

PROYECTO FINAL DE INGENIERÍA

APROVECHAMIENTO DE BURLANDA DE MAÍZ DEL PROCESO DEL BIOETANOL

Rodríguez, Federico – LU1010887

Ingeniería en Alimentos

Ferrero, Estefanía – LU1012437

Ingeniería en Alimentos

Tutor:

Profesor Ingeniero Especialista Hadad Pitasny, Eduardo Jorge, UADE

Colaborador:

Profesor Ingeniero en Alimentos Rossito, Pablo, UADE

Agosto 12, 2013



UADE

UNIVERSIDAD ARGENTINA DE LA EMPRESA

FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS EXACTAS

INDICE

INDICE DE FIGURAS, GRÁFICOS Y TABLAS	5
<i>FIGURAS.....</i>	<i>5</i>
<i>GRÁFICOS.....</i>	<i>5</i>
<i>IMAGENES.....</i>	<i>5</i>
AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA.....	7
1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. ANTECEDENTES	18
OBTENCIÓN DEL DDGS	18
DESARROLLOS EN BASE A DDGS	22
<i>Desarrollos usando DDGS entero.....</i>	<i>22</i>
<i>Desarrollos usando los componentes químicos del DDGS.....</i>	<i>25</i>
EMULSIONES.....	39
BEBIDAS EMULSIONADAS.....	46
GOMA ARÁBIGA	47
MEDICIÓN DE LA ESTABILIDAD DE EMULSIÓN	48
EVALUACIÓN SENSORIAL	50
3. VIABILIDAD DE DESARROLLO DE LOS ESTUDIOS INVESTIGADOS	54
USO DEL DDGS SIN DISGREGAR.....	54
PROTEÍNA.....	56
DERIVADOS LIGNOCELULÓSICOS (CELULOSA, LIGNINA Y HEMICELULOSA)	57
HEMICELULOSA	58
4. MATERIALES Y METODO.....	61
MATERIALES	61
EXTRACCIÓN DE HEMICELULOSA	61
PREPARACIÓN DE BEBIDA CON SABORIZANTE OLEOSO A NARANJA	64
MEDICIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LA EMULSIÓN EN EL TIEMPO	65
EVALUACIÓN SENSORIAL DE LAS BEBIDAS	66
<i>Evaluación sensorial de comparación de Hemicelulosa B.....</i>	<i>66</i>
<i>Evaluación sensorial de comparación de Hemicelulosa B y Goma Arábica</i>	<i>67</i>
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	69
CONSIDERACIONES PREVIAS.....	69
ANÁLISIS Y COMPARACIÓN DE DDGS.....	70
EXTRACCIÓN DE HEMICELULOSA.....	73

RENDIMIENTOS	84
CONSIDERACIONES DEL PRODUCTO FINAL.....	85
MEDICIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LA EMULSIÓN	87
EVALUACIÓN SENSORIAL	99
ESTUDIO DEL MERCADO Y COSTOS	100
EQUIPOS	103
6. CONCLUSIONES.....	104
7. PUNTOS PARA SEGUIR EVALUANDO	105
8. BIBLIOGRAFÍA.....	106
ANEXO 1.....	115
ANEXO 1.1 : CALCULO DE RENDIMIENTO:	115
ANEXO 1.2 : CÁLCULOS PARA EL MOMENTO B.....	115
ANEXO 1.3 : CÁLCULOS PARA LA FRACCIÓN NO LIOFILIZADA DEL MOMENTO C.....	116
ANEXO 1.4 : CÁLCULOS DE TOTALIDAD DEL MOMENTO C	116
ANEXO 1.5 DATOS DE LAS MEDICIONES POR ESPECTOFOTOMETRÍA.....	117
<i>Anexo 1.5.1 : Datos obtenidos de las mediciones por espectrofotometría para el momento A.....</i>	<i>117</i>
<i>Anexo 1.5.2 : Datos obtenidos de las mediciones por espectrofotometría para el momento B.....</i>	<i>118</i>
<i>Anexo 1.5.3: Datos obtenidos de las mediciones por espectrofotometría para el momento C.....</i>	<i>119</i>
ANEXO 1.6 CALCULO DE COSTOS.....	120
ANEXO 1.7 ESQUEMA DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE HEMICELULOSA B A ESCALA INDUSTRIAL	121
ANEXO 2.....	122
IMAGEN ANEXO 2.1	122
IMAGEN ANEXO 2.2	123
IMAGEN ANEXO 2.3	124
IMAGEN ANEXO 2.4	125
IMAGEN ANEXO 2.5	126
IMAGEN ANEXO 2.6	127
IMAGEN ANEXO 2.7	128
IMAGEN ANEXO 2.8	130
IMAGEN ANEXO 2.9	131
IMAGEN ANEXO 2.10	132
IMAGEN ANEXO 2.11	133
IMAGEN ANEXO 2.12	134
IMAGEN ANEXO 2.13	135
IMAGEN ANEXO 2.14	136
IMAGEN ANEXO 2.15	137
IMAGEN ANEXO 2.16	138
IMAGEN ANEXO 2.17	139

