*.
- Fatemeh, G., Gholamreza, A., y Kambiz, A. (2014). New insights into the effectiveness of alpha-amylase enzyme presentation on the *Bacillus subtilis* spore surface by adsorption and covalent immobilization. *Enzyme and Microbial Technology* 64-65. p. 17-23.
- Gibbs, M. J., Biela, A., y Krause, S. (2015). α -Amylase sensor based on the degradation of oligosaccharide hydrogel films monitored with a quartz crystal sensor. *Biosensors and Bioelectronics* 67, p. 540-545.
- González, L. (2018). *Estudio de las propiedades estructurales y funcionales de la enzima α -amilasa en el proceso de desdoblamiento de almidón para su aplicación industrial* (Tesis de pregrado). Universidad de Matanzas, Cuba.
- Jiménez, A., Lugo, R., Ramírez, H., Gómez, L., y Orozco, L. (2016). *Influencia del almidón y tecnologías de control en el proceso de producción de azúcar crudo y refinado* (Monografía). Universidad de Matanzas, Cuba
- Jiménez, A. (2017). *Evaluación del comportamiento del contenido de almidón y su desdoblamiento con alfa amilasa en el proceso de producción de azúcar crudo* (Tesis de Maestría). Universidad de Matanzas, Cuba.

- Kuddus, M. (2018). *Enzymes in Food Technology: Improvements and Innovations*. Springer Nature Singapore Pte. ISBN 978-981-13-1932-7.
- Kumar, A.J., Partha, B., Pradeep, D.M., y Sangeeta, R. (2016). Thermostable amylase production from hot spring isolate *Exiguobacterium* sp: A promising for natural detergents. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 3, p. 59-68.
- Larrahondo, J.E. (2013). *Definición y alcances de la alcoquímica: la calidad de las materias primas y su impacto en el proceso alcoquímico*. III Congreso AETA, Sep.18-20 del 2013. Guayaquil-Ecuador.
- León Alonso, P. (2018). *Estudio de las propiedades funcionales y operacionales de la α -amilasa inmovilizada en el proceso de desdoblamiento de almidón* (Tesis de pregrado). Universidad de Matanzas, Cuba.
- Mollania, N., Khajeh, K., Hosseinkhani, S., y Dabirmanesh, B. (2010). Purification and characterization of a thermostable phytate resistant α -amylase from *Geobacillus* sp. LH8. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46, 27-36.
- Namer, I., Rosa Pérez, J., Dávila, H., y Rivas, E. (1988). *Caracterización de la producción y aplicación de enzimas en la industria azucarera cubana* (1ra. Parte). ICIDCA.
- Nicholson, R.I., y Horseley, M., (1958). The removal of starch from cane juices. *International Sugar Journal*, 60, p. 260-267.
- Patel, A. K., Singhanía, R. R. y Pandey, A. (2016). Novel enzymatic processes applied to the food industry. *Current Opinion in Food Science*, 7, p. 64-72.
- Penados, M. (2004). *Evaluación del impacto de adicionar la enzima alfa amilasa durante el proceso de evaporación en los niveles de almidón de azúcar crudo producido en un ingenio azucarero* (Tesis de pregrado). Escuela de Ingeniería Química: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Peña, A.A. (2009). *Hidrólisis del almidón de yuca mediante la utilización de preparaciones solubles e insolubilizadas de alfa-amilasa* (Tesis de pregrado). Universidad industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- Polaina, J., y MacCabe, A.P. (2007). *Industrial enzymes: structure, function and applications*. Chapter 1, 12th edition. Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- Popper, L., Schafer, W., y Freund, W. (2006). *Sugazym - dextranase and amylase in the sugar industry*. Published by Agrimedia GmbH.

- Porfirif, J., Beatriz, F.M., y Dina, R. (2016). Production of alpha-amylase from *Aspergillusoryzae* for several industrial applications in a single step. *Journal of Chrom atography B* 1022, p. 87-92.
- Ram irez, R. (2012). Universidad nacional abierta y a distancia (UNAD). Escuela de ciencias b asicas, tecnolog ıa e ingenier ıa. Programa de ingenier ıa de alimentos. Duitama.
- Rein, P. (2007). Cane Sugar Engineering. Berlin, Germany. ISBN 978-3-87040-110-8. Available in: www.canesugarengineering.com
- Roy, J.K. y Mukherjee, A.K. (2013). Applications of a high maltose forming, thermostable alpha-amylase from an extremely alkalophilic *Bacillus licheniformis* strain AS08E in food and laundry detergent industries. *Biochemical Engineering Journal* 77, p. 220-230.
- Schoonees, B.M. (2004). Starch hydrolysis using α -amylase: A laboratory evaluation using response surface methodology. *Proceedings of The South African Sugar Technologists Association* 78, p. 427-439.
- Schoonees-Muir, B.M.(2008). Dosing of Starch Hydrolysing Enzymes into a Diffuser. *Proceedings of The South African Sugar Technologists Association* 81, p. 145-153.
- Sivaramakrishnan, S., Gangadharan, D., Nampoothiri, K.M., Soccol, C.R., y Pandey, A. (2016). α -Amylases from microbial sources— an overview on recent developments. *Food Technology and Biotechnology* 44, p. 173–184.
- Spohner, S. C., Muller, H., Quirman, H. y Czermahk P. (2015). Expression of enzyme for the usage in food and feed industry with *Pichiapastoris*. *Journal of Biotechnology*, 202, p. 118-134.
- Tester, R.F., y Karkalas, Qi, X. (2004). Starch structure and digestibility. Enzyme-substrate relationship. *World's Poultry Science Journal* 60: 186-195.
- Viginotti, F., Polesi, L., Lima, C., y Silveira, S. (2014). Structural and physicochemical characteristics of starch from sugar cane and sweet sorghum stalks. *Carbohydrate Polymers* () 111, pp. 592–597.
- Wood, I.P., Cook, N.M., Wilson, D.R., Ryden, P., Robertson, J. A. y Waldron, K. W. (2016). Ethanol from a biorefinery waste stream: Saccharification of amylase, protease and xylanase treated wheat bran. *Food Chemistry*, 198, p. 125-131.
- WookKong, B., Kim, J., Jeong Kim, M., y Cherl Kim, J. (2003). Porcine Pancreatic Amylase Hydrolysis of native starch granules as a Function of Granule Surface Area. *Biotechnology Progress* 19(4), 1162 – 1166.

- Young, L.C. y deMan, J.M. (2018). Enzymes. Principles of Food Chemistry. *Food Science Text Series*. Chapter 10, p. 397-433.
- Zhou, M., Kim beng, C., Eggleston, G., Viator, R., Hale, A., y Gravois, K. (2008). Issues of starch in sugarcane processing and prospects of breeding for low starch content in sugarcane. *SUGAR CANE INTERNATIONAL*, 26 (3).
- Zossi, B., Navarro, M., Sorol, N., Sastre, M., y Marcelo, R. (2008). Validación de una metodología para determinar el contenido de almidón en azúcar. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán* 85 (2).
- Zossi, B., Cárdenas, G., Sorol, N., y Sastre, M. (2011). Influencia de compuestos azúcares y no azúcares en la calidad industrial de caña de azúcar en Tucumán, R. Argentina: caña verde y quemada (Parte 2). *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán* 88 (1), pp. 13-21.