

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**OPCIÓN I.- TESIS**

**TRABAJO PROFESIONAL**

**"IMPACTO Y REOLOGÍA DE HIDROCOLOIDES EN  
EL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIOETANOL  
A PARTIR DE MELAZA".**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRA EN CIENCIAS  
EN INGENIERÍA QUÍMICA**

**PRESENTA:**

*Ing. Lorena Georgina López Ávila González*

**DIRECTOR DE TESIS:**

*Dr. Denis Cantú Lozano*





FECHA: 26/10/2016  
DEPENDENCIA: POSGRADO  
ASUNTO: Autorización de Impresión  
OPCIÓN: I

C. LORENA GEORGINA LOPEZ AVILA GONZALEZ  
CANDIDATO A GRADO DE MAESTRO EN:  
CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros de Enseñanza Técnica Superior, dependiente de la Dirección General de Institutos Tecnológicos de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

"IMPACTO Y REOLOGIA DE HIDROCOLOIDES EN EL PROCESO DE PRODUCCION DE BIOETANOL A PARTIR DE MELAZA".

Comunico a Usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

A T E N T A M E N T E

  
M.C. MA. ELENA GARCÍA REYES  
JEFE DE LA DIV. DE ESTUDIOS DE POSGRADO



ggc





FECHA : 20/10/2016

ASUNTO: Revisión de Trabajo Escrito

C. M.C. MA. ELENA GARCÍA REYES  
JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS  
DE POSGRADO E INVESTIGACION.  
P R E S E N T E

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del (la) C. :

LORENA GEORGINA LOPEZ AVILA GONZALEZ

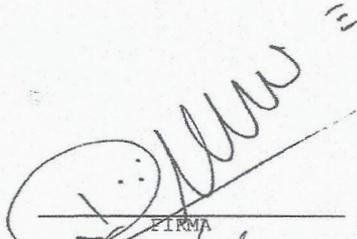
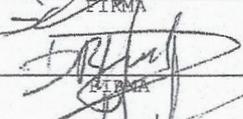
la cual lleva el título de:

"IMPACTO Y REOLOGIA DE HIDROCOLOIDES EN EL PROCESO DE PRODUCCION DE BIOETANOL A PARTIR DE MELAZA".

Y concluyen que se acepta.

A T E N T A M E N T E

PRESIDENTE : DR. DENIS CANTU LOZANO  
SECRETARIO : DR. GALO RAFAEL URREA GARCIA  
VOCAL : DRA. GUADALUPE LUNA SOLANO  
VOCAL SUP. : DRA. LETICIA LOPEZ ZAMORA

  
\_\_\_\_\_  
FIRMA  
  
\_\_\_\_\_  
FIRMA  
  
\_\_\_\_\_  
FIRMA  
  
\_\_\_\_\_  
FIRMA

EGRESADO(A) DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA

OPCION: I Tesis



## DEDICATORIAS

A Ricardo, por ser apoyo incondicional y fuente de inspiración.

A Emilia, por ser mi motivación y alegría diaria.

A mis padres Lety y Jorge, por sus enseñanzas y amor de toda la vida.

A mis hermanos Jorge, Lety y Ademar, por su compañía y cariño constante.

A Catalina, por alegrarme con su vida convirtiéndome en tía.

A la familia Guraieb Chahín, por recibirme como una hija y hermana más.

A Rosy, Nallely, Maricruz, Mariana, Adán, Emmanuel, Leo y Etna, por su compañerismo y amistad.

## **RECONOCIMIENTOS**

Agradezco sinceramente al Dr. Denis Cantú Lozano, por compartir sus experiencias y conocimientos al dirigir el presente proyecto.

A los miembros del jurado, Dra. Guadalupe Luna Solano, Dr. Galo Urrea García y Dra. Leticia López Zamora, por su guía y compromiso.

A CONACyT, por la beca otorgada a lo largo del programa, con número 619085, perteneciente a la Convocatoria de Becas Nacionales 2014 Segundo Período.

A Alimentos Tenerife, por su apertura y colaboración en el proyecto.

## RESUMEN

Impacto y reología de hidrocoloides en el proceso de producción de bioetanol a partir de melaza

Elaborada por: Ing. Lorena Georgina López Ávila González.

Dirigida por: Dr. Denis Cantú Lozano.

La principal materia prima para la producción de bioetanol es la melaza proveniente de la caña de azúcar. El proceso de producción de bioetanol, se ve afectado por la presencia de hidrocoloides, los cuales incrementan la viscosidad de los fluidos, provocando taponamientos e incrustaciones en equipos.

El presente proyecto tiene como objetivo separar, aprovechar y/o degradar tales compuestos, mejorando el proceso de producción de bioetanol y reduciendo la generación de residuos.

Se llevó a cabo la caracterización física, química y reológica, sobre las cinco muestras de interés: melaza, mosto fresco, mosto muerto, incrustación formada en la primera columna de destilación y bioetanol. Asimismo, se evaluó la separación de dextrana por determinación de punto isoeléctrico, así como la degradación de la misma por medio de hidrólisis enzimática, en presencia de enzima dextranasa, evaluando los efectos de relación enzima-sustrato, tipo de sustrato y temperatura, empleando un diseño factorial de  $2^3$ .

Fue posible concluir que la incrustación presenta características viscoelásticas, con un tiempo de relajación de 0.026 s. Esto último se relaciona con los resultados obtenidos en la caracterización química, donde se confirmó que el hidrocoloide presente se refiere a dextrana, estando en cantidades de 23.552% para el caso de la incrustación formada. De igual manera, se observó que no se logra la separación de dextrana por determinación de punto isoeléctrico, concluyendo que se debe a la ausencia de grupos funcionales ionizables en su estructura. Se concluyó que la temperatura en la que la enzima dextranasa presenta una mayor actividad es a 40°C, obteniendo un producto con menor viscosidad (0.017 Pa s, reducción de 28.978%) y concentración de dextranas (173.220 ppm, reducción de 64.55%).

## ABSTRACT

Hydrocolloids impact and rheology in bioethanol production process as of molasses

By: Lorena Georgina López Ávila González.

Advisor: Dr. Denis Cantú Lozano.

Sugar cane molasses is the main raw material in bioethanol production process, which is affected by hydrocolloids presence, raising fluids viscosity, generating clogging and embedding problems in equipment.

The main goal is to separate and/or degrade those compounds, increasing the bioethanol production process efficiency and reducing waste generation.

Physical, chemical and rheological characterization were made in the five samples of interest: molasses, mash, fermented mash, incrustation formed in the first distillation column, and bioethanol. Dextran separation was evaluated by isoelectric point determination, meanwhile dextran degradation was evaluated by enzymatic hydrolysis, in presence of dextranase enzyme, evaluating the effects of enzyme-substrate relation, substrate type, and temperature, applying  $2^3$  factorial design.

Was concluded that the incrustation sample showed viscoelastic characteristics, with a relaxation time of 0.026 s. The hydrocolloid presence was confirmed by chemical characterization, corresponding to dextran, in quantities of 235,523.22 ppm in the formed incrustation. Its separation was concluded to not be feasible due to the absence of ionizable functional groups in its structure.

The highest enzyme activity was observed at 40°C, obtaining a lower viscous product (0.017 Pa s, 28.978% of reduction) and a lower dextran concentration product (173.220 ppm, 64.55% of reduction).

## ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE TABLAS	viii
NOMENCLATURA	x9
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	
1.1    Panorama global de bioetanol	4
1.2    Proceso de producción de bioetanol	4
1.2.1    Materia prima	5
1.2.1.1    Caña de azúcar	5
1.2.1.2    Melaza	5
1.2.1.3    Mostos	6
1.2.2    Hidrocoloides	6
1.2.2.1    Dextrana	7
1.3    Alternativas de recuperación y/o degradación de hidrocoloides	8
1.3.1    Equilibrio ácido-base	8
1.3.1.1    Determinación de punto isoeléctrico	10
1.3.2    Hidrólisis enzimática	11
1.3.2.1    Cinética de Michaelis-Menten	13
1.3.2.2    Inhibición	15
1.4    Reología	17
1.4.1    Clasificación de materiales	17
1.4.1.1    Fluidos	17
1.4.1.2    Sólidos	20
1.4.1.3    Materiales viscoelásticos	21
1.4.2    Modelos reológicos	23
1.4.3    Variación de la viscosidad con respecto a la temperatura	24
1.4.4    Reometría	24
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS	
	ii

2.1	Metodología general	29
2.2	Obtención de muestras	30
2.3	Caracterización fisicoquímica	30
2.4	Caracterización reológica	32
2.5	Determinación de punto isoeléctrico	35
2.6	Hidrólisis enzimática	35
<b>CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>		
3.1	Caracterización fisicoquímica	38
3.2	Caracterización reológica	40
3.2.1	Caracterización reológica de melaza	41
3.2.2	Caracterización reológica de mosto fresco	43
3.2.3	Caracterización reológica de mosto muerto	45
3.2.3.2	Efecto de temperatura	48
3.2.4	Caracterización reológica de incrustación	49
3.2.4.1	Estado estacionario o rotacional	49
3.2.4.2	Estado dinámico u oscilatorio	52
3.2.5	Caracterización reológica de destilado impuro	55
3.3	Determinación de punto isoeléctrico	57
3.4	Hidrólisis enzimática	61
3.4.1	Efecto de hidrólisis enzimática sobre viscosidad	61
3.4.2	Efecto de hidrólisis enzimática sobre contenido de dextrana	65
3.4.3	Cinéticas enzimáticas	69
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>		75
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>		77

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA	PAG.
1.1 Diagrama de bloques de proceso de producción de bioetanol a partir de melaza (S.c.: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	5
1.2 Estructura molecular de dextrana	7
1.3 Curva de valoración de ácidos débiles (Mathews <i>et al.</i> , 2012)	10
1.4 Gráfico de Lineweaver-Burk (a) y de Eadie-Hofstee (b) (Mathews <i>et al.</i> , 2012)	14
1.5 Efecto de inhibición competitiva en cinética enzimática (Mathews <i>et al.</i> , 2012)	16
1.6 Efecto de inhibición no competitiva en cinética enzimática (Mathews <i>et al.</i> , 2012)	16
1.7 Comportamiento de fluidos independientes del tiempo, con respecto al esfuerzo de corte (a) y viscosidad aparente (b) (Steffe, 1996)	18
1.8 Comportamiento de fluidos dependientes del tiempo (Steffe, 1996)	19
1.9 Clasificación de acuerdo a comportamiento reológico (Steffe, 1996)	20
1.10 Variación del ángulo de fase con respecto a la frecuencia (Steffe, 1996)	22
1.11 Esfuerzo rotacional entre platos	25
1.12 Esfuerzo oscilatorio entre platos (Steffe, 1996)	26
2.1 Diagrama de bloques de metodología para caracterización, separación y/o biodegradación de hidrocoloides	29

<b>FIGURA</b>	<b>PAG.</b>
<b>2.2</b> a) Baño termostático Julabo F25 b) Reómetro Anton Paar modelo MCR 301	32
<b>2.3</b> Geometrías para caracterización reológica (de izquierda a derecha: agitador ST22-4V-40-SN10120, cono CP50-2/TG-SN6659, cono CP25-2/TG-SN6614 y cilindro CC27/T200/AL-SN9337)	33
<b>2.4</b> Sistemas Peltier para caracterización reológica (a) cuba C-PTD200-SN80123149 y b) plato P-PTD200/TG-SN80091455)	34
<b>3.1</b> Reograma de velocidad de corte contra esfuerzo de corte de muestras de melaza a 25°C y 35°C	41
<b>3.2</b> Reograma de velocidad de corte contra viscosidad de muestras de melaza a 25°C y 35°C	42
<b>3.3</b> Reograma de velocidad de corte contra esfuerzo de corte de muestras de mosto fresco a 25°C	44
<b>3.4</b> Reograma de velocidad de corte contra viscosidad de muestras de mosto fresco a 25°C	44
<b>3.5</b> Reograma de velocidad de corte contra esfuerzo de corte de muestras de mosto muerto a 25°C y 90°C	46
<b>3.6</b> Reograma de velocidad de corte contra viscosidad de muestras de mosto muerto a 25°C y 90°C	46
<b>3.7</b> Reograma de temperatura contra viscosidad, con ajuste a la ecuación linealizada de Arrhenius	48
<b>3.8</b> Reograma de velocidad de corte contra esfuerzo de corte de muestras de incrustación a 25°C	50

<b>FIGURA</b>	<b>PAG.</b>
<b>3.9</b> Reograma de velocidad de corte contra viscosidad de muestras de incrustación a 25°C	51
<b>3.10</b> Reograma de amplitud contra módulo de almacenamiento y módulo de pérdida para incrustación a 25°C	52
<b>3.11</b> Reograma de frecuencia angular contra módulo de almacenamiento y módulo de pérdida para incrustación a 25°C	53
<b>3.12</b> Reograma de frecuencia angular contra módulo de almacenamiento, módulo de pérdida y tangente de ángulo de fase	54
<b>3.13</b> Reograma de frecuencia angular contra ángulo de fase	55
<b>3.14</b> Reograma de velocidad de corte contra esfuerzo de corte de muestras de destilado a 25°C y 90°C	56
<b>3.15</b> Reograma de velocidad de corte contra viscosidad de muestras de destilado a 25°C y 90°C	56
<b>3.16</b> Curvas de titulación en medio básico de soluciones de dextrana a 1% y 6% m/v	58
<b>3.17</b> Curvas de titulación en medio ácido de soluciones de dextrana a 1% y 6% m/v	58
<b>3.18</b> Reograma de velocidad de corte contra esfuerzo de corte de soluciones de dextrana a diferentes concentraciones	59
<b>3.19</b> Reograma de velocidad de corte contra esfuerzo de corte de muestras de mostos sometidas a hidrólisis enzimática	62
<b>3.21</b> Factores sobre contenido de dextrana: a) sustrato vs. dextrana, b) relación E:S vs. dextrana, c) temperatura vs. dextrana	68

<b>FIGURA</b>		<b>PAG.</b>
<b>3.22</b>	Degradación de dextrana con respecto al tiempo de hidrólisis enzimática, a 40°C y relación E-S [1:10]	69
<b>3.23</b>	Degradación de dextrana con respecto al tiempo de hidrólisis enzimática, a 40°C y relación E-S [1:100]	70
<b>3.24</b>	Degradación de dextrana con respecto al tiempo de hidrólisis enzimática, a 40°C y sobre mosto fresco	70
<b>3.25</b>	Degradación de dextrana con respecto al tiempo de hidrólisis enzimática, a 40°C y sobre mosto muerto	71
<b>3.26</b>	Degradación de dextrana con respecto al tiempo de hidrólisis enzimática, en nivel alto de temperatura	71

## LISTA DE TABLAS

<b>TABLA</b>		<b>PAG.</b>
1.1	Modelos reológicos para describir el comportamiento de fluidos no Newtonianos	23
1.2	Esquemas de pruebas rotacionales	25
1.3	Esquemas de pruebas oscilatorias	26
2.1	Técnicas, métodos y/o normas para caracterización fisicoquímica	31
2.2	Sistemas de geometrías y Peltier empleados para caracterización reológica de cada muestra	33
2.3	Análisis en régimen estacionario a temperatura constante para caracterización reológica	34
2.4	Análisis en régimen dinámico a temperatura constante para caracterización reológica	35
2.5	Factores y niveles para diseño factorial de hidrólisis enzimática	36
3.1	Resultados de caracterización fisicoquímica de muestras	38
3.2	Parámetros de modelo reológico experimental de Ostwald-de Waele para melaza a 25°C	42
3.3	Parámetros de modelo reológico experimental de Newton para melaza a 35°C	43
3.4	Parámetros de modelo reológico experimental de Herschel-Bulkley para mosto fresco a 25°C	45

<b>TABLA</b>	<b>PAG.</b>
<b>3.5</b> Parámetros de modelo reológico experimental de Herschel-Bulkley para mosto muerto	47
<b>3.6</b> Parámetros experimentales de ecuación de Arrhenius para mosto muerto	49
<b>3.7</b> Parámetros del modelo experimental de Herschel-Bulkley para incrustación a 25°C	51
<b>3.8</b> Parámetros del modelo experimental de Herschel-Bulkley para destilado a 25°C	57
<b>3.9</b> Parámetros del modelo experimental de Newton para destilado a 90°C	57
<b>3.10</b> Modelos experimentales de soluciones de dextrana con pH variable	60
<b>3.11</b> Contenido de dextranas en presencia de etanol absoluto	60
<b>3.12</b> Resultados de viscosidad - hidrólisis enzimática	61
<b>3.13</b> Modelos experimentales de mostos sometidos a hidrólisis enzimática	63
<b>3.14</b> ANOVA de resultados de viscosidad	64
<b>3.15</b> Resultados de contenido de dextranas - hidrólisis enzimática	66
<b>3.16</b> ANOVA de resultados de contenido de dextrana	67

## NOMENCLATURA

VARIABLE	DESCRIPCIÓN	UNIDADES
$E_a$	Energía de activación	$\frac{cal}{g\ mol}$
$G'$	Módulo de almacenamiento	Pa
$G''$	Módulo de pérdida	Pa
$G^*$	Módulo complejo	Pa
$K$	Índice de consistencia	Pa s <sup>n</sup>
$n$	Índice reológico	-
$R$	Constante de los gases ideales	$\frac{cal}{g\ mol\ K}$
$T$	Temperatura absoluta	K
$\delta$	Ángulo de fase	rad
$\eta_0$	Viscosidad inicial dependiente del fluido	Pa s
$\eta_{ap}$	Viscosidad aparente	Pa s
$\eta^*$	Viscosidad compleja	Pa s
$\dot{\gamma}$	Velocidad de deformación	1/s
$\gamma$	Deformación	-
$\mu$	Viscosidad dinámica	Pa s
$\tau$	Tensión o esfuerzo de corte	Pa
$\tau_0$	Tensión o esfuerzo de corte inicial	Pa
$\omega$	Velocidad angular	rad/s

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los combustibles fósiles funcionan como la principal fuente de energía, sin embargo, su explotación indiscriminada, ha derivado el constante deterioro al medio ambiente y la escasez de energéticos a nivel mundial, lo cual ha forjado la necesidad de buscar fuentes alternativas para cubrir las necesidades de la sociedad.

La caña de azúcar es considerada la materia prima más eficiente para producir bioetanol, he ahí la importancia de tal combustible. Brasil y Estados Unidos son los dos países que producen la mayor cantidad de bioetanol como biocombustible, con tecnologías consolidadas a partir de caña de azúcar y jarabe de maíz, respectivamente. México tiene alto potencial para posicionarse a nivel global cerca de tales países, debido a su alta producción de caña de azúcar, principalmente en la región del estado de Veracruz (SHCP, 2014).

Los diferentes tipos de industrias que involucran el procesamiento de la caña de azúcar, presentan diversas problemáticas de operación debido a la presencia de hidrocoloides (llamados comúnmente gomas), provocando pérdidas por paros de producción, inversión de horas hombre, daños en equipos por taponamientos e incrustaciones, así como generación de residuos. A pesar de esto, dichos compuestos, por sus características, resultan ser de suma utilidad dentro de la industria alimentaria, farmacéutica y petrolera.

La empresa local con la que se trabajó el proyecto presenta dichas problemáticas. Ésta fue ganadora, junto con otras de acuerdo a la región, de la licitación realizada por Petróleos Mexicanos el presente año, para adquirir bioetanol para mezclar con gasolina en seis de sus terminales de almacenamiento y reparto, con la intención de emplear este recurso como biocombustible (PEMEX, 2015).

Al margen de este contexto, como objetivo general del proyecto se propuso separar, aprovechar y/o degradar los hidrocoloides presentes en la producción de bioetanol, mejorando el proceso y reduciendo la generación de residuos. Para lograr dicho objetivo, se plantearon los siguientes objetivos específicos: caracterizar fisicoquímicamente y reológicamente melaza, mostos, material de incrustación y destilado, determinar el punto isoeléctrico para la separación de hidrocoloide, de modo que se logre su aprovechamiento, así como degradar hidrocoloide por vía enzimática, de modo que se evite su formación.

En base a los hechos anteriormente mencionados, se propuso trabajar en dicho sector industrial, con enfoque a evitar la presencia de hidrocoloides, o bien, lograr su aprovechamiento, de modo que se genere una aportación en la mejora del proceso de producción de bioetanol y se reduzca el impacto ambiental de tal actividad industrial.

# **CAPÍTULO 1**

## **FUNDAMENTOS TEÓRICOS**

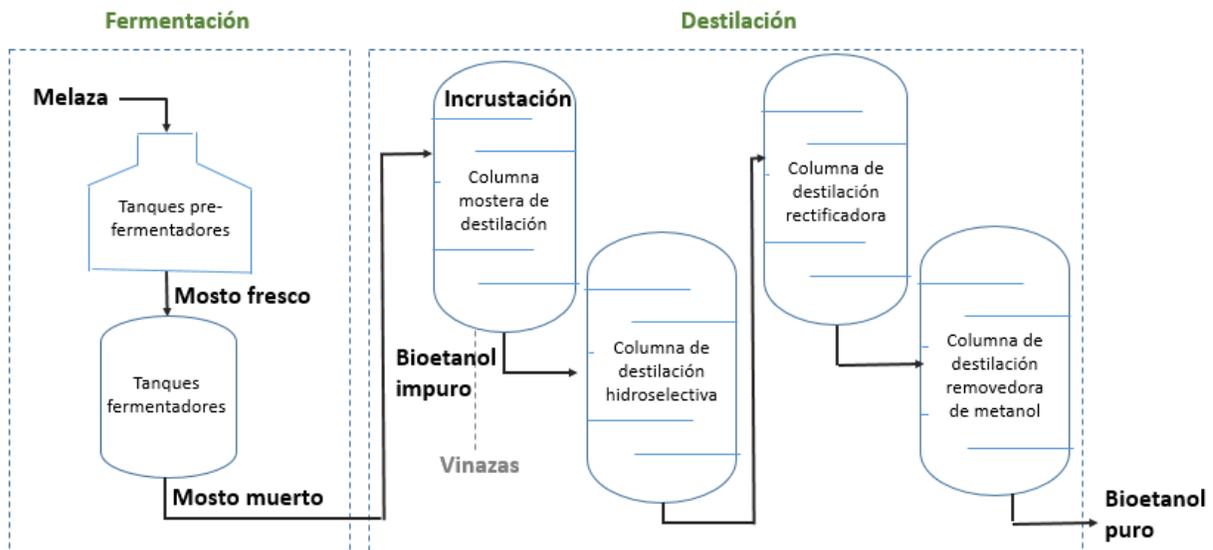
## CAPÍTULO 1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 1.1 Panorama global de bioetanol

A nivel mundial, Estados Unidos es el mayor productor de bioetanol, siendo éste elaborado a partir de azúcar de maíz, en forma de alta fructosa. El segundo productor de bioetanol es Brasil, el cual es obtenido principalmente a partir de azúcar de caña, en forma de sacarosa. En este último, el bioetanol ha sido empleado como sustituto de la gasolina desde hace más de treinta años; actualmente, el consumo de bioetanol brasileño es equivalente al uso de la gasolina y su costo resulta ser competitivo. México se encuentra dentro de los principales cinco países productores de caña de azúcar. Sin embargo, para posicionarse como uno de los países líderes en la producción de bioetanol, es necesario que se tomen algunas acciones como control biológico de plagas, colecta mecanizada, eliminación de quemas, aprovechamiento de subproductos y cogeneración de energía eléctrica, entre otras (SENER, 2013).

### 1.2 Proceso de producción de bioetanol

El bioetanol (alcohol etílico de fórmula  $C_2H_5OH$ ) se obtiene por fermentación de azúcares, a partir de la sacarosa, en este caso, de la caña de azúcar. En la reacción de fermentación es de vital importancia la participación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, la cual produce concentraciones de bioetanol de entre 7 y 12 %, aproximadamente. Por lo tanto, para obtener las concentraciones deseadas de alcohol, se requiere de una serie de destilaciones (Figura 1.1). En México, el principal uso del bioetanol producido a partir de azúcar de caña, es para bebidas embriagantes y para la industria química; además, hoy en día el bioetanol también se empieza a destinar como combustible, aunque en una mínima proporción (Fajardo y Sarmiento, 2007).



**Figura 1.1** Diagrama de bloques de proceso de producción de bioetanol a partir de melaza (S.c.: *Saccharomyces cerevisiae*)

## 1.2.1 Materia prima

### 1.2.1.1 Caña de azúcar

Cuyo nombre científico es *Saccharum officinarum* L., es una gramínea tropical, emparentada con el sorgo y el maíz, en cuyo tallo se forma y acumula un jugo rico en sacarosa. La caña de azúcar es considerada la materia prima más eficiente para producir azúcar y bioetanol. Entre los principales estados productores de caña de azúcar en México, se encuentran: Veracruz, Jalisco, Tamaulipas, Oaxaca, Chiapas y San Luis Potosí, contribuyendo con un 72% de la producción nacional anual. Las principales industrias que parten de caña de azúcar son la industria azucarera, alcoholera y de papel (SHCP, 2014).

### 1.2.1.2 Melaza

Constituye un subproducto de la refinación de la sacarosa de caña de azúcar, el cual consiste en un líquido denso y viscoso de color oscuro. Tiene un alto contenido

nutrimental de hidratos de carbono, así como vitaminas del grupo B, minerales y un bajo contenido de agua. Entre los azúcares que constituyen la melaza, se destaca en primer lugar la sacarosa, encontrándose también glucosa, levulosa, maltosa, lactosa y azúcares reductores (Fajardo y Sarmiento, 2007).

La empresa con la que se colabora en el proyecto, almacena la melaza en tres fosas, teniendo una capacidad total de 70,000 ton. Asimismo, es importante recalcar el tiempo promedio de estadía de la materia prima en fosas, siendo éste de 5.5 meses.

### **1.2.1.3 Mostos**

Se conoce como mosto fresco al producto almacenado en tinajas de pre-fermentación, en donde se agregan nutrientes e inhibidores de bacterias a la melaza entrante.

Se le conoce como mosto muerto al producto generado después de la etapa de fermentación, la cual tiene una duración de aproximadamente 22 h, y el cual es enviado al proceso de destilación.

Generalmente, el mosto de melaza de caña de azúcar tiene una concentración de sólidos solubles de 20 a 28 °Brix y de 12 a 18% de azúcares (Martínez-Alcalá, 2012).

### **1.2.2 Hidrocoloides**

Los hidrocoloides (comúnmente llamados gomas) pertenecen a un grupo de compuestos químicos caracterizados por tener un alto peso molecular. Éstos contienen un alto número de grupos hidroxilo. Su origen puede ser vegetal, animal, microbiano o sintético. En el procesamiento de la caña de azúcar y producción de bioetanol, se ha detectado la presencia no deseada de hidrocoloides. Dicho acontecimiento es considerado un aspecto relevante, puesto que provoca algunas desventajas, destacando las pérdidas de azúcar, taponamiento e incrustaciones en tuberías y equipos, así como incremento de viscosidad. A pesar de tales

problemáticas, algunos hidrocoloides, tales como la goma dextrana, xantana y carboximetilcelulosa (CMC), tienen importantes aplicaciones, principalmente en la industria farmacéutica, alimentaria y petrolera (García *et al.*, 1993).

La formación de tales hidrocoloides en la caña de azúcar se da por origen microbiano. Las características físicas y químicas de la melaza de caña de azúcar, hacen de ella un excelente sustrato para el desarrollo de microorganismos. El principal de dichos microorganismos es *Leuconostoc mesenteroides*, el cual degrada la sacarosa de la caña de azúcar y forma e incorpora al mismo tiempo, metabolitos como el ácido láctico, acético, etanol, manitol y polisacáridos, como dextranas y lévanos (García *et al.*, 1993).

### 1.2.2.1 Dextrana

Es un polisacárido de alto peso molecular, compuesto de unidades de  $\alpha$ -glucosa unidas por enlaces glucosídicos (Figura 1.2); son estructuralmente diversas y se caracterizan de acuerdo al porcentaje, naturaleza y distribución de sus enlaces.

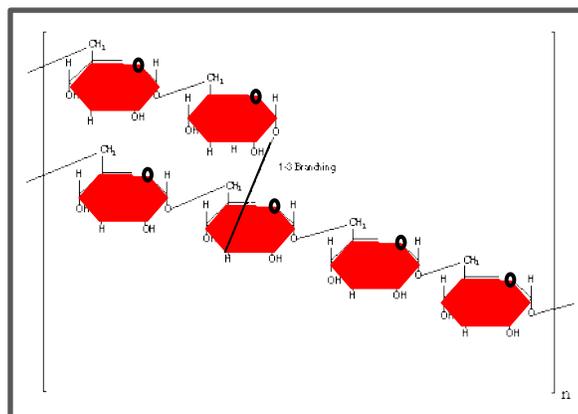


Figura 1.2 Estructura molecular de dextrana

Las células del microorganismo láctico *Leuconostoc mesenteroides* en crecimiento, degradan la sacarosa y forman e incorporan al mismo tiempo, metabolitos como el

ácido láctico, acético, etanol, manitol y dextranas. Dicho microorganismo secreta una enzima inducible llamada dextranasa, la cual hidroliza la dextrana rompiendo los enlaces  $\alpha 1.6$  y formando moléculas de menor tamaño. El nivel de exposición del tejido interno de la caña a dicho microorganismo, se incrementa con el corte mecanizado, el trozado o la quema. Su principal aplicación radica en el área farmacéutica como expansor de volumen del plasma sanguíneo y promotor del flujo de sangre (Belder, 2003).

La dextrana puede ser removida por precipitación a través de la determinación de su punto isoeléctrico; asimismo, puede ser hidrolizada a azúcares simples como glucosa, isomaltosa, etc. por enzimas dextranasas (García *et al.*, 1993).

### **1.3 Alternativas de recuperación y/o degradación de hidrocoloides**

Para dar solución a dicha problemática, se ve la necesidad de implementar diferentes alternativas, tanto de separación como de degradación de los hidrocoloides presentes. Se ha planteado la determinación del punto isoeléctrico como alternativa de separación, mientras que la hidrólisis por vía enzimática como alternativa de degradación.

#### **1.3.1 Equilibrio ácido-base**

La constante de equilibrio está definida por  $K_a$ , mejor conocida como constante de disociación, la cual también es expresada como  $pK_a$ , mostrada en la ecuación (1.1), debido a sus bajos niveles de concentración.

$$pK_a = -\log K_a \quad (1.1)$$

Entre más grande sea el valor de  $K_a$ , mayor será la tendencia del ácido a disociarse, por lo tanto, será un ácido más fuerte. Dado la forma de la ecuación (1.1), un ácido fuerte tendrá un valor de  $pK_a$  pequeño.

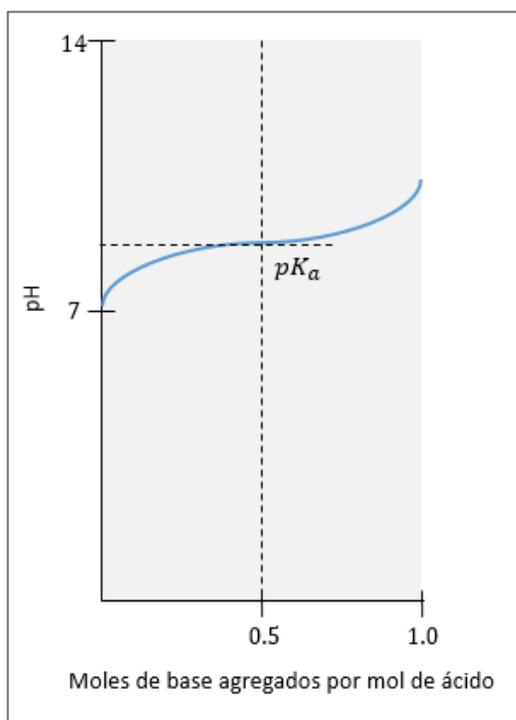
La relación entre la disociación de un grupo y el  $pH$  del medio, está dada por la ecuación (1.2) de Henderson-Hasselbalch.

$$pH = pK_a + \log \frac{[forma\ disociada]}{[forma\ no\ disociada]} \quad (1.2)$$

Por medio de la ecuación (1.2), es posible representar exactamente la variación del  $pH$  con respecto a la adición de una base a una solución ácida, o viceversa. Conforme se procede con la valoración, el valor de  $pH$  irá aumentando, de modo que se alcance la neutralización. En dicho punto, la ecuación (1.2) resulta en la ecuación (1.3), como se indica a continuación:

$$pH = pK_a + \log 1 = pK_a \quad (1.3)$$

Por lo tanto, en el punto medio de la curva de valoración de un ácido débil, el  $pH$  tiene el mismo valor que su  $pK_a$ . Lo anterior, puede ser confirmado experimentalmente y se ilustra en la Figura 1.3. Es importante enfatizar, que las curvas de valoración son reversibles, es decir, se pueden empezar partiendo de un  $pH$  elevado, o bien, de un  $pH$  bajo, simplemente se siguen las direcciones contrarias (Mathews *et al.*, 2012).



**Figura 1.3** Curva de valoración de ácidos débiles (Mathews *et al.*, 2012)

### 1.3.1.1 Determinación de punto isoeléctrico

Se denomina anfótero a las moléculas que contienen grupos con valores de  $pK_a$  tanto ácidos como básicos. La valoración en este tipo de moléculas, ocurre en dos etapas. La situación cercana al  $pH$  neutro es interesante, puesto que ahí la carga neta es cero. Un anfótero en dicho estado, con el mismo número de cargas positivas y negativas, se denomina zwitterión. Sin embargo, sólo hay un único punto en dicha región de  $pH$ , donde se tiene una carga neta cero y no existe atracción por ningún polo si se somete a un campo eléctrico. A tal valor de  $pH$ , se le conoce como punto isoeléctrico ( $pI$ ), el cual se expresa en la ecuación (1.4), la cual aplica para moléculas con dos grupos ionizables.

$$pI = \frac{pK_{a_1} + pK_{a_2}}{2} \quad (1.4)$$

Moléculas grandes, como las proteínas, pueden tener muchos grupos ácidos y básicos. Dichas moléculas reciben el nombre de polianfolitos. Con más de dos grupos ionizables, el cálculo del  $pI$  se torna más complejo. Sin embargo, mientras que la molécula cuente con grupos cargados positiva y negativamente, siempre se cuenta con un  $pI$  donde la carga neta es cero. Si los grupos ácidos predominan, entonces el  $pI$  será bajo; si los grupos básicos son predominantes, entonces el  $pI$  será alto (Mathews *et al.*, 2012). En el punto isoeléctrico, se tienen características de menor o nula solubilidad, mayor turbidez, mayor viscosidad y facilidad para precipitar debido a que la carga eléctrica es cero.

Serpa *et al.* (2014) determinaron el  $pI$  de las proteínas presentes en cuatro fuentes foliares: yuca variedades verónica y tai, jatropha y gmelina. Para la obtención de las proteínas se realizó una extracción alcalina con NaOH 0.1M; y una precipitación evaluando tres valores de  $pH$  (4.0, 4.25 y 4.5) y dos temperaturas (temperatura ambiente y 50°C). Todos los precipitados obtenidos a 50°C presentaron el mayor contenido de proteína. El  $pI$  para la yuca variedad tai y para la jatropha fue 4.0 y 4.5 respectivamente, siendo el precipitado de jatropha el que mayor contenido de proteína presentó, seguido por la yuca variedad tai y la yuca variedad verónica.

### **1.3.2 Hidrólisis enzimática**

Las enzimas son los catalizadores biológicos más eficientes, y en su mayoría, éstas son proteínas. Tales catalizadores son capaces de aumentar la velocidad de una reacción en un factor de hasta  $10^{20}$ . Las enzimas, al igual que todos los catalizadores, aceleran las reacciones, pero no pueden alterar la constante de equilibrio ni el cambio de energía libre.

La reacción catalizada se lleva a cabo en el sitio activo, por lo regular en los pasos que se mencionan a continuación. El primero, es la unión del sustrato (S) a la enzima (E), que se da gracias a las interacciones altamente específicas entre el sustrato y las cadenas laterales y grupos de esqueleto de los aminoácidos que constituyen el sitio activo, lo anterior a una determinada velocidad denominada constante de formación ( $k_1$ ) del complejo enzima-sustrato (ES). Una vez que el sustrato queda unido y que se forma el estado de transición, ya puede haber catálisis, lo cual implica un reacomodo de los enlaces. En el estado de transición, el sustrato se coloca en la orientación correcta respecto de los átomos que intervienen en dichos enlaces. Ambos efectos, proximidad y orientación, aceleran la reacción. Cuando se rompen enlaces y se forman otros, el sustrato se transforma en producto (P), el cual se separa de la enzima, a una determinada velocidad denominada constante de rapidez de formación de producto ( $k_2$ ) (Campbell y Farrell, 2015). Lo anterior, se ilustra a continuación:



En dicha reacción se asume que las condiciones son tales que la reacción reversible entre la enzima y el producto es despreciable. La formación catalítica del producto, con regeneración de la enzima, será entonces una reacción simple de primer orden y su velocidad será determinada únicamente por la concentración de ES y el valor de  $k_2$ . Por lo tanto, la velocidad de reacción se puede expresar como:

$$V = k_2[ES] \quad (1.5)$$

Generalmente, no es medible la concentración [ES], a diferencia de las concentraciones de sustrato o producto y de la concentración total de la enzima, la

cual debe ser la suma de la enzima libre y la enzima ocupada, como se expresa a continuación:

$$[E]_t = [E] + [ES] \quad (1.6)$$

### 1.3.2.1 Cinética de Michaelis-Menten

El modelo de Michaelis-Menten resulta de especial utilidad para estudiar la cinética de las reacciones catalizadas por enzimas. La principal característica del modelo radica en la formación del complejo enzima-sustrato. En el modelo, la rapidez inicial,  $V$ , de la formación de producto depende únicamente de la rapidez de descomposición del complejo, quedando expresado como se indica en la ecuación (1.7).

$$V = \frac{K_2[E]_t[S]}{K_M + [S]} \quad (1.7)$$

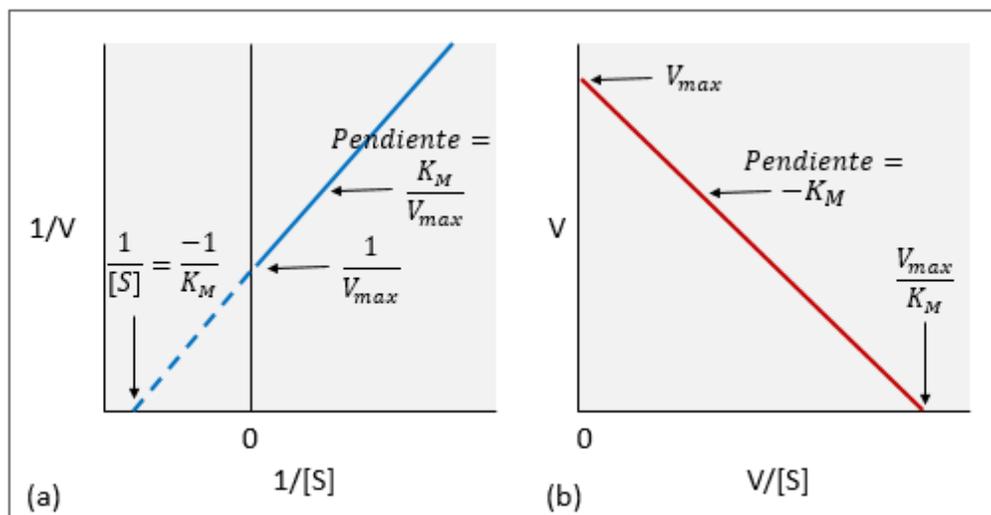
Si la concentración del sustrato es tan alta que la enzima se satura con él, la reacción se efectúa a la máxima velocidad posible  $V_{m\acute{a}x}$ , quedando expresado el modelo como se muestra en la ecuación (1.8).

$$V = \frac{V_{m\acute{a}x}[S]}{K_M + [S]} \quad (1.8)$$

La manera más efectiva de calcular la velocidad de reacción de interés, es montar una serie de experimentos con la misma concentración de enzima, pero con diferentes concentraciones de sustrato y medir las velocidades iniciales. Dado que la concentración inicial de sustrato es conocida, y el cambio de la concentración del

sustrato con respecto al tiempo regularmente es lineal en las primeras etapas, es posible obtener resultados confiables de velocidad en función de la concentración de la enzima (Mathews *et al.*, 2012).

El gráfico de recíprocos dobles de Lineweaver-Burk y el gráfico de Eadie-Hofstee, son las formas más comunes de determinar el valor de  $K_M$ . En la Figura 1.4, se ejemplifica cada uno de los gráficos y su interpretación.



**Figura 1.4** Gráfico de Lineweaver-Burk (a) y de Eadie-Hofstee (b) (Mathews *et al.*, 2012)

Al invertir ambos lados de la ecuación (1.8), se obtiene la siguiente ecuación (1.9), donde al graficar  $1/V$  contra  $1/[S]$ , se debe obtener una línea recta.

$$\frac{1}{V} = \left( \frac{K_M}{V_{m\acute{a}x}} \right) \left( \frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{V_{m\acute{a}x}} \quad (1.9)$$

El gráfico de Lineweaver-Burk provee una evaluación rápida e información acerca de las constantes críticas de la cinética de Michaelis-Menten. Una de sus desventajas, es que regularmente se requiere hacer una extrapolación grande para determinar el valor de  $K_M$ . El arreglo alternativo de la ecuación (1.8), en la siguiente forma (1.10), corresponde al llamado gráfico de Eadie-Hofstee.

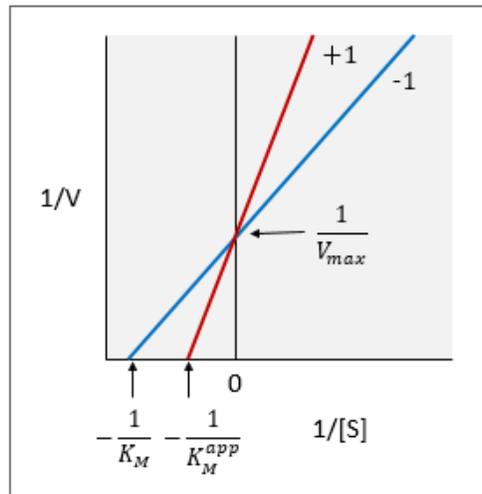
$$V = V_{m\acute{a}x} - K_M \frac{V}{[S]} \quad (1.10)$$

### 1.3.2.2 Inhibición

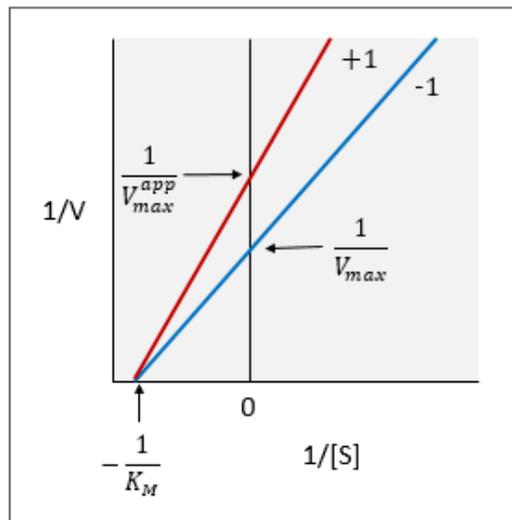
Un inhibidor es una sustancia que interfiere la acción de una enzima y hace más lenta una reacción. Un inhibidor reversible puede unirse a la enzima y después ser liberado, dejando la enzima en su condición original. Un inhibidor irreversible reacciona con la enzima para producir una proteína que no contiene actividad enzimática y a partir de la cual es imposible regenerar la enzima original.

Se distinguen dos clases principales de inhibidores reversibles con base en el sitio de la enzima al que se unen. Una clase consiste en compuestos muy similares al sustrato en su estructura (inhibición competitiva). La otra clase importante de inhibidores reversibles incluye todos los inhibidores que se unen a la enzima en un sitio distinto del sitio activo, teniendo como resultado una alteración en la estructura de la enzima (inhibición no competitiva) (Campbell y Farrell, 2015).

En la Figura 1.5, se muestra el gráfico de Lineweaver-Burk donde se indica la presencia de inhibición competitiva, mientras que en la Figura 1.6, se muestra el gráfico de Lineweaver-Burk donde se indica la presencia de inhibición no competitiva.



**Figura 1.5** Efecto de inhibición competitiva en cinética enzimática (Mathews *et al.*, 2012)



**Figura 1.6** Efecto de inhibición no competitiva en cinética enzimática (Mathews *et al.*, 2012)

En la inhibición competitiva, el sustrato y el inhibidor pueden ocupar el sitio activo. El sustrato puede ser procesado por la enzima, sin embargo, esto no es posible con el inhibidor. En este tipo de inhibición, se presenta un incremento en la  $K_M$  aparente.

Por otro lado, en la inhibición no competitiva, el inhibidor ocupa un sitio en la superficie de la enzima, siendo este diferente al ocupado por el sustrato. A pesar de que no compiten por la ocupación del sitio activo, si afectan al evento catalítico y provocan cambios en la  $k_{cat}$  aparente.

## **1.4 Reología**

La reología es la ciencia que estudia la deformación de un cuerpo sometido a esfuerzos externos. Las propiedades reológicas definen la relación entre el esfuerzo y la velocidad de corte en diferentes tipos de fluidos. El esfuerzo se define como la fuerza que actúa sobre una unidad de área, mientras que la velocidad de corte se define como la medida de desplazamiento relativo, siendo ambos parámetros tensores de segundo orden.

Las mediciones reológicas son conducidas imponiendo un esfuerzo definido y midiendo la velocidad de corte resultante, o viceversa. La relación entre ambos eventos físicos, define diferentes tipos de propiedades reológicas (Heldman y Lund, 2007).

### **1.4.1 Clasificación de materiales**

Los materiales se clasifican de acuerdo a su comportamiento y propiedades reológicas. El sólido ideal (de comportamiento elástico) y el fluido ideal (de comportamiento viscoso), representan dos respuestas extremas de un material.

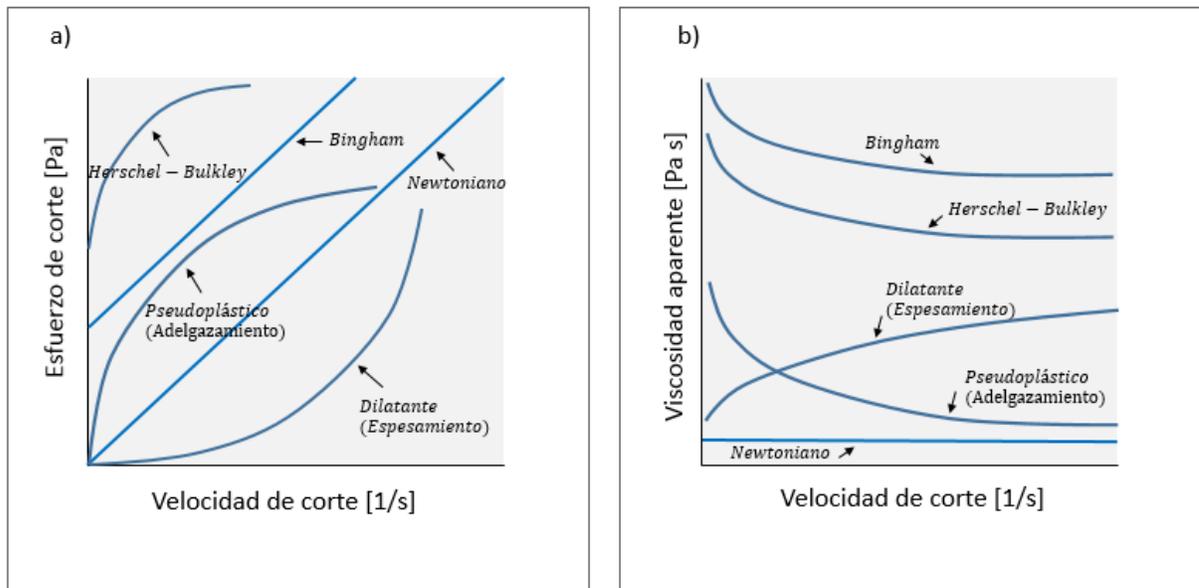
#### **1.4.1.1 Fluidos**

Un fluido ideal se deforma a una tasa constante bajo un esfuerzo aplicado y el material no regresa a su configuración original cuando éste es removido. El flujo de un material viscoso simple es descrito por la ley de Newton, donde el esfuerzo de corte ( $\tau$ ) es

directamente proporcional a la velocidad de corte ( $\dot{\gamma}$ ). Dicha proporcionalidad se indica por medio de una constante, llamada viscosidad Newtoniana ( $\eta$ ), como se indica en la ecuación (1.11).

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad (1.11)$$

Los fluidos se clasifican en Newtonianos y no Newtonianos. Los fluidos Newtonianos son aquellos que obedecen a la ley de Newton, mientras que los fluidos no Newtonianos se caracterizan por tener una relación no lineal entre el esfuerzo de corte y la velocidad de corte. Este tipo de fluidos pueden ser independientes o dependientes del tiempo. En la Figura 1.7, se muestran los principales fluidos independientes del tiempo.

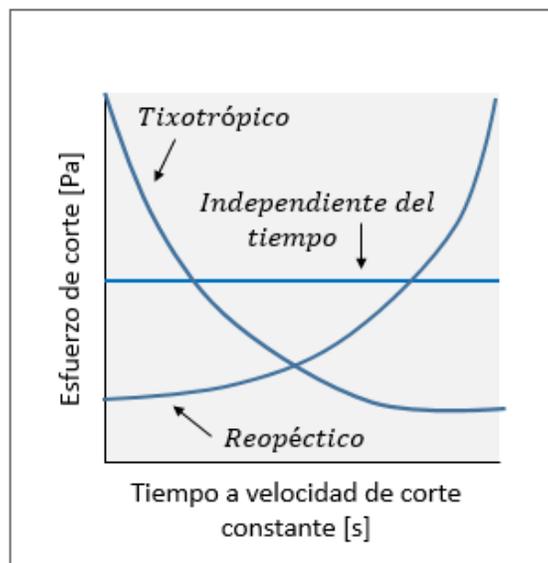


**Figura 1.7** Comportamiento de fluidos independientes del tiempo, con respecto al esfuerzo de corte (a) y viscosidad aparente (b) (Steffe, 1996)

En la Figura 1.7, se indica el comportamiento de los fluidos de Bingham y Herschel-Bulkley. Los cuales se caracterizan por tener un esfuerzo inicial ( $\tau_0$ ), el cual representa un esfuerzo finito requerido para comenzar a fluir. Dicho parámetro juega un papel muy importante en el diseño de procesos y aseguramiento de la calidad de materiales. La diferencia entre ellos recae en que la relación entre la velocidad de corte y el esfuerzo de corte es lineal para el fluido de Bingham (Bird *et al.*, 2002).

Los materiales que no requieren de tal esfuerzo inicial, se denominan como pseudoplástico y dilatante, con la diferencia de que el pseudoplástico tiene un decremento en su viscosidad conforme aumenta la velocidad de corte, y viceversa en el dilatante.

Por otro lado, dentro de los fluidos dependientes del tiempo se encuentran los reopécticos y tixotrópicos, cuyo comportamiento se ilustra en la Figura 1.8.

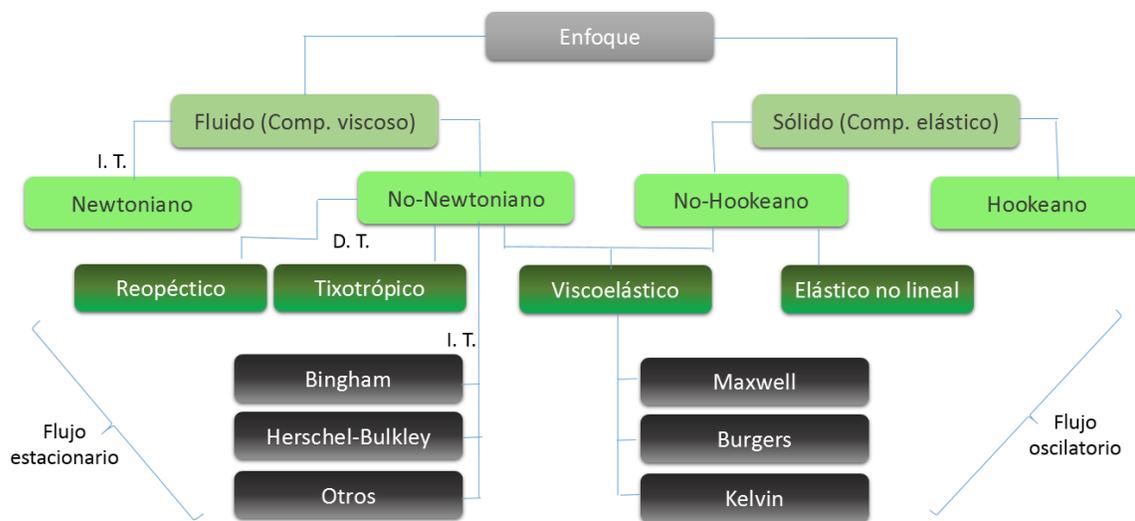


**Figura 1.8** Comportamiento de fluidos dependientes del tiempo (Steffe, 1996)

En la Figura 1.8, se observa el comportamiento de los fluidos tixotrópicos y reopécticos; los tixotrópicos muestran un decremento en el esfuerzo de corte y en la viscosidad aparente a través del tiempo, mientras que los reopécticos muestran incremento. Se puede decir que, la tixotropía se refiere al adelgazamiento y la reopexia al espesamiento, ambas dependientes del tiempo (Steffe, 1996).

De manera independiente, se encuentran los fluidos viscoelásticos, los cuales tienen características tanto de fluido como de sólido (Steffe, 1996; Bird *et al.*, 2002).

En la Figura 1.9 se indica de manera esquematizada la clasificación de los materiales anteriormente mencionados, en donde D.T. significa dependientes del tiempo e I.T. independientes del tiempo, así mismo, se indica la clasificación de los materiales denominados como sólidos.



**Figura 1.9** Clasificación de acuerdo a comportamiento reológico (Steffe, 1996)

#### 1.4.1.2 Sólidos

Un sólido ideal se deforma de manera instantánea cuando una fuerza es aplicada y regresa a su configuración original de la misma forma cuando ésta es removida. Los materiales elásticos ideales (Hookeanos) obedecen la ley de Hooke, donde el esfuerzo

$(\tau)$  es directamente proporcional a la deformación  $(\gamma)$ . Dicha proporcionalidad se indica por medio de una constante, llamada módulo  $(G)$ , como se indica en la ecuación (1.12).

$$\tau = G \gamma \quad (1.12)$$

Los sólidos en los cuales no se mantiene dicha proporcionalidad, son denominados no Hookeanos.

#### 1.4.1.3 Materiales viscoelásticos

Como se mencionó anteriormente, un material viscoelástico, es aquel que tiene comportamiento tanto elástico, como viscoso. A continuación, se nombran algunos parámetros que son de gran aplicabilidad para la interpretación del comportamiento de este tipo de materiales.

El módulo de pérdida  $(G'')$  representa la energía disipada durante la deformación, es decir, representa el carácter viscoso del material (Ec. 1.13).

$$G''(\omega) = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \sin \delta \quad (1.13)$$

El módulo de almacenamiento  $(G')$ , representa la energía almacenada durante la deformación, es decir, representa el carácter elástico del material (Ec. 1.14).

$$G'(\omega) = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \cos \delta \quad (1.14)$$

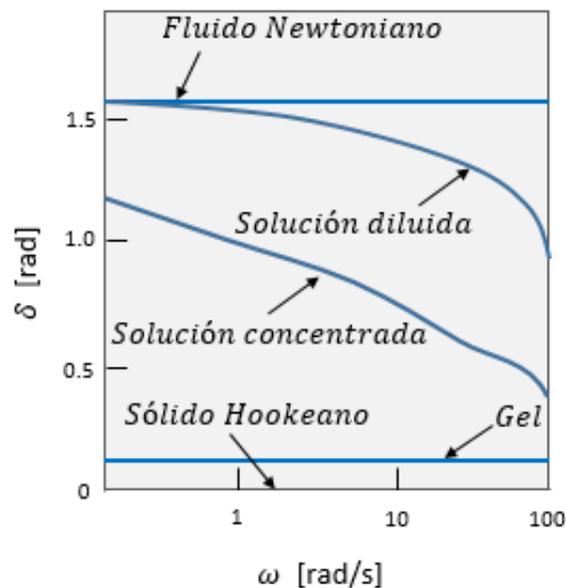
Aplicando la notación compleja, el módulo complejo  $(G^*)$  se define como se muestra en la ecuación (1.15).

$$G^* = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2} \quad (1.15)$$

Al cociente de ambos módulos, se le conoce como tangente de pérdida, propiedad viscoelástica comúnmente empleada (Ec. 1.16).

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} = \frac{1}{\omega \lambda_{rel}} \quad (1.16)$$

La tendencia en que un material exhiba un comportamiento más fluido o más elástico con respecto al incremento de la frecuencia, puede ser examinada considerando la dependencia de la frecuencia con respecto al ángulo de fase ( $\delta$ ). El máximo ángulo de fase que se puede presentar ( $\pi/2$ ) es para los fluidos Newtonianos, mientras que el mínimo (0) es para sólidos Hookeanos, como se indica en la Figura 1.10.



**Figura 1.10** Variación del ángulo de fase con respecto a la frecuencia (Steffe, 1996)

Las funciones de viscosidad más apropiadas para materiales de este tipo, son las mostradas en las ecuaciones (1.17) y (1.18).

$$\eta' = \frac{G''}{\omega} \quad (1.17)$$

$$\eta'' = \frac{G'}{\omega} \quad (1.18)$$

Aplicando la notación compleja, la viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) se define como se muestra a continuación:

$$\eta^* = \sqrt{(\eta')^2 + (\eta'')^2} \quad (1.19)$$

#### 1.4.2 Modelos reológicos

Existe una serie de ecuaciones, con las cuales es posible modelar el comportamiento de los materiales sometidos a pruebas reológicas, las cuales se denominan modelos reológicos. En la Tabla 1.1 se muestran únicamente los modelos reológicos para fluidos no Newtonianos, empleados en el presente trabajo de investigación (Steffe, 1996; Bird *et al.*, 2002).

**Tabla 1.1** Modelos reológicos para describir el comportamiento de fluidos no Newtonianos

Modelo	Ecuación
Ostwald-de Waele	$\tau = K \dot{\gamma}^n$
Herschel-Bulkley	$\tau = \tau_0 + K \dot{\gamma}^n$

Fuente: Steffe, (1996)

Donde  $\tau$  se refiere al esfuerzo de corte (Pa),  $\tau_0$  al esfuerzo de corte inicial,  $K$  al índice de consistencia (Pa s<sup>n</sup>),  $\dot{\gamma}$  a la velocidad de corte (s<sup>-1</sup>) y  $n$  al índice de comportamiento reológico (adimensional). La interpretación del valor de este último parámetro es de suma importancia para la determinación del comportamiento, donde  $n = 1$  indica un comportamiento Newtoniano, donde  $n < 1$  indica un comportamiento pseudoplástico y  $n > 1$  un comportamiento dilatante. De igual manera, cabe recalcar la presencia del parámetro  $\tau_0$  en el modelo de Herschel-Bulkley, marcando la diferencia con respecto al modelo de Ostwald-de Waele, indicando un valor de esfuerzo necesario para que dicho fluido comience a fluir (Steffe, 1996).

#### 1.4.3 Variación de la viscosidad con respecto a la temperatura

Normalmente, en los líquidos, la viscosidad disminuye conforme la temperatura aumenta. La ecuación de Arrhenius (1.20), permite evaluar la relación entre ambos parámetros, e indica que la viscosidad disminuye con el aumento de temperatura. Esto es, puesto que las fuerzas viscosas son superadas por la energía cinética conforme aumenta la temperatura (Steffe, 1996).

$$\eta_{ap} = \eta_0 e^{\frac{Ea}{RT}} \quad (1.20)$$

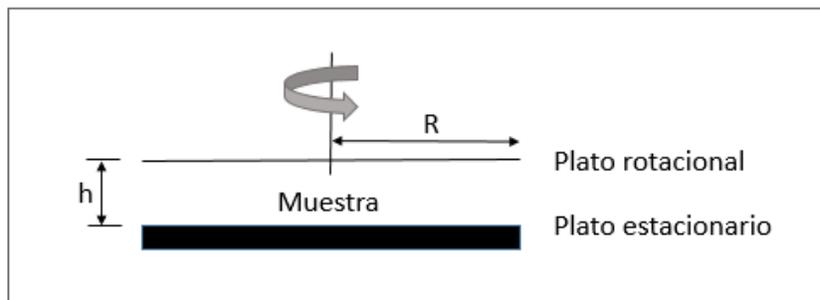
La energía de activación,  $Ea$ , es una medida del umbral de energía que se debe vencer para que el ordenamiento de moléculas en el fluido se modifique para fluir. Este parámetro se refiere a la cantidad de energía que debe absorber el fluido para que los empaquetamientos de moléculas muestren alineación.

#### 1.4.4 Reometría

Un reómetro es un instrumento que mide las propiedades reológicas de un material. Las mediciones en el reómetro se pueden realizar tanto en estado estacionario como

en dinámico; donde el estacionario se emplea para fluidos y el dinámico se emplea principalmente para sólidos y materiales viscoelásticos. La gráfica que muestra la relación de propiedades reológicas, se llama reograma.

Las configuraciones de geometrías más empleadas son plato-plato, cono-plato, cilindros concéntricos y agitadores, dependiendo de las características de la muestra a analizar. El estado estacionario se evalúa por medio de pruebas rotacionales, como se muestra en la Figura 1.11.



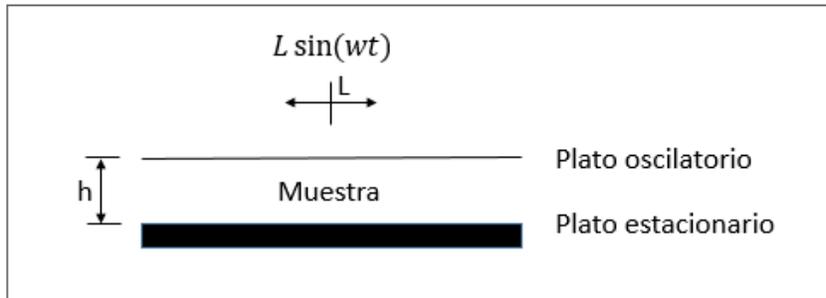
**Figura 1.11** Esfuerzo rotacional entre platos

Asimismo, las mediciones se llevan a cabo de acuerdo a los parámetros constantes y variables a considerar, que pueden ser de las cuatro maneras que se indican en la Tabla 1.2.

**Tabla 1.2** Esquemas de pruebas rotacionales

Parámetro	Barrido de velocidad	Rampa de temperatura	Rampa de tiempo
Velocidad de corte ( $\dot{\gamma}$ )	Variable	Constante	Constante
Temperatura ( $T$ )	Constante	Variable	Constante
Tiempo ( $t$ )	Constante	Constante	Variable

Por otro lado, el estado dinámico se evalúa por medio de pruebas oscilatorias, en donde las muestras están sujetas a esfuerzos armónicos (Figura 1.12).



**Figura 1.12** Esfuerzo oscilatorio entre platos (Steffe, 1996)

Es el método más común en el estudio del comportamiento de los materiales viscoelásticos. Los resultados obtenidos en este tipo de pruebas, son muy sensibles a la composición química y estructura física de las muestras. Asimismo, las mediciones se llevan a cabo de acuerdo a los parámetros constantes y variables a considerar, que pueden ser de las cuatro maneras que se indican en la Tabla 1.3.

**Tabla 1.3** Esquemas de pruebas oscilatorias

Parámetro	Barrido de amplitud	Barrido de frecuencia	Rampa de temperatura	Rampa de tiempo
Deformación o amplitud ( $\gamma$ )	Variable	Constante	Constante	Constante
Frecuencia ( $\omega$ )	Constante	Variable	Constante	Constante
Temperatura (T)	Constante	Constante	Variable	Constante
Tiempo (t)	Constante	Constante	Constante	Variable

Es importante recalcar que, al trabajar con pequeñas amplitudes (SAOS, por sus siglas en inglés) en el barrido de amplitud, se evalúa el comportamiento en el rango

viscoelástico lineal, en donde no existe una deformación a la estructura interna del material (Heldman *et al.*, 2007).

En cuanto a estudios reológicos se refieren, Mechetti *et al.* (2011) realizaron estudios de las características reológicas de muestras de melaza de caña de azúcar a las temperaturas de 20, 30, 40 y 50°C. En base a su comportamiento, concluyeron que la mayoría de los casos corresponden a un fluido pseudoplástico descrito adecuadamente por el modelo de Ostwald–de Waele. Los valores del índice de flujo menores que la unidad, confirmaron la pseudoplasticidad. A partir de la ecuación de Arrhenius determinaron la energía de activación. Investigaron las propiedades viscoelásticas, para lo cual se realizaron estudios dinámicos oscilatorios en barrido de esfuerzo de corte y en barrido de frecuencia. Del comportamiento de los parámetros viscoelásticos, concluyeron que las muestras presentan características viscoelásticas.

Astolfi-Filho *et al.* (2011) evaluaron el comportamiento reológico de melaza en un rango de temperaturas de 277K a 373K, empleando un viscosímetro con geometría cono-plato. Encontraron que el comportamiento pertenece a fluidos newtonianos, ajustándose adecuadamente al modelo de Newton. Emplearon la ecuación de Arrhenius para modelar exitosamente la dependencia de la viscosidad con la temperatura. También calcularon factores de fricción.

Velázquez (2010) estudió el efecto de la composición química de las vinazas en el comportamiento reológico de los residuos de producción de alcohol como biocombustible, de una industria mexicana y otra brasileña. Encontró que la vinaza mexicana se comporta de acuerdo al modelo de Herschel-Bulkley y Carreau, mientras que la brasileña presentó comportamiento reológico dilatante y sin cambio significativo por variación en la temperatura.

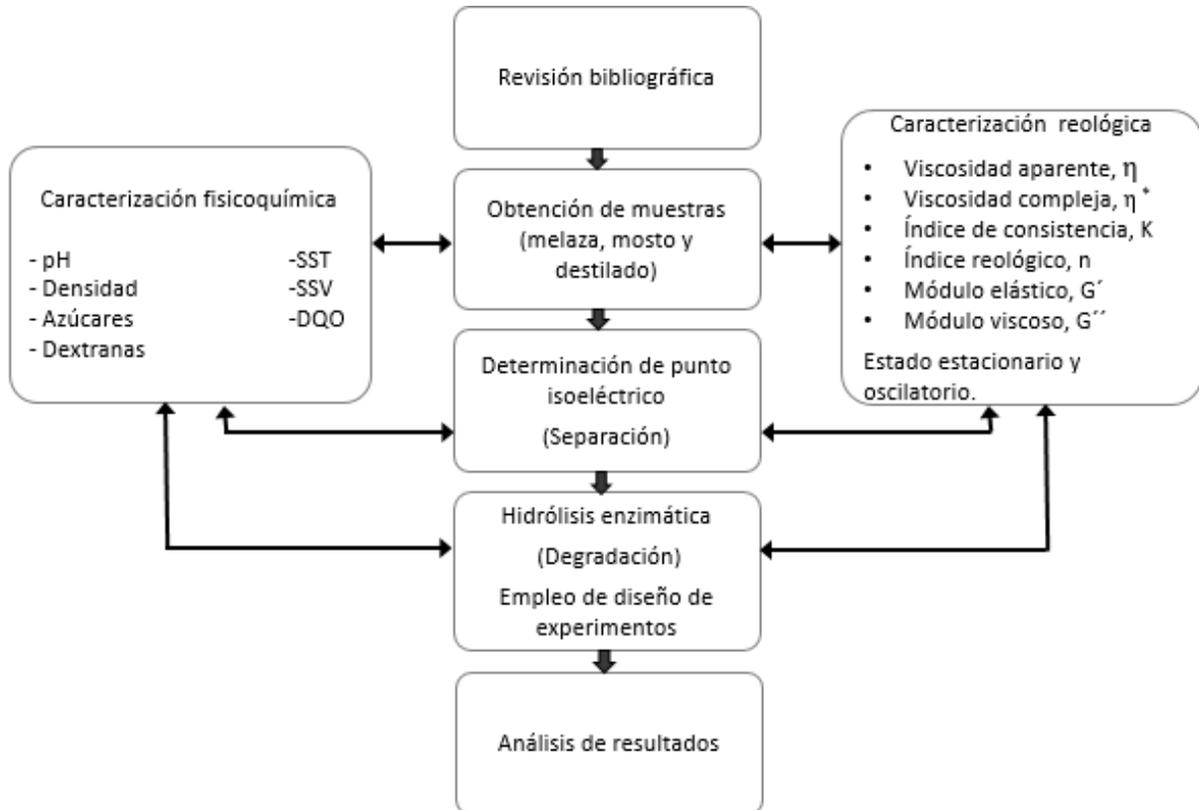
## **CAPÍTULO 2**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

## CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Metodología general

En la Figura 2.1 se presenta la metodología general que se siguió para el cumplimiento de los objetivos planteados.



**Figura 2.1** Diagrama de bloques de metodología para caracterización, separación y/o biodegradación de hidrocoloides

El primer paso del proyecto consistió en llevar a cabo una revisión bibliográfica relacionada con la temática planteada. Principalmente, la información se obtuvo de libros, así como de investigaciones dadas a conocer a través de trabajos de tesis y artículos publicados en revistas especializadas. Resulta imprescindible que la revisión

bibliográfica se realice de manera constante, y cada vez más específica, a lo largo del proyecto.

## **2.2 Obtención de muestras**

Se emplearon muestras donadas por una industria alcoholera de Orizaba, Veracruz, de nombre Alimentos Tenerife, empresa perteneciente a Grupo Báltico. Para definir las muestras representativas a emplear en el proyecto y recabarlas, fue necesario realizar visitas a la industria, las cuales se hicieron de manera constante y periódica a lo largo de la duración del programa. Se determinó que las muestras a someter a estudio serían melaza, mosto fresco, mosto muerto, material incrustado (el cual será llamado incrustación) en la columna mostera de destilación, y finalmente, destilado o bioetanol impuro; siendo un total de cinco muestras a analizar.

Es importante mencionar que, únicamente existió restricción de fecha para solicitar la muestra de la incrustación, debido a que fue necesario retirar la muestra del interior de la columna en los paros programados, los cuales normalmente son realizados con una frecuencia semestral. Para el resto de las muestras no existió restricción, ya que la empresa opera todo el año, sin importar la época de zafra, debido a que cuentan con reservas suficientes de melaza.

## **2.3 Caracterización fisicoquímica**

La caracterización de propiedades físicas y químicas de las cinco muestras fue llevada a cabo con la finalidad de obtener información fundamental sobre su composición química y sus propiedades físicas en los distintos puntos del proceso de producción de bioetanol. Para su realización, se siguieron principalmente técnicas establecidas por la Sociedad Mexicana de Normalización y Certificación S.C. (NORMEX), Standard Methods y Association of Analytical Communities (AOAC), las cuales se indican en la

Tabla 2.1. Para llevar a cabo las técnicas, se emplearon los equipos del propio Laboratorio de Procesos de Posgrado, contando además con apoyo del Laboratorio de Ambiental II de Posgrado para el préstamo de centrífuga, del Laboratorio de Alimentos de Posgrado para ejecutar el método de Kjeldahl, así como de un laboratorio externo para determinación por HPLC.

**Tabla 2.1** Técnicas, métodos y/o normas para caracterización fisicoquímica

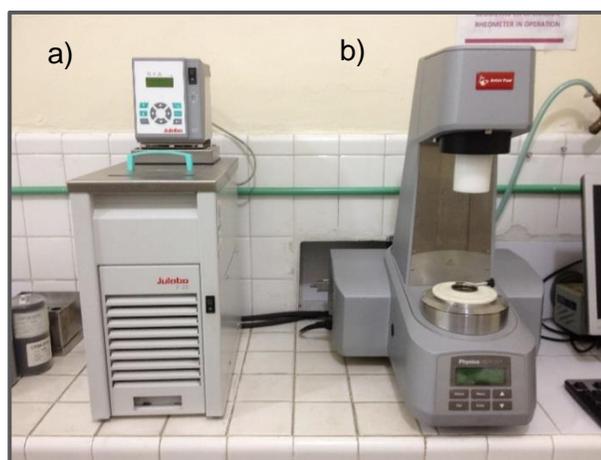
Parámetro	Técnica / Método
pH	Potenciometría
Densidad	Picnometría
Azúcares reductores	Método de Fehling
Dextranas	NMX-F-476-SCFI-2011. Método para la determinación de dextrana en azúcares y materiales azucarados. AOAC Official Method 988.12 Dextran in Raw Cane Sugar. Roberts Copper Method. HPLC
Humedad	Gravimetría
Viscosidad	Reometría
Proteínas	Método de Kjeldahl
SS <sub>T</sub>	2540 Solids. Standard Methods.
SS <sub>V</sub>	2540 Solids. Standard Methods.
DQO <sub>S</sub>	5220 D Chemical Oxygen Demand (COD). Standard Methods.
DQO <sub>T</sub>	5220 D Chemical Oxygen Demand (COD). Standard Methods.

Para realizar algunas determinaciones, se requirió hacer disoluciones de las muestras de melaza e incrustación, dado su estado físico e intensidad de color, siendo éstas de 1:80 y 1:40, respectivamente. Cada determinación se hizo con réplica.

## 2.4 Caracterización reológica

La caracterización de propiedades reológicas de las cinco muestras, fue llevada a cabo con la finalidad de obtener información fundamental sobre su comportamiento en los distintos puntos del proceso de producción de bioetanol.

Para llevar a cabo el análisis reológico, se empleó el reómetro Anton Paar modelo MCR 301, del cuerpo de equipos que conforman el Laboratorio de Procesos de Posgrado del Instituto Tecnológico de Orizaba; asimismo, se hizo uso del software Rheoplus/32 V2.81 instalado en la PC acoplada al sistema del reómetro y baño termostático Julabo F25. En la Figura 2.2 se muestran los equipos anteriormente mencionados.



**Figura 2.2** a) Baño termostático Julabo F25 b) Reómetro Anton Paar modelo MCR 301

Dicha caracterización, se realizó en régimen estacionario (rotacional) y en régimen dinámico (oscilatorio). Primeramente, fue necesario definir la geometría más apta para cada muestra, tal como se indica en la Tabla 2.2.

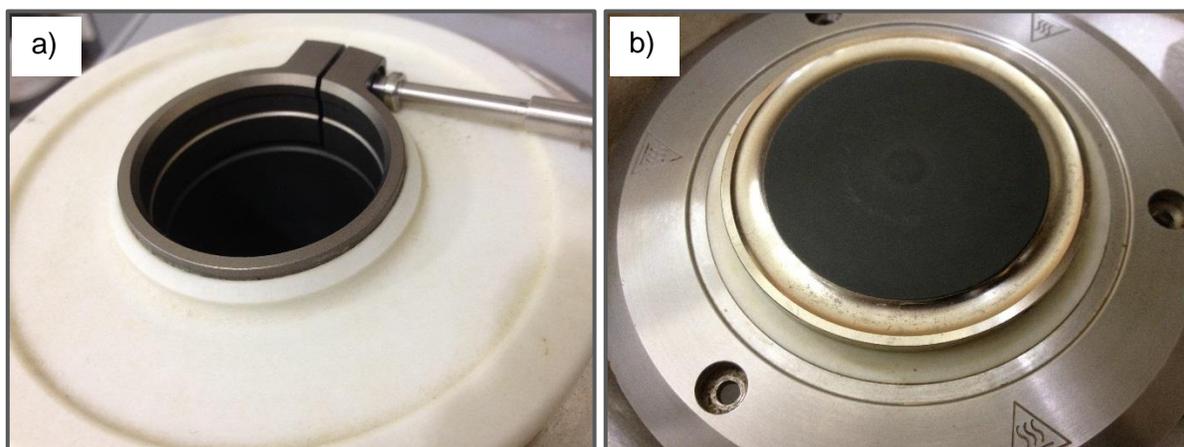
**Tabla 2.2** Sistemas de geometrías y Peltier empleados para caracterización reológica de cada muestra

Muestra	Geometría	Peltier
Melaza	Cono (CP50-2/TG-SN6659)	Plato (P-PTD200/TG-SN80091455)
Mosto fresco	Agitador (ST22-4V-40-SN10120)	Cuba (C-PTD200-SN80123149)
Mosto muerto	Agitador (ST22-4V-40-SN10120)	Cuba (C-PTD200-SN80123149)
Incrustación	Cono (CP25-2/TG-SN6614)	Plato (P-PTD200/TG-SN80091455)
Destilado impuro	Cilindro (CC27/T200/AL-SN9337)	Cuba (C-PTD200-SN80123149)

En la Figura 2.3 y Figura 2.4, se muestran las diferentes geometrías y sistemas Peltier, respectivamente, mencionados en la Tabla 2.2.



**Figura 2.3** Geometrías para caracterización reológica (de izquierda a derecha: agitador ST22-4V-40-SN10120, cono CP50-2/TG-SN6659, cono CP25-2/TG-SN6614 y cilindro CC27/T200/AL-SN9337)



**Figura 2.4** Sistemas Peltier para caracterización reológica (a) cuba C-PTD200-SN80123149 y b) plato P-PTD200/TG-SN80091455)

Posteriormente, se realizaron análisis reológicos en régimen estacionario (rotacional), según las condiciones reales de operación de cada muestra, en donde se fijaron los rangos de las variables de control ( $T$  y  $\dot{\gamma}$ ) y se definieron las variables de respuesta ( $\tau$  y  $\eta$ ). Con dichos análisis, fue posible describir el comportamiento observado a través de los diferentes modelos reológicos. Lo anterior, se muestra en la Tabla 2.3.

**Tabla 2.3** Análisis en régimen estacionario a temperatura constante para caracterización reológica

Muestra	Temperatura [°C]	Velocidad de corte [1/s]
Melaza	25 y 35	0-1000
Mosto fresco	25	0-1000
Mosto muerto	25 y 90	0-1000
Incrustación	25	0-1000
Destilado Impuro	25 y 90	0-1000

También, se hicieron análisis con rampa de temperatura, de modo que se asimilara al efecto del cambio en la temperatura en el proceso real. Dicha rampa se hizo de 20 °C a 90 °C y en estado estacionario, para el caso del mosto muerto.

En el estado dinámico, se realizaron barridos de amplitud y de frecuencia para la muestra de incrustación, como se indica en la Tabla 2.4.

**Tabla 2.4** Análisis en régimen dinámico a temperatura constante para caracterización reológica

Parámetro	Barrido de amplitud	Barrido de frecuencia
Temperatura [°C]	25	25
Amplitud [%]	0.1-1000	10
Frecuencia [1/s]	10	0.1-100

Todos los análisis fueron realizados con réplica y sometidos a análisis de regresión, para determinar el modelo más adecuado para describir su comportamiento.

## 2.5 Determinación de punto isoeléctrico

La determinación del punto isoeléctrico se hizo en primer lugar para soluciones estándar de dextrana (1% y 6%, ambas concentraciones expresadas en m/v), para que, una vez determinado en ellas, se procediera a las muestras de mosto fresco y mosto muerto, a través de la interpretación de la curva de titulación, manteniendo una agitación constante y variando el pH de la muestra por medio de ácido y base titulante (HCl 0.1N y NaOH 0.1N), de modo que se logre su precipitación.

Posteriormente, se midió el pH en el que ésta fue presentada y la cantidad gastada de ácido o base titulante. Una vez precipitado, se caracterizó el contenido de dextranas para corroborar o descartar su presencia en ambas partes.

## 2.6 Hidrólisis enzimática

Para degradar la dextrana presente en las muestras, se llevó a cabo una reacción de hidrólisis enzimática, en donde se empleó la endoenzima dextranasa comercial de

origen fungal (Dextranfree de la marca ENMEX), diluida en una relación de 1:5 con agua (dilución recomendada por el fabricante).

Se empleó un diseño factorial de tres factores con dos niveles ( $2^3$ ) completamente aleatorizado y con réplica, para mosto fresco y mosto muerto, en donde se evaluó el contenido de dextranas y viscosidad, siendo éstas las variables de respuesta.

En la Tabla 2.5 se muestran los factores y niveles considerados, manteniendo como constantes el tiempo de reacción (2 h) y la agitación (167 rpm).

**Tabla 2.5** Factores y niveles para diseño factorial de hidrólisis enzimática

Factor	Niveles del factor	
	Bajo (-1)	Alto (+1)
A: sustrato	MF	MM
B: [E-S]	1:10	1:100
C: T	25°C	40°C

Por otro lado, se realizaron las cinéticas enzimáticas de los mejores resultados en cuanto a mayor reducción de viscosidad y contenido de dextrana; esto, por un tiempo de 5 h.

## **CAPÍTULO 3**

# **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Caracterización fisicoquímica

Una vez que se obtuvieron las muestras provistas por Alimentos Tenerife, se procedió a caracterizar cada una de ellas en cuanto a sus características fisicoquímicas, tal y como se indica en la sección 2.3 Caracterización fisicoquímica, del Capítulo 2 del presente trabajo de tesis. En la Tabla 3.1, se muestran los resultados promedio obtenidos.

**Tabla 3.1** Resultados de caracterización fisicoquímica de muestras

Propiedad	Unidad	Melaza (M)	Mosto fresco (MF)	Mosto muerto (MM)	Incrustación (I)	Destilado (D)
pH	[-]	5.540	5.180	5.170	5.020	4.630
SS <sub>T</sub>	[g/L]	68.860	9.130	7.660	43.370	0.152
SS <sub>v</sub>	[g/L]	59.380	5.990	4.870	9.440	0.000
Humedad	[%]	2.850	76.600	91.390	39.940	NA
Viscosidad	[Pa s]	2.145	0.026	0.019	0.589	0.004
Densidad	[g/mL)	1.352	1.033	0.992	1.291	0.901
Proteínas	[%]	3.676	1.082	1.045	0.198	NA
Azúcares reductores	[g/L]	220.545	46.774	26.485	0.000	NA
DQO <sub>T</sub>	[g/L]	1133.148	114.720	114.320	485.758	NA
DQO <sub>s</sub>	[g/L]	885.055	101.030	107.390	137.421	NA
Dextrana	[ppm]	NA	491.650	352.785	235,523.224	NA

Es posible observar que el pH se mantiene constante conforme transcurre el proceso de producción de bioetanol, obteniendo el valor mínimo de 4.630 en el destilado, y el valor máximo de 5.540 en la melaza. Lo anterior concuerda con el valor de pH (5.5) donde se ha observado la máxima actividad de la enzima dextranasa (Mohanad *et al.*, 2013).

Los sólidos suspendidos totales ( $SS_T$ ), comienzan con una concentración alta de 68.860 g/L en la melaza y se reduce a 0.152 g/L en el destilado. Se infiere que como es destilado impuro, puesto que es el proveniente de la primera columna de destilación, quedan todavía sólidos solubilizados, por lo que requiere la posterior etapa de rectificación. La muestra de incrustación presentó niveles altos de concentración de 43.370 g/L, de lo cual se infiere que, con cada lote de destilación, los sólidos se depositan e incrustan en la pared interna de la columna. Por otro lado, la concentración de  $SS_T$  disminuye conforme se lleva a cabo la producción de alcohol, pasando de un valor de 9.130 g/L en el mosto fresco a un valor de 7.660 g/L en el mosto muerto.

Los sólidos suspendidos volátiles ( $SS_v$ ), comienzan con una concentración alta de 59.380 g/L en la melaza y se reduce a cantidades nulas en el destilado, debido a que han sido completamente volatilizados en la primera columna de destilación.

Se observó humedad alta tanto en el mosto fresco (76.60%) como en el mosto muerto (91.39%). Tales resultados concuerdan con el hecho de que los mostos son preparados a base de diluciones para llevarse a cabo la fermentación.

La viscosidad comienza con un valor alto de 2.145 Pa s en la melaza y se reduce al valor mínimo de 0.004 Pa s en el destilado. La muestra de incrustación presentó una viscosidad de 0.589 Pa s. En la Sección 3.2, se discute con mayor profundidad este parámetro a través de Reología.

Las muestras que resultaron tener una mayor densidad fueron la melaza con un valor de 1.352 g/mL y la incrustación con 1.291 g/mL.

El contenido de proteínas resultó bajo, siendo menor a 3.676%, siendo este último el valor presentado en la muestra de melaza.

La muestra de melaza fue la que presentó una alta concentración de azúcares reductores, siendo ésta de 220.545 g/L, la cual va disminuyendo conforme dicha muestra se convierte en mosto fresco y posteriormente mosto muerto. Dicha reducción está dada por el proceso de fermentación de azúcares, en este caso de glucosa y fructosa, aunque el principal azúcar fermentado en el proceso es sacarosa.

Se observaron altas cargas de Demanda Química de Oxígeno, tanto total como soluble (DQO<sub>T</sub> y DQO<sub>S</sub>), obteniéndose los valores más altos en las muestras de melaza, 1133.148 g/L y 885.055 g/L, respectivamente, lo cual refleja el nivel importante de materia orgánica contenida en dicho subproducto de la industria azucarera.

Por último, se determinó el contenido de dextranas en las muestras de interés, en donde el resultado obtenido de la muestra de incrustación fue de 235,523.224 ppm (23.5%) considerándose una concentración alta con respecto a mosto fresco y mosto muerto, con resultados de 491.650 ppm y 352.785 ppm, respectivamente. Se concluye que la concentración de dextrana presente en el mosto fresco (0.049<0.3%) no impacta directamente en la capacidad de llevarse a cabo el proceso de fermentación (Widayati y Murdiyatmo, 1994).

Se concluye que la alta concentración de dextranas en la muestra de incrustación, se debe a que dichos compuestos se van concentrando en el interior de la columna conforme se destila el flujo de mosto muerto que ingresa, siendo algunos causantes de tal fenómeno su influencia sobre la viscosidad, su afinidad química hacia el material de construcción (acero inoxidable T-304) y su alto peso molecular (Kaur y Kaler, 2008).

### **3.2 Caracterización reológica**

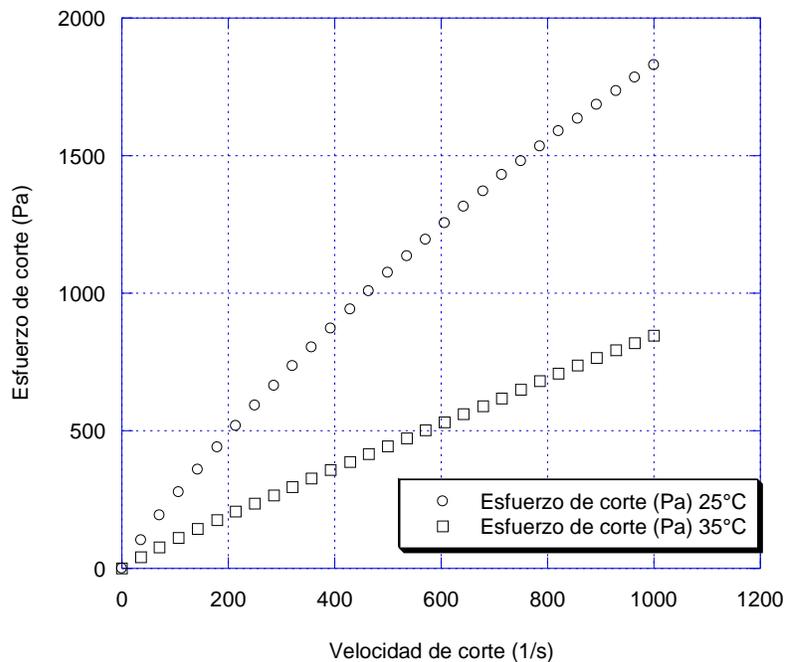
Las cinco muestras fueron sometidas a diversas pruebas, de acuerdo a lo indicado en la sección 2.4. Los datos obtenidos, fueron empleados para generar reogramas

representativos de su comportamiento, calcular parámetros de interés, así como para ajustar diferentes modelos.

### 3.2.1 Caracterización reológica de melaza

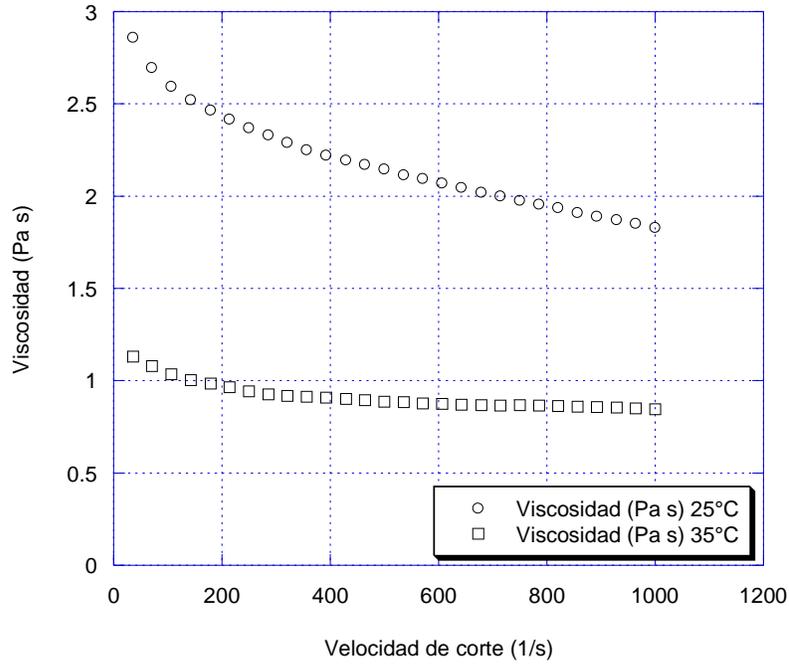
La melaza fue sometida a pruebas en estado estacionario, a 25°C y 35°C, representando sus condiciones reales de almacenamiento y operación en el proceso.

En la Figura 3.1 se observa el reograma que muestra la relación entre velocidad de corte contra el esfuerzo de corte, mientras que en la Figura 3.2 se muestra el reograma que indica el cambio de viscosidad con respecto a la velocidad de corte.



**Figura 3.1** Reograma de velocidad de corte contra esfuerzo de corte de muestras de melaza a 25°C y 35°C

De la Figura 3.1, es posible observar que a 35°C la melaza tiene comportamiento Newtoniano (Ec. 1.11), donde  $\eta$  representa una constante de proporcionalidad entre el esfuerzo de corte aplicado sobre el fluido y su correspondiente velocidad de corte.



**Figura 3.2** Reograma de velocidad de corte contra viscosidad de muestras de melaza a 25°C y 35°C

A 25°C se observa un comportamiento pseudoplástico ( $n < 1$ ), ajustándose al modelo de Ostwald-de Waele (Tabla 1.1). Los parámetros representativos de ambos casos son presentados en la Tabla 3.2 y Tabla 3.3, respectivamente, mientras que los modelos experimentales se indican en las ecuaciones (3.1) y (3.2).

**Tabla 3.2** Parámetros de modelo reológico experimental de Ostwald-de Waele para melaza a 25°C

<i>Modelo</i>	<i>K [Pa s<sup>n</sup>]</i>	<i>n [-]</i>	<i>R<sup>2</sup></i>
Ostwald-de Waele	4.999	0.863	0.997

$$\tau = 4.999 \dot{\gamma}^{0.863} \quad (3.1)$$

Los resultados obtenidos para la muestra de melaza a 25°C, concuerdan con aquellos reportados en la literatura, en donde concluyen un comportamiento pseudoplástico para muestras de melaza de caña de azúcar a 20°C, ajustándose igualmente al modelo de Ostwald-de Waele (Mechetti *et al.*, 2011).

El parámetro  $\eta$ , así como el coeficiente de determinación del ajuste del modelo se indican en la Tabla 3.2. Es importante recalcar que la muestra alcanza una viscosidad constante de 0.850 Pa s a partir de 500 1/s, tal y como se muestra en la Figura 3.2.

**Tabla 3.3** Parámetros de modelo reológico experimental de Newton para melaza a 35°C

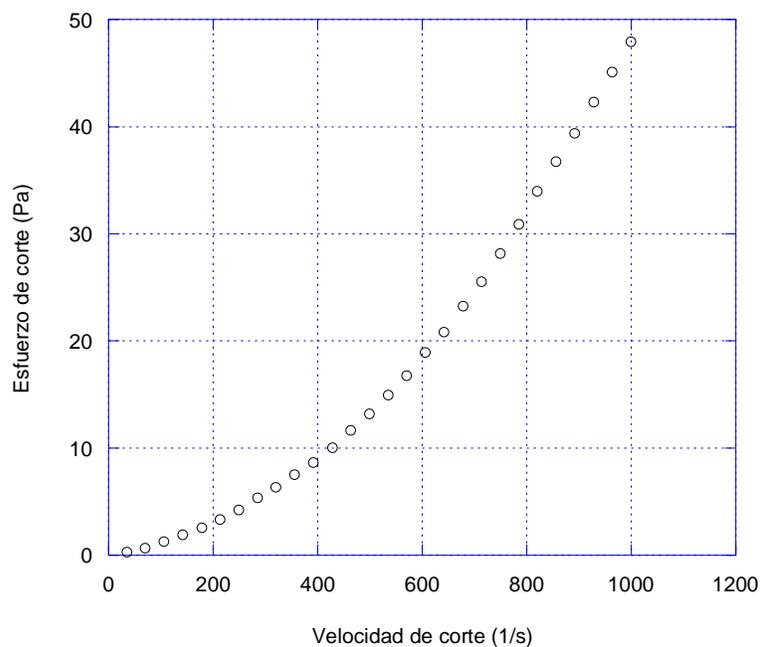
<i>Modelo</i>	$\eta$ [Pa s]	$R^2$
Newton	0.878	0.986

$$\tau = 0.878 \dot{\gamma} \quad (3.2)$$

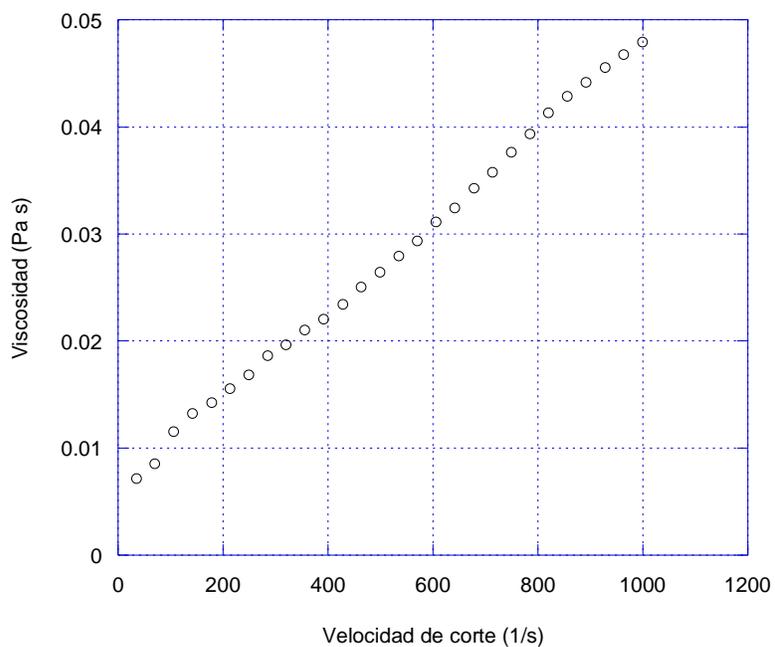
La pseudoplasticidad observada a 25°C, decrementa conforme aumenta la temperatura, tendiendo a presentarse un comportamiento Newtoniano (Kaur y Kaler, 2008); de igual manera, los resultados obtenidos a 35°C, concuerdan con aquellos reportados en la literatura, en donde concluyen un comportamiento Newtoniano para muestras de jugos de caña a 32°C (Astolfi-Filho *et al.* 2011).

### 3.2.2 Caracterización reológica de mosto fresco

El mosto fresco fue sometido a pruebas en estado estacionario a 25°C. En la Figura 3.3 se observa el reograma que muestra la relación entre velocidad de corte contra el esfuerzo de corte, mientras que en la Figura 3.4 se observa el reograma que indica el cambio de viscosidad con respecto a la velocidad de corte.



**Figura 3.3** Reograma de velocidad de corte contra esfuerzo de corte de muestras de mosto fresco a 25°C



**Figura 3.4** Reograma de velocidad de corte contra viscosidad de muestras de mosto fresco a 25°C

De la Figura 3.3, es posible observar que a 25°C el mosto fresco tiene comportamiento de fluido dilatante ( $n > 1$ ), incrementando su viscosidad conforme aumenta la velocidad de corte, tal y como se muestra en la Figura 3.4.

Su comportamiento se ajustó al modelo de Herschel-Bulkley (Tabla 1.1), con los parámetros y coeficiente de determinación que se muestran en la Tabla 3.4, mientras que el modelo experimental se indica en la ecuación (3.3).

**Tabla 3.4** Parámetros de modelo reológico experimental de Herschel-Bulkley para mosto fresco a 25°C

<i>Modelo</i>	$\tau_{HB}$ [Pa]	$K_{HB}$ [Pa s <sup><i>n</i></sup> ]	<i>n</i> [-]	$R^2$
Herschel-Bulkley	0.117	$3.118 \times 10^{-4}$	1.719	0.995

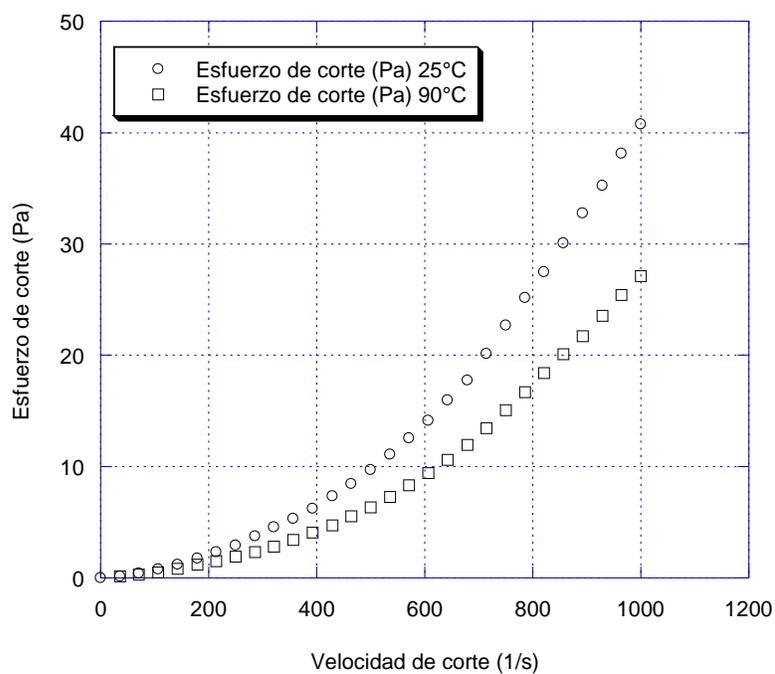
$$\tau = 0.117 + 3.118 \times 10^{-4} \dot{\gamma}^{1.719} \quad (3.3)$$

### 3.2.3 Caracterización reológica de mosto muerto

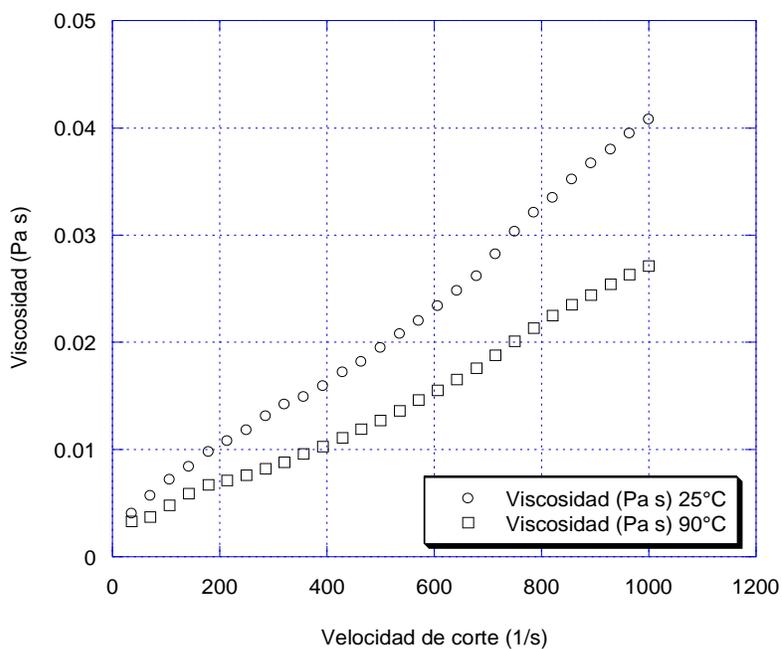
El mosto muerto fue sometido a pruebas en estado estacionario, a 25°C y 90°C, representando sus condiciones reales de operación en el proceso de producción.

En la Figura 3.5 se observa el reograma que muestra la relación entre velocidad de corte contra el esfuerzo de corte, mientras que en la Figura 3.6 se observa el reograma que indica el cambio de viscosidad con respecto a la velocidad de corte.

De la Figura 3.5, es posible observar que a ambas temperaturas el mosto muerto presenta comportamiento de fluido dilatante ( $n > 1$ ), incrementando su viscosidad conforme aumenta la velocidad de corte, tal y como se muestra en la Figura 3.6.



**Figura 3.5** Reograma de velocidad de corte contra esfuerzo de corte de muestras de mosto muerto a 25°C y 90°C



**Figura 3.6** Reograma de velocidad de corte contra viscosidad de muestras de mosto muerto a 25°C y 90°C

Dicho comportamiento dilatante se ajustó al modelo de Herschel-Bulkley (Tabla 1.1) con los parámetros y coeficientes de determinación que se muestran en la Tabla 3.5, mientras que los modelos experimentales se indican en las ecuaciones (3.4) y (3.5).

**Tabla 3.5** Parámetros de modelo reológico experimental de Herschel-Bulkley para mosto muerto

$T [^{\circ}C]$	$\tau_0 [Pa]$	$K [Pa s^n]$	$n [-]$	$R^2$
25	0.072	$1.326 \times 10^{-4}$	1.815	0.986
90	0.072	$5.633 \times 10^{-5}$	1.882	0.990

$$\tau = 0.072 + 1.326 \times 10^{-4} \dot{\gamma}^{1.815} \quad (3.4)$$

$$\tau = 0.072 + 5.633 \times 10^{-5} \dot{\gamma}^{1.882} \quad (3.5)$$

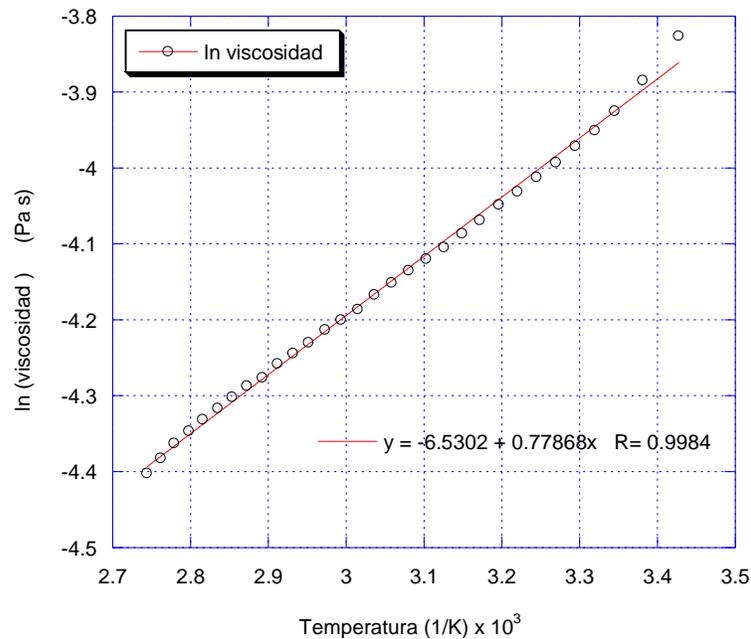
Es importante hacer notar que a ambas temperaturas se requiere el mismo esfuerzo de corte inicial para que el mosto muerto comience a fluir, sin embargo, se observa que a 25°C presenta una viscosidad mayor (Figura 3.6), la cual disminuye a 90°C; marcando esto la diferencia entre ambos modelos experimentales.

Cabe destacar las diferencias reológicas observadas entre ambos mostos, esto es, antes y después de la fermentación. La viscosidad del mosto a 25°C disminuyó al llevarse a cabo este proceso, empezando el mosto fresco con un valor de 0.026 Pa s y terminando el mosto muerto con un valor de 0.019 Pa s (Tabla 3.1). De igual manera, se observa un decremento en el valor de  $\tau_0$ , pasando de un valor de 0.117 Pa (Ec. 3.3) en el mosto fresco a un valor de 0.072 Pa (Ec. 3.4) en el mosto muerto,

requiriéndose después de la fermentación un menor esfuerzo de corte inicial para que el mosto comience a fluir.

### 3.2.3.2 Efecto de temperatura

El mosto muerto es la materia prima que entra a la etapa de destilación, comenzando por la columna mostera; por lo tanto, para conocer su comportamiento dentro de ella, es de suma importancia tomar en cuenta la influencia que tiene la variación de temperatura sobre la viscosidad, lo cual se ilustra en la Figura 3.7.



**Figura 3.7** Reograma de temperatura contra viscosidad, con ajuste a la ecuación linealizada de Arrhenius

En la Figura 3.7, se observa la ecuación lineal (3.6) que se ajustó a los valores del análisis.

$$y = 778.664x10^{-3} x - 6.530 \quad (3.6)$$

De la ecuación (3.6) es posible determinar los parámetros mostrados en la Tabla 3.6, los cuales se ven indicados posteriormente en la ecuación (3.7) de Arrhenius.

**Tabla 3.6** Parámetros experimentales de ecuación de Arrhenius para mosto muerto

$\ln(\eta)$ [Pa s]	$\eta_0$ [Pa s]	$\frac{Ea}{R}$ [K]	$R$ [ $\frac{cal}{gmol K}$ ]	$Ea$ [ $\frac{cal}{gmol}$ ]	$R^2$
-6.530	0.022	778.664	1.987	1547.361	0.998

$$\eta_{ap} = 0.022[\text{Pa s}] e^{\frac{1547.361[\frac{cal}{gmol}]}{RT}} \quad (3.7)$$

El valor calculado de energía de activación fue de 1547.361 cal/g mol. Entre más alto es el valor de la energía de activación, mayor es el efecto de la temperatura, en este caso, sobre la viscosidad (Astolfi-Filho *et al.*, 2011).

La viscosidad de un fluido está en función de las fuerzas intermoleculares que restringen el movimiento molecular. A mayor temperatura, la energía térmica de las moléculas aumenta con el incremento del espacio intermolecular, causando reducción de dichas fuerzas intermoleculares y la interacción entre partículas, provocando así, reducción de la viscosidad (Hasan y Nurhan, 2004).

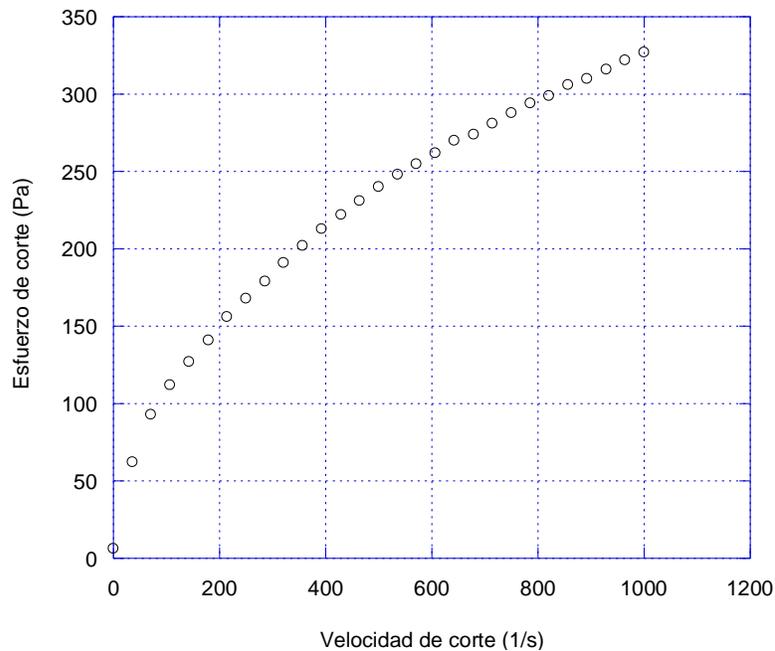
### 3.2.4 Caracterización reológica de incrustación

#### 3.2.4.1 Estado estacionario o rotacional

El material incrustado en la columna mostera de destilación fue sometido a pruebas en estado estacionario a 25°C. En la Figura 3.8 se observa el reograma que muestra la relación entre velocidad de corte contra el esfuerzo de corte, mientras que en la

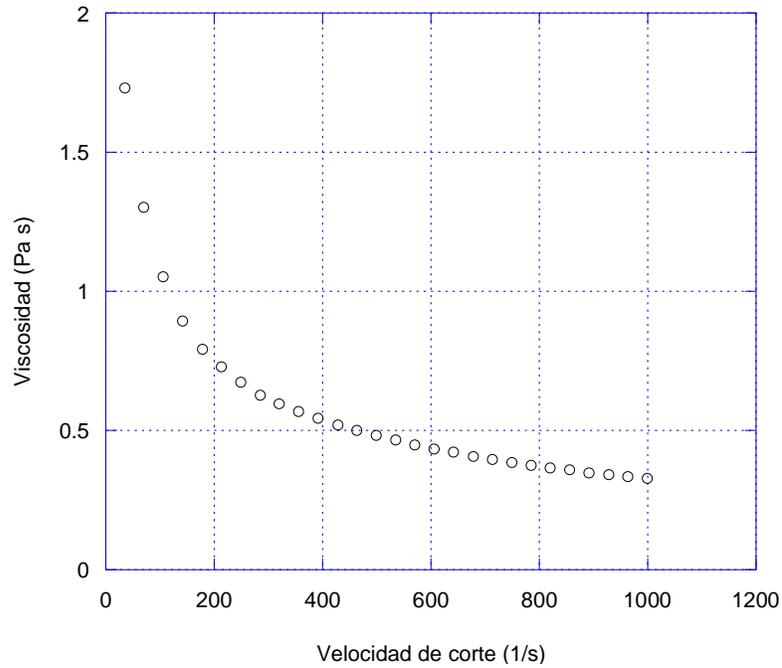
Figura 3.9 se observa el reograma que indica el cambio de viscosidad con respecto a la velocidad de corte.

De la Figura 3.8, es posible observar que, a dichas condiciones, el material de incrustación presenta comportamiento de fluido pseudoplástico ( $n < 1$ ), decrentando su viscosidad conforme aumenta la velocidad de corte, tal y como se muestra en la Figura 3.9.



**Figura 3.8** Reograma de velocidad de corte contra esfuerzo de corte de muestras de incrustación a 25°C

Dicho comportamiento se ajustó al modelo de Herschel-Bulkley (Tabla 1.1) con los parámetros y coeficiente de determinación que se muestran en la Tabla 3.7, mientras que el modelo experimental se indica en la ecuación (3.8).



**Figura 3.9** Reograma de velocidad de corte contra viscosidad de muestras de incrustación a 25°C

**Tabla 3.7** Parámetros del modelo experimental de Herschel-Bulkley para incrustación a 25°C

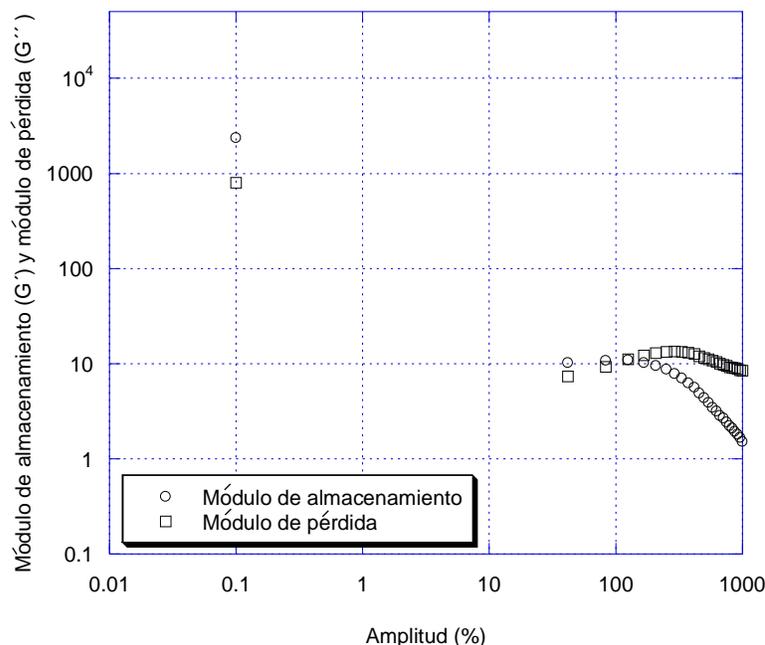
<i>Modelo</i>	$\tau_{HB}$ [Pa]	$K_{HB}$ [Pa s <sup>n</sup> ]	<i>n</i> [-]	$R^2$
Herschel-Bulkley	3.022	27.591	0.377	0.938

$$\tau = 3.022 + 27.591 \dot{\gamma}^{0.377} \quad (3.8)$$

Dado su comportamiento pseudoplástico, se procedió a evaluar la muestra en el régimen oscilatorio, para entonces determinar otros parámetros viscoelásticos de interés.

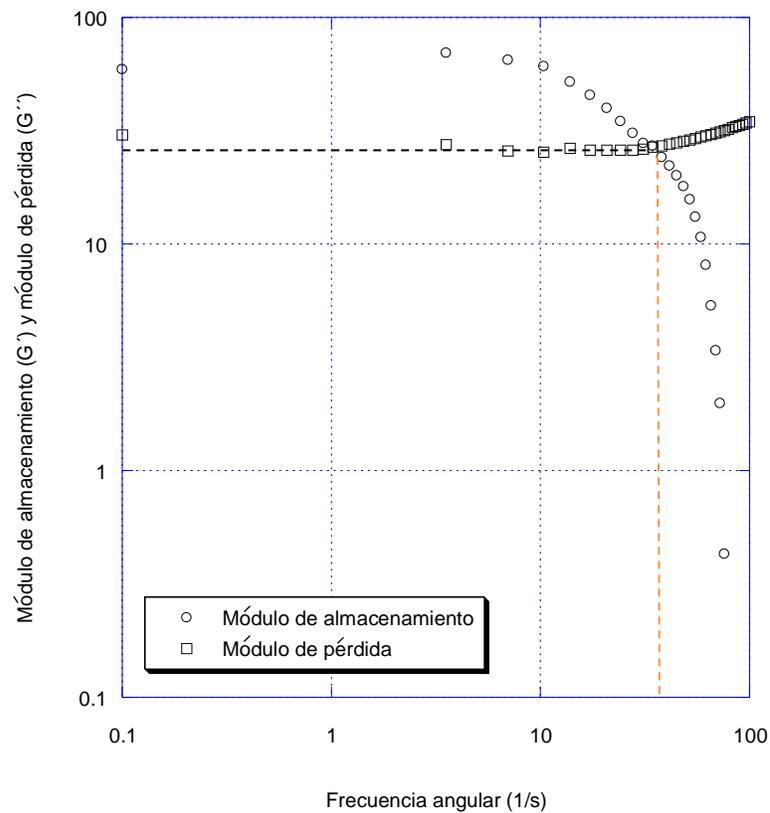
### 3.2.4.2 Estado dinámico u oscilatorio

La muestra de incrustación fue sometida a pruebas oscilatorias, tanto de barrido de amplitud como de frecuencia angular, cuyos resultados se muestran en la Figura 3.10 y Figura 3.11, respectivamente.



**Figura 3.10** Reograma de amplitud contra módulo de almacenamiento y módulo de pérdida para incrustación a 25°C

De la Figura 3.10, es posible concluir que no se presentó linealidad a partir de la amplitud de 0.1%, debido a que no se observa ningún rango lineal, significando que la muestra sufrió deformaciones en su estructura interna a lo largo de la prueba. Por otro lado, de la Figura 3.11 se concluye que el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) resultó mayor que el módulo de pérdida ( $G''$ ) antes de la intersección, significando esto un comportamiento elástico a pequeñas frecuencias y un comportamiento viscoso a mayores frecuencias. Este comportamiento refleja la alta presencia de interacciones intermoleculares.



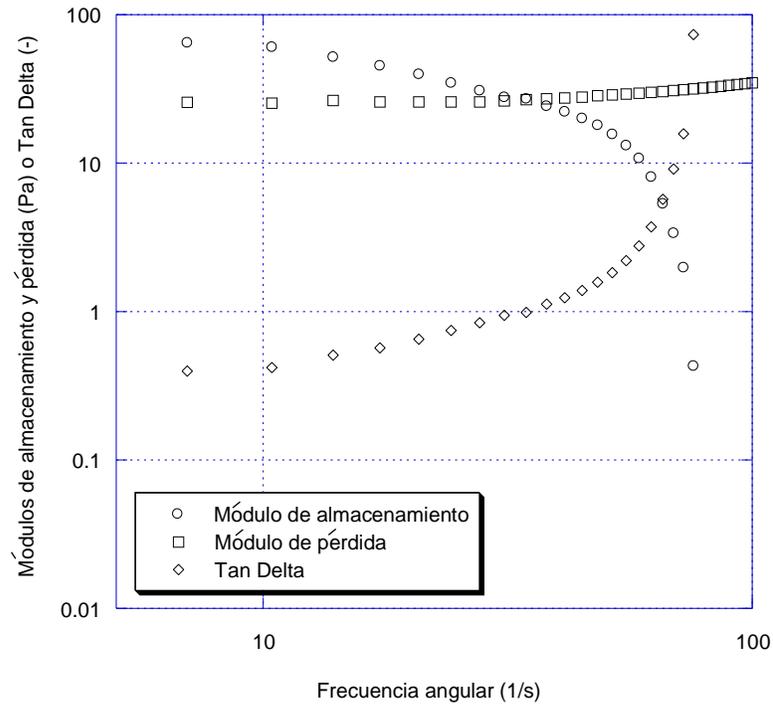
**Figura 3.11** Reograma de frecuencia angular contra módulo de almacenamiento y módulo de pérdida para incrustación a 25°C

Es de suma importancia destacar el punto de cruce de ambos módulos, el llamado punto de cedencia donde  $G' = G''$ , en la prueba de barrido de frecuencia angular (Figura 3.11). Ambos módulos intersectan en un valor de 26.925 Pa, arrojando un valor del punto de cedencia de 38 1/s. Lo anterior, se indica con una línea punteada horizontal y vertical, respectivamente, en la Figura 3.11. Del mismo punto, es posible calcular el tiempo de relajación de Giesekus, por medio de la inversa ( $1/\lambda_1$ ), obteniendo un valor de 0.026 s (Rogers y Lettinga, 2012).

Se infiere que el comportamiento viscoelástico se presenta debido al contenido de dextrana en la incrustación, que es de 235,523.224 ppm, además del alto contenido de sólidos ( $SS_T$ ) de 43.370 g/L, como se muestra en la Tabla 3.1. Dicha conclusión concuerda con lo reportado en la literatura, en donde la viscoelasticidad se ve afectada por la concentración de sólidos para el caso de lodos de aguas residuales (Liu *et al.*,

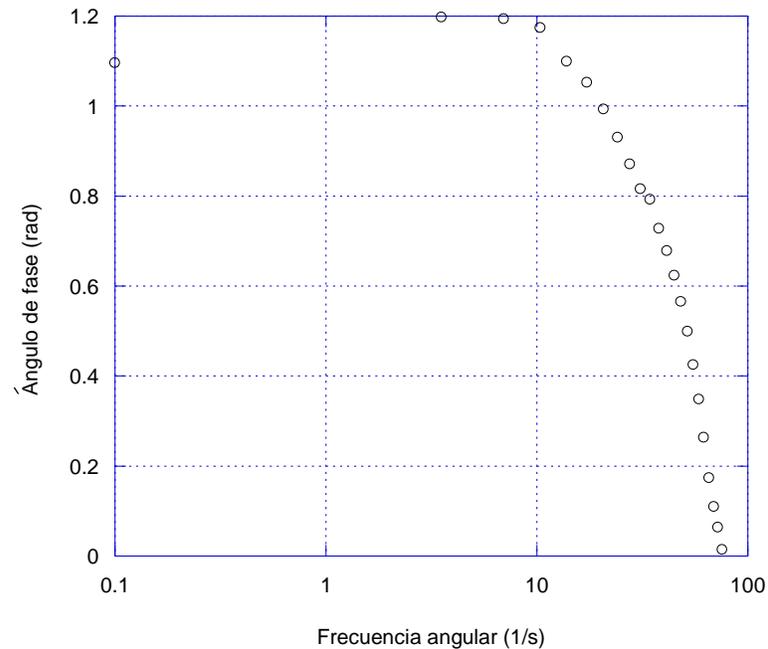
2016). Las características de adhesividad de la dextrana, su afinidad química hacia el material de construcción, su alto peso molecular y contenido, constituyen las causas principales de la formación del material incrustado, generando problemas dentro del proceso; tal y como se reporta en la literatura (Kaur y Kaler, 2008).

En la Figura 3.12 se muestra la relación de los módulos de almacenamiento y de pérdida con respecto a la tangente de su cociente ( $\delta$ ).



**Figura 3.12** Reograma de frecuencia angular contra módulo de almacenamiento, módulo de pérdida y tangente de ángulo de fase

El decremento en la tangente del ángulo de fase indica la transición hacia un comportamiento mayormente elástico (Steffe, 1996); por lo que, de la Figura 3.12 se concluye que la muestra de incrustación a 25°C va adquiriendo un comportamiento mayormente viscoso, ya que la tangente del ángulo de fase aumenta conforme se incrementa la frecuencia angular. De igual manera, se observa que, en el punto de cruce de ambos módulos, el valor de la tangente del ángulo de fase es exactamente igual a 1, corroborando así la igualdad planteada por la ecuación (1.16).



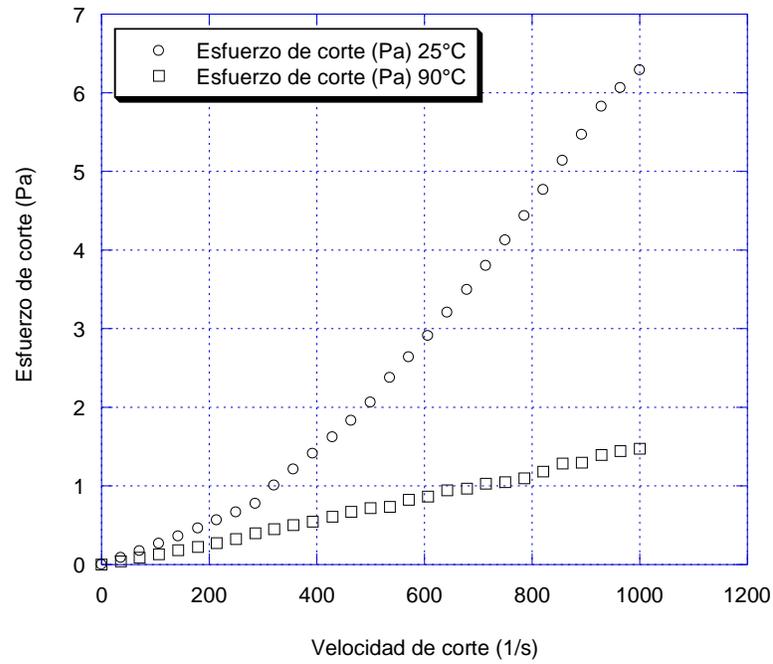
**Figura 3.13** Reograma de frecuencia angular contra ángulo de fase

Por otro lado, es posible concluir a partir de la Figura 3.13, que la muestra analizada se comporta como una solución diluida (Steffe, 1996), conforme lo indicado en la Figura 1.10 del Capítulo 1, mostrando valores altos de  $\delta$  a bajas frecuencias (fluido) y valores bajos de  $\delta$  a frecuencias altas (sólido).

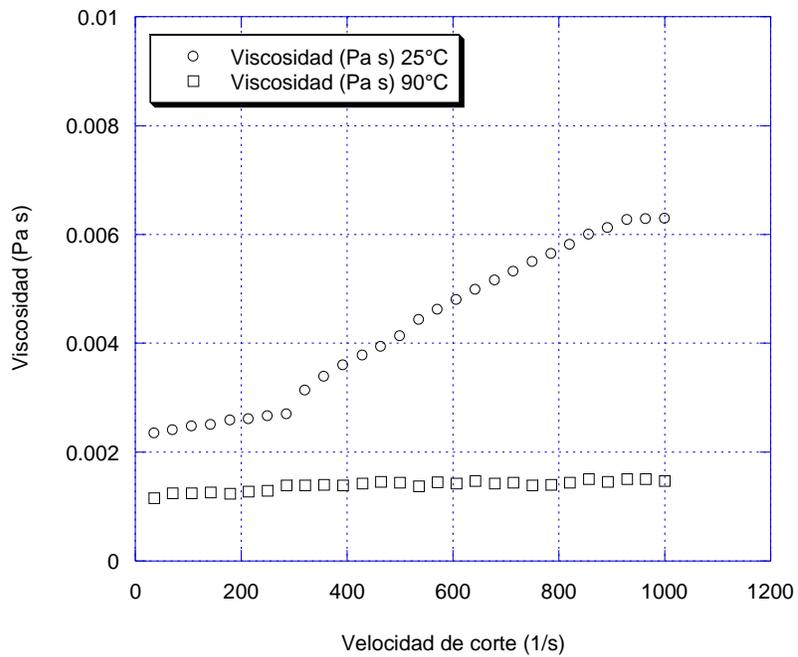
### 3.2.5 Caracterización reológica de destilado impuro

El destilado fue sometido a pruebas en estado estacionario, a 25°C y 90°C. En la Figura 3.14 se observa el reograma que muestra la relación entre velocidad de corte contra el esfuerzo de corte, mientras que en la Figura 3.15 se observa el reograma que indica el cambio de viscosidad con respecto a la velocidad de corte.

De la Figura 3.14, se observa que a 25°C el destilado presenta un comportamiento dilatante ( $n > 1$ ), ajustándose al modelo de Herschel-Bulkley (Tabla 1.1), cuyos parámetros y coeficiente de determinación se indican en la Tabla 3.8 y ecuación (3.9).



**Figura 3.14** Reograma de velocidad de corte contra esfuerzo de corte de muestras de destilado a 25°C y 90°C



**Figura 3.15** Reograma de velocidad de corte contra viscosidad de muestras de destilado a 25°C y 90°C

Por otro lado, es posible observar que a 90°C el destilado presenta comportamiento Newtoniano (Ec. 1.11), alcanzando una viscosidad constante de  $1.4 \times 10^{-3}$  Pa s a partir de 500 1/s, tal y como se muestra en la Figura 3.15, y cuyos parámetros experimentales y coeficiente de determinación se indican en la Tabla 3.9 y ecuación (3.10).

Se observa claramente, que el comportamiento reológico del destilado se ve afectado por el efecto de la temperatura; conforme aumenta la temperatura, la muestra tiene a comportarse como fluido Newtoniano y disminuye su viscosidad.

**Tabla 3.8** Parámetros del modelo experimental de Herschel-Bulkley para destilado a 25°C

<i>Modelo</i>	$\tau_{HB}$ [Pa]	$K_{HB}$ [Pa s <sup><i>n</i></sup> ]	<i>n</i> [-]	$R^2$
Herschel-Bulkley	0.116	$3.916 \times 10^{-5}$	1.741	0.999

$$\tau = 0.116 + 3.916 \times 10^{-5} \dot{\gamma}^{1.741} \quad (3.9)$$

**Tabla 3.9** Parámetros del modelo experimental de Newton para destilado a 90°C

<i>Modelo</i>	$\eta$ [Pa s]	$R^2$
Newton	$1.4 \times 10^{-3}$	0.961

$$\tau = 1.4 \times 10^{-3} \dot{\gamma} \quad (3.10)$$

### 3.3 Determinación de punto isoeléctrico

En las Figuras 3.16 y 3.17 se muestran las curvas de titulación de la solución de dextrana a 1% y 6% m/v, en medio básico y ácido, respectivamente.

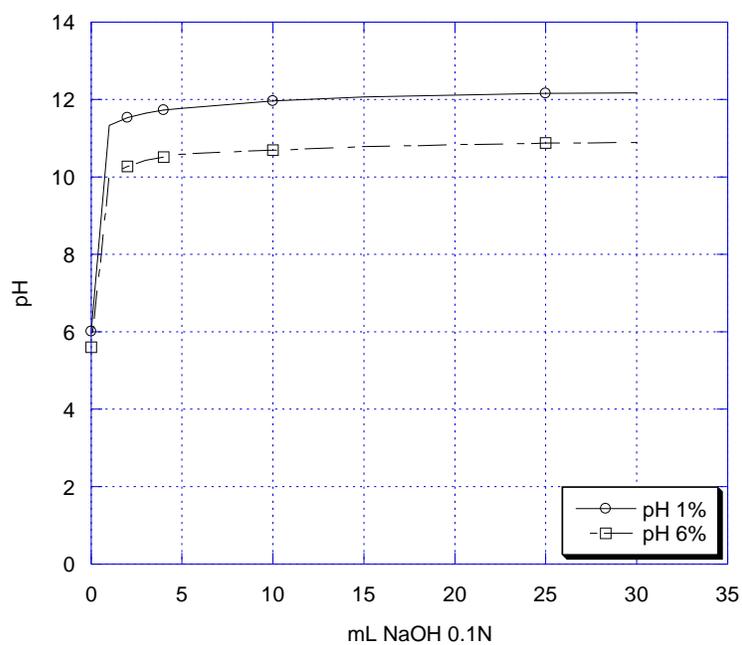


Figura 3.16 Curvas de titulación en medio básico de soluciones de dextrana a 1% y 6% m/v

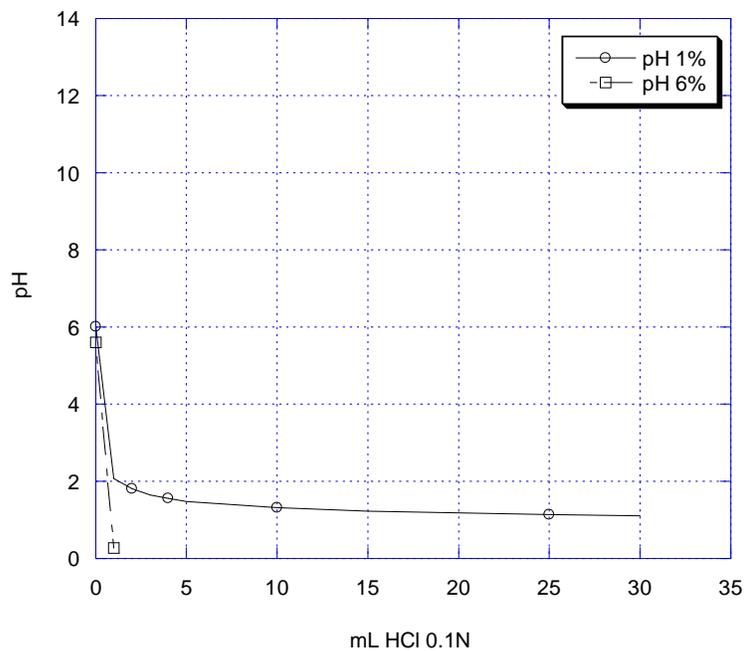
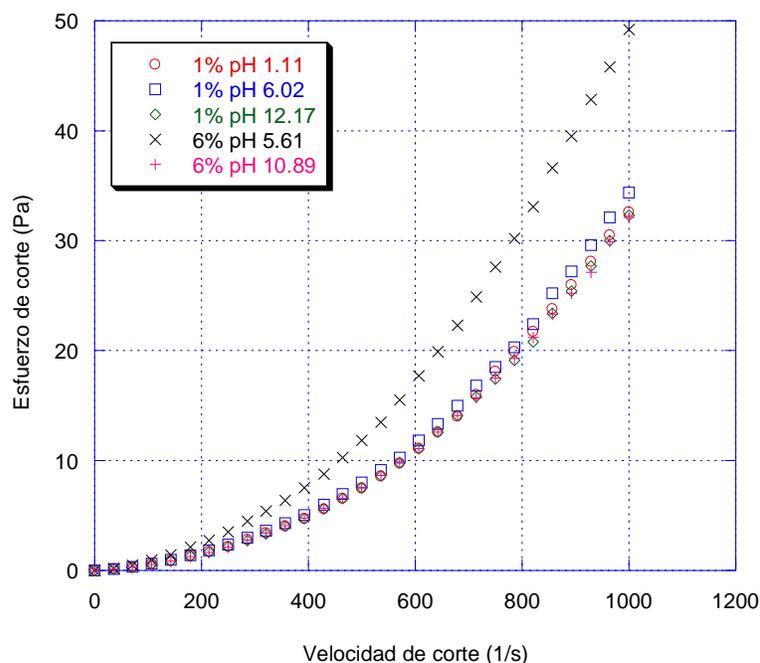


Figura 3.17 Curvas de titulación en medio ácido de soluciones de dextrana a 1% y 6% m/v

En las diferentes soluciones empleadas de dextrana y en ambos medios, no se presentó precipitación alguna para su posterior separación. Dicho punto, se corrobora con la información consultada en la literatura, donde se confirma que la estructura de la dextrana no muestra grupos funcionales ionizables, conllevando a que ésta forme moléculas neutras (Gaonkar *et al.*, 1995).

Por otro lado, en la Figura 3.18 se muestra el comportamiento reológico de ambas soluciones de dextrana en su estado inicial y tanto en medio básico como ácido, de donde fue posible ajustar cada comportamiento al modelo reológico experimental de Herschel-Bulkley, con los parámetros que se muestran en la Tabla 3.10.



**Figura 3.18** Reograma de velocidad de corte contra esfuerzo de corte de soluciones de dextrana a diferentes concentraciones

De la Tabla 3.10 se observa que todas las soluciones se ajustaron al modelo de Herschel-Bulkley, mostrando un comportamiento dilatante ( $n > 1$ ), variando principalmente en el índice de consistencia ( $K$ ), teniendo el valor más alto la solución en 6% de dextrana con pH de 5.61, es decir, la solución de mayor concentración y sin alterar en medio básico o ácido.

**Tabla 3.10** Modelos experimentales de soluciones de dextrana con pH variable

<i>Muestra</i>	<i>Modelo experimental</i>	<i>R<sup>2</sup></i>
1% pH 1.11	$\tau = 0.059 + 6.361 \times 10^{-5} \dot{\gamma}^{1.890}$	0.989
1% pH 6.02	$\tau = 0.053 + 8.328 \times 10^{-5} \dot{\gamma}^{1.856}$	0.987
1% pH 12.17	$\tau = 0.064 + 6.365 \times 10^{-5} \dot{\gamma}^{1.887}$	0.991
6% pH 5.61	$\tau = 0.098 + 1.259 \times 10^{-4} \dot{\gamma}^{1.852}$	0.992
6% pH 10.89	$\tau = 0.057 + 6.229 \times 10^{-5} \dot{\gamma}^{1.892}$	0.993

Por otro lado, se realizó una prueba adicionando etanol absoluto a 25 mL de la solución de dextrana al 6%, esto puesto que por literatura se conoce que la dextrana es insoluble en él, mostrando en todo momento pH constante y turbidez hasta formar precipitado. En la Tabla 3.11 se muestran los resultados obtenidos.

**Tabla 3.11** Contenido de dextranas en presencia de etanol absoluto

<b>Vol gastado EtOH (mL)</b>	<b>pH</b>	<b>Dextranas (ppm)</b>
0	7.19	60,000.000
1	7.27	NA
2	7.35	NA
3	7.42	NA
6	7.52	NA
12	7.92	19.260

La determinación de dextrana se realizó sobre la fracción soluble de la solución, indicando el resultado obtenido que el 99.970% de dextrana está contenido en el precipitado formado, al adicionar 48% v de etanol con respecto al volumen inicial de la solución. Los resultados reflejan en cierta medida el fenómeno que ocurre dentro del proceso de producción de bioetanol, precipitándose la dextrana y adhiriéndose a

las paredes, aunque en diferente proporción al tratarse de etanol de otro grado de pureza y de una solución que contiene otros componentes además de la dextrana.

### 3.4 Hidrólisis enzimática

#### 3.4.1 Efecto de hidrólisis enzimática sobre viscosidad

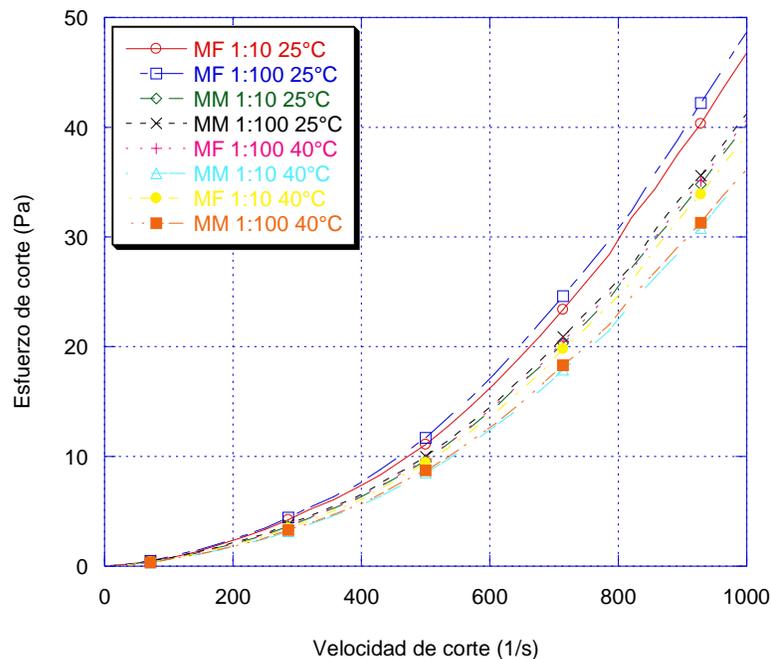
En la Tabla 3.12 se muestran los resultados obtenidos, en cuanto a viscosidad, de las corridas de hidrólisis enzimática a las que fueron sometidas las muestras de mosto fresco y mosto muerto, de acuerdo al diseño de experimentos planteado en la sección 2.6. Se partió de los valores iniciales obtenidos en la caracterización fisicoquímica, donde el mosto fresco presentó una viscosidad de 0.026 Pa s, mientras que para el mosto muerto se obtuvo una viscosidad de 0.019 Pa s.

**Tabla 3.12** Resultados de viscosidad - hidrólisis enzimática

Exp	S	[E:S]	T [°C]	Viscosidad [Pa s] <sup>DESV STD</sup>	Reducción [%]
1	MF	[1:10]	25	0.022 <sup>7.071E-5</sup>	15.720
2	MM	[1:10]	25	0.019 <sup>3.535E-4</sup>	0.256
3	MF	[1:100]	25	0.024 <sup>1.414E-4</sup>	10.985
4	MM	[1:100]	25	0.020 <sup>0.000</sup>	-2.564
5	MF	[1:10]	40	0.019 <sup>7.071E-5</sup>	28.978
6	MM	[1:10]	40	0.017 <sup>0.000</sup>	12.308
7	MF	[1:100]	40	0.020 <sup>0.000</sup>	25.758
8	MM	[1:100]	40	0.018 <sup>7.071E-5</sup>	10.000

Los resultados obtenidos de viscosidad, mostraron una desviación estándar aceptable, puesto que el coeficiente de variación resulta menor a 2% en todos los casos. El menor valor de viscosidad fue obtenido con el experimento 6, mientras que la mayor reducción de dicho parámetro fue obtenida con el experimento 5; es decir, tanto en mosto fresco como en mosto muerto, en relación 1:10 y 40°C.

Asimismo, dichos resultados son presentados de manera gráfica en la Figura 3.19, donde se observa el comportamiento reológico de cada una de las corridas.



**Figura 3.19** Reograma de velocidad de corte contra esfuerzo de corte de muestras de mostos sometidas a hidrólisis enzimática

Se puede observar que todas las muestras presentaron un comportamiento reológico similar, el cual, por la forma de cada curva, se concluye que es dilatante. En la Tabla 3.13 se muestran los modelos reológicos experimentales obtenidos, junto con sus parámetros y coeficientes de determinación. En base a la Tabla 3.13, se confirma que las muestras de las ocho corridas realizadas resultaron tener un comportamiento dilatante ( $n > 1$ ). De igual manera, se observa que todas se ajustaron satisfactoriamente al modelo de Herschel-Bulkley.

**Tabla 3.13** Modelos experimentales de mostos sometidos a hidrólisis enzimática

<i>Muestra</i>	<i>Modelo experimental</i>	<i>R<sup>2</sup></i>
MF [1:10] TA	$\tau = 0.086 + 1.120x10^{-4}\dot{\gamma}^{1.862}$	0.992
MF [1:100] TA	$\tau = 0.093 + 1.228x10^{-4}\dot{\gamma}^{1.855}$	0.993
MM [1:10] TA	$\tau = 0.059 + 1.140x10^{-4}\dot{\gamma}^{1.836}$	0.991
MM [1:100] TA	$\tau = 0.064 + 1.326x10^{-4}\dot{\gamma}^{1.817}$	0.990
MF [1:10] 40°C	$\tau = 0.063 + 9.707x10^{-5}\dot{\gamma}^{1.856}$	0.992
MF [1:100] 40°C	$\tau = 0.068 + 1.053x10^{-4}\dot{\gamma}^{1.850}$	0.992
MM [1:10] 40°C	$\tau = 0.043 + 1.016x10^{-4}\dot{\gamma}^{1.835}$	0.990
MM [1:100] 40°C	$\tau = 0.029 + 1.155x10^{-4}\dot{\gamma}^{1.818}$	0.990

Se observa que, tanto el esfuerzo de corte inicial ( $\tau_0$ ) como el coeficiente de consistencia ( $K$ ), son muy bajos en todos los casos, reflejando los valores obtenidos de viscosidad, lo cuales de la misma manera resultaron ser bajos.

En la Tabla 3.14, se muestra el análisis de varianza (ANOVA) con el cual se evaluó el efecto combinado del tipo de sustrato, relación enzima-sustrato y temperatura, sobre la viscosidad. Los resultados experimentales fueron obtenidos en base al diseño factorial planteado de  $2^3$  y analizados estadísticamente con el software NCSS 2000.

Tabla 3.14 ANOVA de resultados de viscosidad

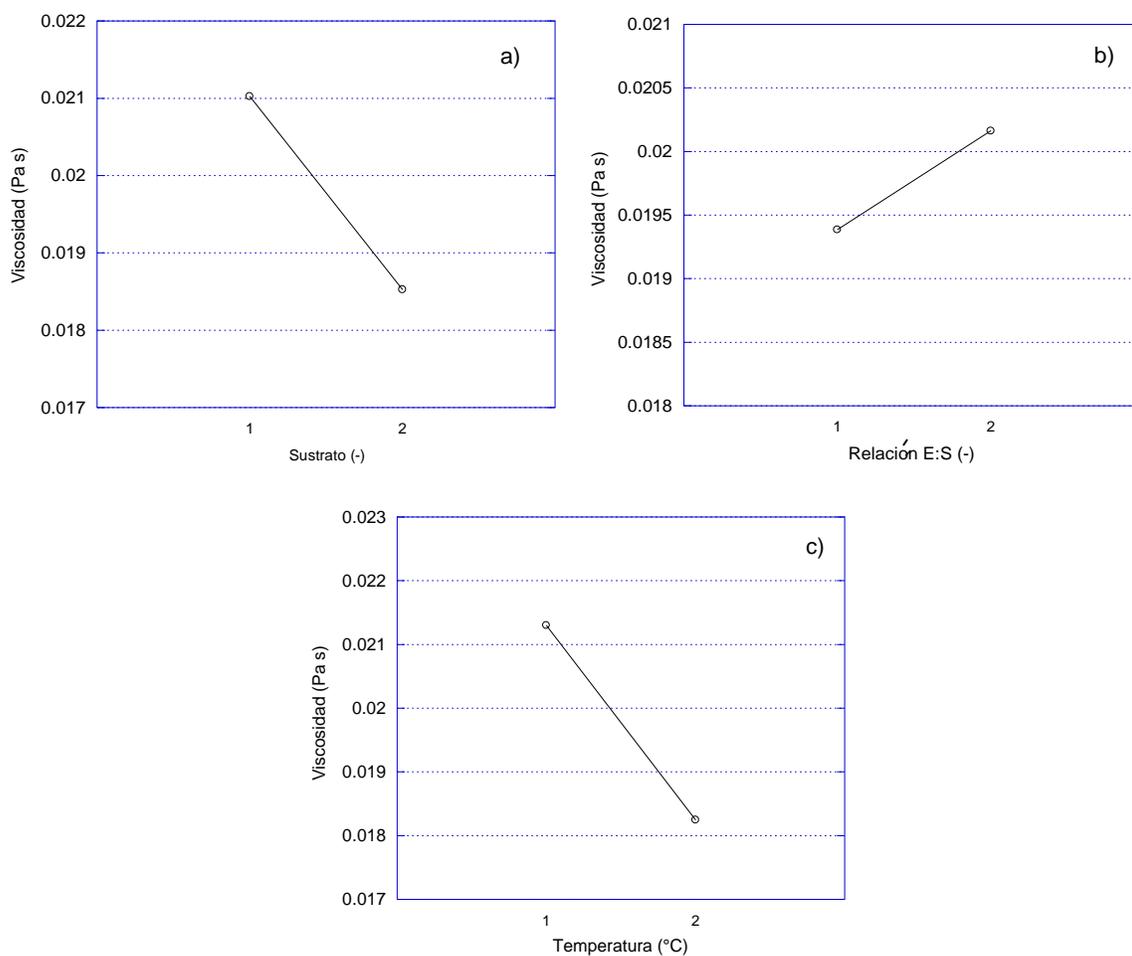
	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F <sub>0</sub>	Nivel de probabilidad	Poder $\alpha = 0.05$
<b>A: Sustrato</b>	1	2.500x10 <sup>-5</sup>	2.500 x 10 <sup>-5</sup>	1250.000	0.000*	1.000
<b>B: Relación</b>	1	2.402x10 <sup>-6</sup>	2.4025x10 <sup>-6</sup>	120.130	4.000x10 <sup>-6</sup> *	1.000
<b>AB</b>	1	3.025x10 <sup>-7</sup>	3.025x10 <sup>-7</sup>	15.130	4.615x10 <sup>-3</sup> *	0.924
<b>C: Temperatura</b>	1	3.721x10 <sup>-5</sup>	3.721x10 <sup>-5</sup>	1860.500	0.000*	1.000
<b>AC</b>	1	1.690x10 <sup>-6</sup>	1.690x10 <sup>-6</sup>	84.500	1.600x10 <sup>-5</sup> *	1.000
<b>BC</b>	1	6.250x10 <sup>-8</sup>	6.250x10 <sup>-8</sup>	3.130	1.151x10 <sup>-1</sup>	0.344
<b>ABC</b>	1	2.250x10 <sup>-8</sup>	2.250x10 <sup>-8</sup>	1.130	3.198x10 <sup>-1</sup>	0.155
<b>S</b>	8	1.600x10 <sup>-7</sup>	2.000x10 <sup>-8</sup>			
<b>Total (ajustado)</b>	15	6.685x10 <sup>-5</sup>				
<b>Total</b>	16					

\*Término de significancia  $\alpha = 0.050$

De la Tabla 3.14 se concluye que el factor A (sustrato), B (relación enzima-sustrato) y C (temperatura), así como la interacción de los factores A-B y A-C, tienen efecto sobre la viscosidad. Cabe destacar que, por los altos valores del estadístico F<sub>0</sub>, únicamente los factores A (F<sub>0</sub>=1250) y C (F<sub>0</sub>=1860.5) son los que tienen un efecto significativo sobre dicha propiedad.

En la Figura 3.20 se observa el detalle de los factores que tienen un efecto sobre la viscosidad. En la Figura 3.20 (a) y (c), se aprecia cómo disminuye la viscosidad conforme se emplea mosto muerto como sustrato (factor A) y se somete a una temperatura de 40°C (factor C), es decir, en los niveles altos de ambos factores, alcanzando valores de 0.0185 y 0.0183 Pa s, respectivamente. Por el contrario, en la Figura 3.20 (b) se observa cómo disminuye la viscosidad conforme se emplea la relación enzima-sustrato 1:10 (factor B), es decir, en el nivel bajo, alcanzando valores de 0.0194 Pa s; sin embargo, la pendiente de dicha Figura refleja un efecto menos

significativo en comparación con los factores A y C, concordando con los resultados arrojados por el ANOVA.



**Figura 3.20** Factores sobre viscosidad: a) sustrato vs. viscosidad, b) relación E:S vs. viscosidad, c) temperatura vs. viscosidad

### 3.4.2 Efecto de hidrólisis enzimática sobre contenido de dextrana

En la Tabla 3.15 se muestran los resultados obtenidos, en cuanto a contenido de dextranas, de las corridas de hidrólisis enzimática a las que fueron sometidas las muestras de mosto fresco y mosto muerto, de acuerdo al diseño de experimentos planteado en la sección 2.6.

A partir de los valores iniciales obtenidos en la caracterización fisicoquímica, donde el mosto fresco presentó un contenido de dextranas de 491.650 ppm, mientras que para el mosto muerto se obtuvo un contenido de dextranas de 352.785 ppm.

Los resultados obtenidos de contenido de dextrana, mostraron una desviación estándar aceptable en base al coeficiente de variación resultante, siendo éste menor a 7% en todos los casos, considerándose aceptable hasta 10% (Cantle, 1982).

De los resultados mostrados en la Tabla 3.15, es posible observar que, las mayores reducciones de contenido de dextrana (64%), se alcanzan en las corridas llevadas a cabo a 40°C y con mosto muerto como sustrato.

**Tabla 3.15** Resultados de contenido de dextranas - hidrólisis enzimática

Exp	S	[E:S]	T [°C]	Dextranas [ppm] <sup>DESV STD</sup>	Reducción [%]
1	MF	[1:10]	25	325.510 <sup>6.265</sup>	33.792
2	MM	[1:10]	25	198.861 <sup>11.649</sup>	43.631
3	MF	[1:100]	25	309.850 <sup>7.077</sup>	36.977
4	MM	[1:100]	25	204.795 <sup>7.403</sup>	41.950
5	MF	[1:10]	40	248.037 <sup>11.012</sup>	49.550
6	MM	[1:10]	40	174.626 <sup>6.191</sup>	64.482
7	MF	[1:100]	40	230.731 <sup>6.942</sup>	53.070
8	MM	[1:100]	40	173.220 <sup>11.525</sup>	64.767

En la Tabla 3.16, se muestra el análisis de varianza (ANOVA) con el cual se evaluó el efecto combinado del tipo de sustrato, relación enzima-sustrato y temperatura, sobre el contenido de dextranas. Los resultados experimentales fueron obtenidos en base al diseño factorial planteado de  $2^3$  y analizados estadísticamente con el software NCSS 2000.

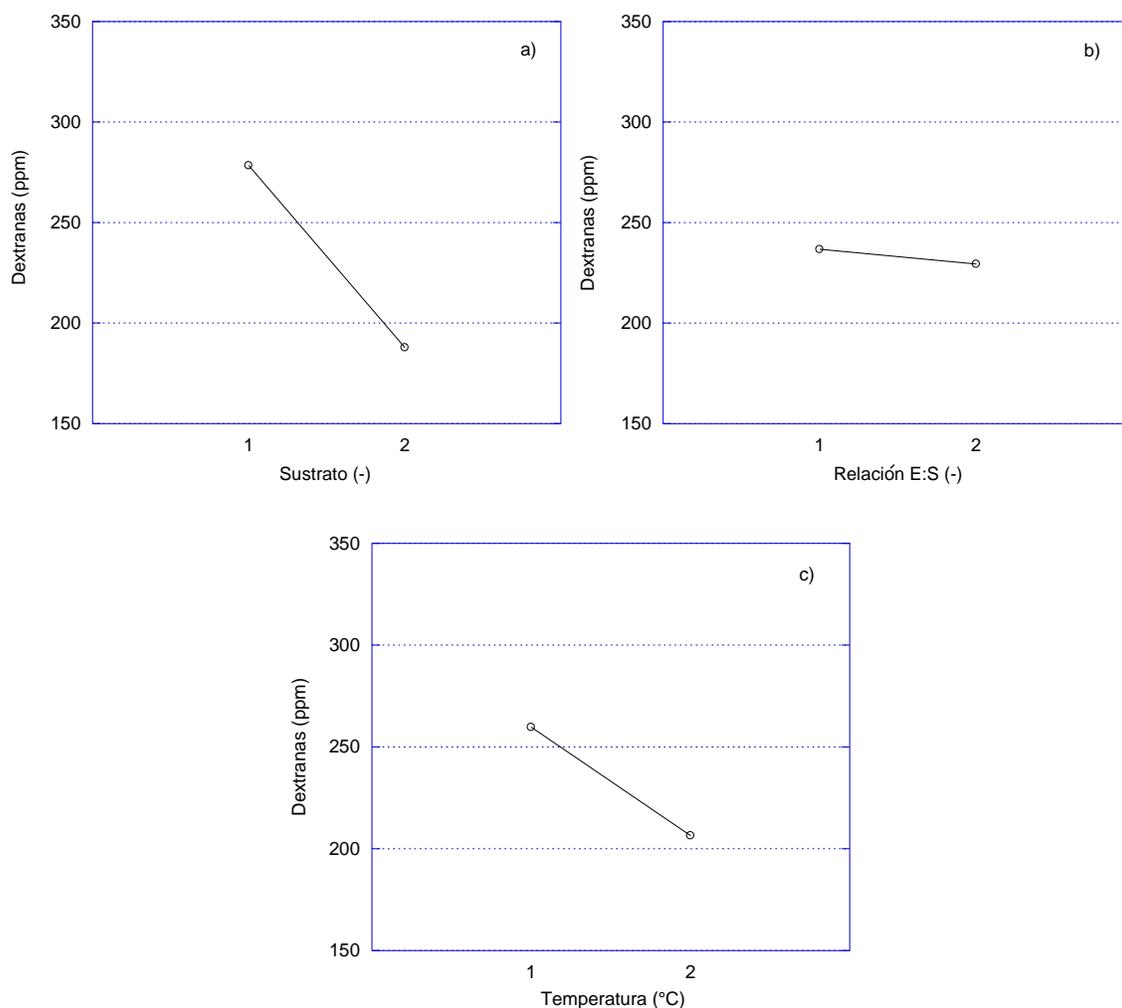
**Tabla 3.16** ANOVA de resultados de contenido de dextrana

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	$F_0$	Nivel de probabilidad	Poder $\alpha = 0.05$
<b>A: Sustrato</b>	1	32 836.970	32 836.970	423.380	0.000*	1.000000
<b>B: Relación</b>	1	203.312	203.312	2.620	0.144	0.297642
<b>AB</b>	1	352.341	352.341	4.540	0.0656	0.466205
<b>C: Temperatura</b>	1	11 267.560	11 267.560	145.280	$2.000 \times 10^{-6}$ *	1.000000
<b>AC</b>	1	2 539.228	2 539.228	32.740	$4.430 \times 10^{-4}$ *	0.998611
<b>BC</b>	1	19.618	19.618	0.250	0.628	0.073028
<b>ABC</b>	1	7.473	7.473	0.100	0.764	0.058712
<b>S</b>	8	620.477	77.560			
<b>Total (ajustado)</b>	15	47 846.980				
<b>Total</b>	16					

\*Término de significancia  $\alpha = 0.050$

De dicha Tabla se concluye que el factor A (sustrato) y C (temperatura), así como la interacción entre ambos factores, tienen efecto sobre el contenido de dextranas. Cabe destacar que, por los altos valores del estadístico  $F_0$ , únicamente el factor A ( $F_0=423.38$ ) tiene un efecto significativo sobre dicha variable de respuesta.

En la Figura 3.21 se observa el detalle de los factores que tienen un efecto sobre el contenido de dextranas.



**Figura 3.21** Factores sobre contenido de dextrana: a) sustrato vs. dextrana, b) relación E:S vs. dextrana, c) temperatura vs. dextrana

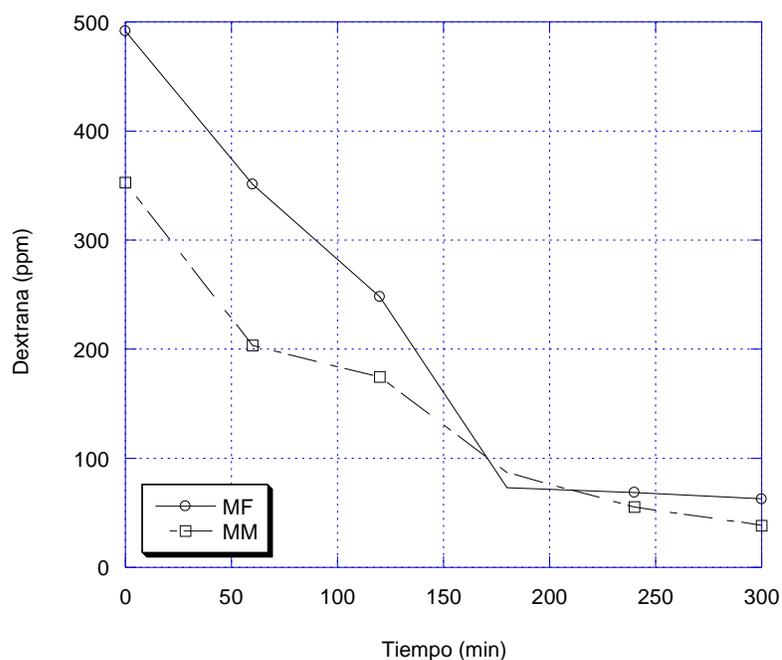
En la Figura 3.21 (a) y (c), se aprecia cómo disminuye el contenido de dextranas conforme se emplea mosto muerto como sustrato (factor A) y se somete a una temperatura de 40°C (factor C), es decir, ambos factores en nivel alto, alcanzando valores de 185 y 208 ppm, respectivamente.

Asimismo, en la Figura 3.21 (b) se observa que el contenido de dextrana disminuye conforme se emplea la relación enzima-sustrato 1:100 (nivel alto), alcanzando tan sólo valores de 230 ppm. Al observar las pendientes de dichas Figuras, se concluye que

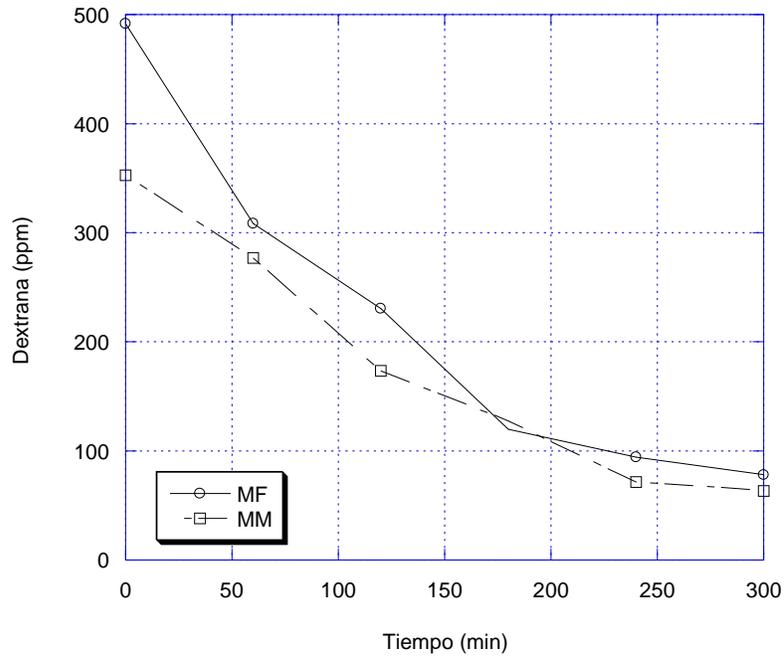
únicamente el factor A tiene un efecto significativo sobre el contenido de dextranas, a diferencia del factor C que muestra un menor efecto, y del factor B que no tiene efecto alguno, concordando lo anterior con los resultados arrojados por el ANOVA.

### 3.4.3 Cinéticas enzimáticas

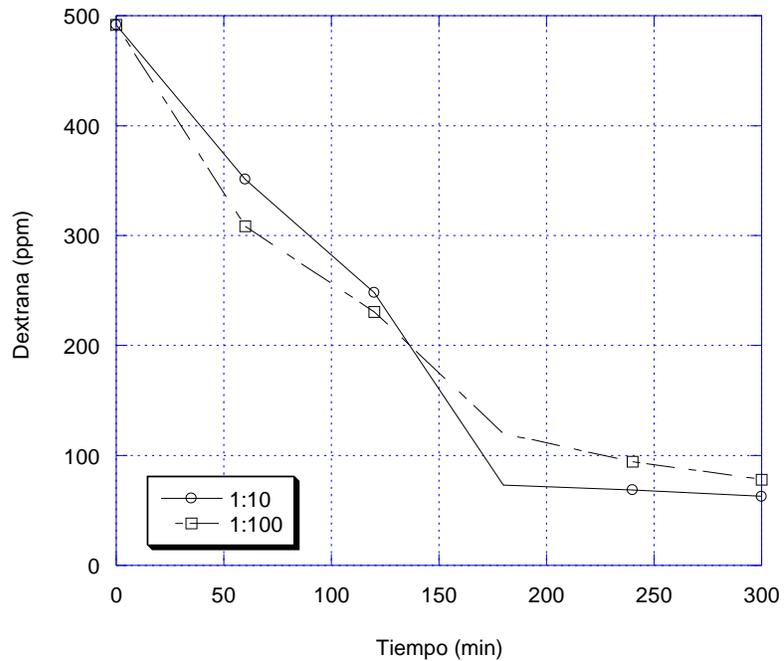
En las Figuras 3.22 a 3.26, se presentan las curvas que representan la degradación de dextrana en presencia de endoenzima dextranasa comercial de origen fungal, con respecto al tiempo, para todos los tratamientos llevados a cabo a 40°C, ya que tales fueron los que arrojaron los mejores resultados en la Sección 3.4.1 y 3.4.2, esto en cuanto reducción de viscosidad y contenido de dextranas.



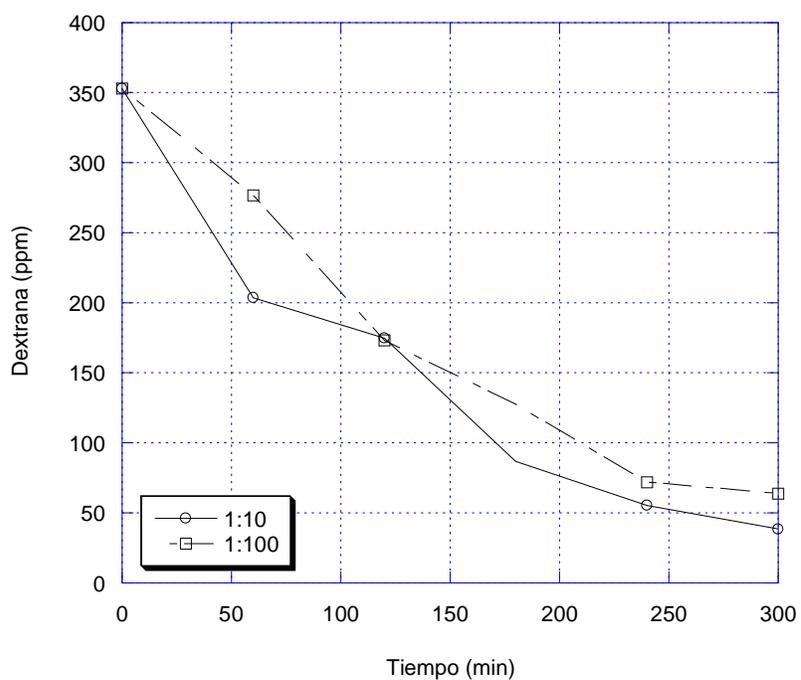
**Figura 3.22** Degradación de dextrana con respecto al tiempo de hidrólisis enzimática, a 40°C y relación E-S [1:10]



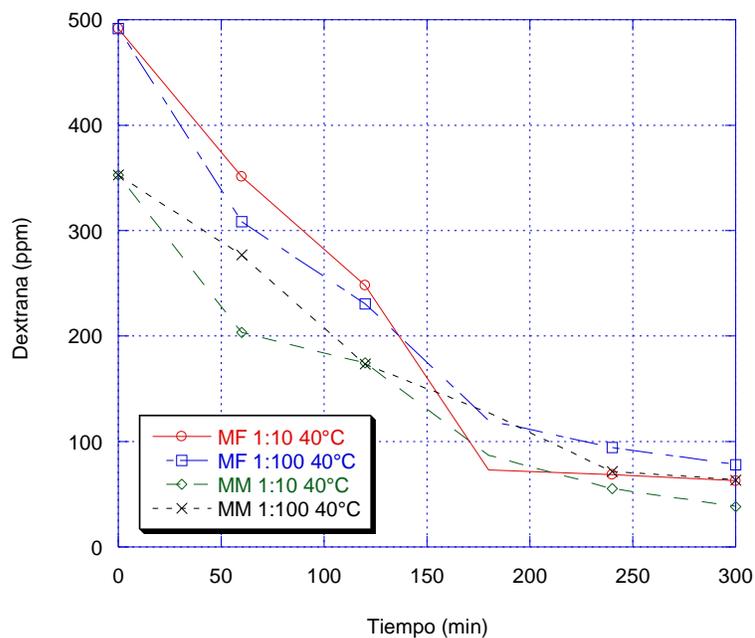
**Figura 3.23** Degradación de dextrana con respecto al tiempo de hidrólisis enzimática, a 40°C y relación E-S [1:100]



**Figura 3.24** Degradación de dextrana con respecto al tiempo de hidrólisis enzimática, a 40°C y sobre mosto fresco



**Figura 3.25** Degradación de dextrana con respecto al tiempo de hidrólisis enzimática, a 40°C y sobre mosto muerto



**Figura 3.26** Degradación de dextrana con respecto al tiempo de hidrólisis enzimática, en nivel alto de temperatura

De las Figuras anteriores, es posible observar que, en todos los casos, el contenido de dextranas disminuyó sustancialmente en los primeros 180 min, alcanzando valores promedios de 110 ppm. Asimismo, se observa que se logró la estabilización después de dicho tiempo, alcanzando valores mínimos promedios de 70 ppm. Se observó que el sustrato que mostró una mayor velocidad de degradación al iniciar la hidrólisis fue el mosto muerto, sin tener fuerte impacto el factor de relación E:S, tal y como se conoció a través del análisis estadístico de la Sección 3.4.2 Efecto de hidrólisis enzimática sobre contenido de dextrana.

Por el perfil de degradación observado, no se puede concluir que las cinéticas enzimáticas se ajusten al modelo de Michaelis-Menten. Lo anterior, se puede atribuir al tipo de dextrana (bajo, medio o alto peso molecular) contenido en la muestra, así como a la complejidad de la misma. En el trabajo realizado por Fulcher e Inkerman (1974), se concluye que solamente la cinética de una de las tres enzimas utilizadas, todas de origen fungal, tiene una actividad que se ajusta al modelo Michaelis-Menten. Sin embargo, no ofrece los parámetros de ajuste, ni los datos necesarios para su cálculo.

En el trabajo realizado por Mohanad *et al.*, (2013) se observa que, aunque la cinética se ajusta al modelo ( $V_{max} = 13.67 \text{ M}\mu/\text{min}$  y  $K_M = 78.52 \mu\text{M}$ ), existen dos factores importantes de diferencia con respecto a este trabajo de tesis: en primer lugar, la velocidad de ejecución del método utilizado para la determinación de dextranas por Mohanad *et al.*, (2013) permite obtener mayor resolución y precisión sobre la actividad enzimática, ya que se empleó la cromatografía líquida. En segundo lugar, la cinética se ejecutó sobre concentraciones puras de dextrana, de peso molecular conocido, y en condiciones de exacerbación de la actividad enzimática (por medio de vibración ultrasónica a 25 kHz).

Wheatley *et al.*, (1977), en cambio, contrasta la actividad enzimática de dos enzimas, una endoenzima fungal y una exoenzima (probablemente proveniente de estreptococo), y concluye en base a la formación de oligosacáridos y de glucosa, y no

en base a la concentración de dextrana per se. Wheatley *et al.*, (1977), utilizan de igual manera método cromatográfico en la determinación de oligosacáridos y glucosa.

Comparando nuestros resultados con los reportados en la literatura disponible, es determinante que se analicen las cinéticas a la luz de un método analítico cuantitativo de suficiente resolución, rapidez y confiabilidad para lograr determinar la cinética.

## **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En el presente proyecto de investigación se confirmó la hipótesis inicial planteada, esto es, la presencia de dextrana en muestras de incrustación formada dentro de la columna mostera de destilación, siendo de 23.5%.

Con respecto a la caracterización reológica realizada, se concluyó que ambos mostos y el bioetanol impuro, mostraron un comportamiento dilatante, mientras que la melaza y la incrustación mostraron un comportamiento pseudoplástico a temperatura ambiente, aunque dicho comportamiento se vio claramente afectado por la temperatura. Asimismo, la incrustación formada mostró características viscoelásticas, teniendo comportamiento elástico a pequeñas frecuencias y un comportamiento viscoso a mayores frecuencias, con un tiempo de relajación de 0.026 s.

No resultó factible la separación de dextrana por medio de la determinación de punto isoeléctrico debido a la ausencia de grupos funcionales ionizables en su estructura, lo cual fue corroborado experimentalmente, reflejando el fenómeno que ocurre dentro del proceso de producción de bioetanol.

Mientras que, a partir de los resultados de degradación de dextrana vía hidrólisis enzimática, se concluyó que la menor viscosidad se alcanzó (0.017 Pa s) empleando mosto muerto como sustrato, en relación [E:S] 1:10 a 40°C, mientras que la mayor reducción de viscosidad (28.978%) con respecto al valor inicial, se alcanzó empleando mosto fresco como sustrato, en relación [E:S] 1:10 a 40°C. Asimismo, se concluyó que el factor A (sustrato) y C (temperatura), tienen efecto significativo sobre la viscosidad. La menor concentración de dextrana alcanzada (173.220 ppm), se logró empleando mosto muerto como sustrato, en relación [E:S] 1:100 a 40°C, significando un 64.767% de degradación con respecto a la concentración inicial. Se concluyó que el factor A (sustrato) tiene un efecto significativo sobre la concentración de dextrana, mientras que el factor C (temperatura), tiene un menor efecto sobre ella.

Para el seguimiento del proyecto, se recomienda explorar alternativas para determinación de dextranas dado los coeficientes de variación obtenidos, los cuales resultaron ser en todos los casos menores al 10%, sin embargo, cercanos a este límite, atribuible a los factores de error de la técnica analítica empleada y al desfase de tiempo por su duración. De igual manera, se recomienda realizar pruebas oscilatorias a pequeñas amplitudes, sobre muestra de incrustación, determinando el rango viscoelástico lineal (LVE), así como optimizar hidrólisis enzimática y validar en equipo escala piloto.

---

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. AOAC Official Method 988.12. Dextran in Raw Cane Sugar. EUA.
2. Astolfi-Filho, Z., Nicoletti, V., Basilio, E., dos Reis, J. y Telis-Romero, J. 2011. Rheology and fluid dynamics properties of sugarcane juice. *Biochemical Engineering Journal*, **53**:260-265.
3. Belder, A.N. 2003. Dextran. Amersham Biosciences. Edition AA. Reino Unido.
4. Bird R.B., Stewart W.E. y Lightfoot E.N. 2002. Transport Phenomena. Segunda edición. John Wiley & Sons, Inc. E.U.A.
5. Campbell, M y Farrell, S. 2015. Bioquímica. Octava edición. Cengage Learning. E.U.A.
6. Cantle, J. 1982. Atomic Absorption Spectrometry. Elsevier Scientific Publishing Company. The Netherlands.
7. Fajardo, E. y Sarmiento, S. 2007. *Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de Saccharomyces cerevisiae*. Tesis de pregrado. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia.
8. Fulcher, R. e Inkerman, P. 1974. Preliminary studies on the enzymic removal of dextran from deteriorated cane juice. *Sugar Cane Technologists*.
9. Gaonkar, A. 1995. Ingredients Interactions. Effects on Food Quality. Marcel Dekker, Inc. USA.
10. García, M., Quintero, R. y López-Munguía, A. 1993. Biología alimentaria. Editorial Limusa. México.
11. Hasan, T. y Nurhan, A. 2004. Mathematical model for prediction of apparent viscosity of molasses. *Journal of Food Engineering*, **62**:281-289.
12. Heldman, D. y Lund, D. 2007. Handbook of Food Engineering. Segunda edición. Editorial CRC Press. E.U.A.
13. Kaur, S. y Kaler, R.S.S. 2008. Dextran and its effect on the flow behavior of molasses and crystallization rate. *Journal of Food Engineering*, **86**:55-60.
14. Liu, J.B., Yu, D., Zhang, J., Yang, M., Wang, Y., Wei, Y. y Tong, J. 2016. Rheological properties of sewage sludge during enhanced anaerobic digestion

- with microwave-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment. *Water Research*. Doi: 10.1016/j.watres.2016.03.073.
15. Martínez-Alcalá, A. 2012. *Producción de bioetanol: mejora del proceso a partir de grano de cereal de biomasa lignocelulósica tratada con steam explosion*. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. España.
16. Mathews, C., van Holde, K., Appling, D. y Cahill, A. 2012. *Biochemistry*. Cuarta edición. Prentice Hall. E.U.A.
17. Mechetti, M., Gómez, A. y Balella, A. 2011. Propiedades reológicas de melados de caña de azúcar. *Investigación y Desarrollo*, **33**:1-8.
18. Mohanad, B., Ahmed, E., Jinpeng, W., Yaoqi, T., Xueming, X. y Zhengyu, J. 2013. Influence of low ultrasound intensity on the degradation of dextran catalyzed by dextranase. *Ultrasonics Sonochemistry*, **20**:155-161.
19. Mohanad, B., Fatonmata, T., Mandour, H., Camel, L., Xueming, X. y Zhengyu, J. 2013. Impact of dextranase on sugar manufacturing and its kinetic on the molecular weights of remaining dextran. *SugarTech*, **15**:84–93.
20. NMX-F-476-SCFI-2011. Método para la determinación de dextrana en azúcares y materiales azucarados.
21. PEMEX. 2015. Pemex informa los resultados de la licitación para la adquisición de etanol anhidro. Consultado en:  
  
[http://www.pemex.com/saladeprensa/boletines\\_nacionales/Paginas/2015-024-nacional.aspx](http://www.pemex.com/saladeprensa/boletines_nacionales/Paginas/2015-024-nacional.aspx)
22. Rogers, S.A. y Lettinga, M.P. 2012. A sequence of physical processes determined and quantified in large-amplitude oscillatory shear (LAOS): Application to theoretical nonlinear models. *Journal of Rheology*. Doi: 10.1122/1.3662962.
23. SENER. 2013. Análisis y propuesta para la introducción de etanol anhidro en las gasolinas que comercializa PEMEX. Consultado en:  
  
<http://www.sener.gob.mx/res/Renovables/ANALISIS%20Y%20PROPUESTA%20ETANOL%20ANHIDRO%20EN%20LAS%20GASOL.pdf>

24. Serpa, A., Hincapié, G. y Álvarez, C. 2014. Determinación del punto isoeléctrico de las proteínas presentes en cuatro fuentes foliares: yuca (*Manihot esculenta Crantz*) variedades verónica y tai, jatropha (*Jatropha curcas L.*) y gmelina (*Gmelina arborea*), *Revista Prospectiva*. **12**:30-39.
25. SHCP. 2014. *Panorama de la caña de azúcar*. Consultado en:  
<http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/>
26. Steffe, J. 1996. Rheological methods in food process engineering. Segunda edición. Freeman Press. E.U.A.
27. Velázquez Macario, Mayra Viviana. 2010. *Caracterización reológica comparativa de vinazas del proceso de bioetanol en México y en Brasil*. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.
28. Wheatley, M.A. y Moo-Young, M. 1977. Degradation of polysaccharides by endo- and exoenzymes: dextran-dextranase model systems. *Biotechnology and bioengineering*. **19**:219-233.
29. Widayati, W. y Murdiyatmo, U. 1994. Effect of dextran and molasses quality on alcohol fermentation. *Berita - Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia*. **11**:9-11.
30. 2540 Solids. Standard Methods. E.U.A.
31. 5220 Chemical Oxygen Demand (COD). Standard Methods. E.U.A.