IMAGEN ANEXO 2.18 140

IMAGEN ANEXO 2.19 141

IMAGEN ANEXO 2.20 142

IMAGEN ANEXO 2.21 143

IMAGEN ANEXO 2.22 144

ANEXO 3 – PROTOCOLOS DE ANALISIS 145

ANEXO 4 – FORMULARIOS DE EVALUACIÓN SENSORIAL 148

PRUEBAS AFECTIVA DE PREFERENCIA..... 148

Formulario 1 - Modelo de prueba de preferencia..... 148

Formulario 2 – Escala Hedonica de preferencia..... 149

PRUEBAS DE DIFERENCIACIÓN 150

Formulario 3 - Prueba Triangular 150

INDICE DE FIGURAS, GRÁFICOS Y TABLAS

FIGURAS

FIGURA 1 - MECANISMOS DE INESTABILIDAD DE UNA EMULSIÓN	16
FIGURA 2 - DIAGRAMA DE FLUJO DE LA INDUSTRIA DE BIOETANOL.....	18
FIGURA 3 - VARIACIÓN DEL COLOR DEL DDGS LUEGO DE PROCESOS DE SECADO.....	21
FIGURA 4- ESTRUCTURA DE LA PARED CELULAR VEGETAL	31
FIGURA 5 - ESTRUCTURA ESQUEMÁTICA DE LA HEMICELULOSA	32
FIGURA 6 - DERIVADOS DE LA HEMICELULOSA.....	34
FIGURA 7 - RESUMEN DE LOS MÉTODOS EMPLEADOS EN EL ANÁLISIS SENSORIAL.....	52
FIGURA 8 - EXTRACCIÓN DE HEMICELULOSA	64
FIGURA 9 - PROCEDIMIENTOS Y RESULTADOS DE LA EXTRACCIÓN DE HEMICELULOSA ..	84
FIGURA 10 - DIAGRAMA DE FLUJO ELABORACIÓN DE BEBIDA CÍTRICA.	88
FIGURA 11 - COMPOSICIÓN DE LA "JARRA DE CONSUMO DE BEBIDAS ANALCOHOLICAS"	102
FIGURA 12 - PROCESO DE PRODUCCIÓN DE HEMICELULOSA B A NIVEL INDUSTRIAL	121

GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - EVOLUCIÓN DE LA PRODUCCIÓN DEL BIOETANOL PRODUCCIÓN	11
GRÁFICO 2 - RELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO DE LAS GOTAS Y EL ÁREA INTERFACIAL (ASP.) CALCULADO EN BASE A UNA EMULSIÓN DE ACEITE DE NARANJA.	14
GRÁFICO 3 - EVOLUCIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LA EMULSIÓN A CABO DE 10 DÍAS USANDO HEMICELULOSA Y GOMA ARÁBIGA COMO EMULSIONANTE	91
GRÁFICO 4 - EVOLUCIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LA EMULSIÓN A CABO DE 10 DÍAS USANDO HEMICELULOSA COMO EMULSIONANTE.	92
GRÁFICO 5 - EVOLUCIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LA EMULSIÓN A CABO DE 10 DÍAS USANDO GOMA ARÁBIGA COMO EMULSIONANTE.	94
GRÁFICO 6 - EVOLUCIÓN LA TURBIDEZ DE LAS EMULSIONES A LO LARGO DE 288HS DEL MOMENTO C.	96
GRÁFICO 7 - EVOLUCIÓN LA TURBIDEZ DE LAS EMULSIONES MENOS EL BLANCO A LO LARGO DE 288HS DEL MOMENTO C.	97

IMAGENES

IMAGEN 1 - SEPARACIÓN DE LAS CAPAS LUEGO DE LA CENTRIFUGACIÓN	75
IMAGEN 2 - SEPARACIÓN DE LAS CAPAS LUEGO DE LA SEGUNDA CENTRIFUGACIÓN	77
IMAGEN 3 - SEDIMENTACIÓN DE LA HEMICELULOSA B EN MEDIO ALCOHÓLICO.	79
IMAGEN 4 - EXTRACTO DE DDGS LUEGO DE LIOFILIZAR	81
IMAGEN 5 - COMPARACIÓN DEL CREMADO EN EL INSTANTE CERO ENTRE LA SOLUCIÓN EMULSIONANTE GOMA ARÁBIGA 1 Y EL BLANCO	90

TABLAS

TABLA I - COMPARACIÓN DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES DEL DDGS..... 25

TABLA II - COMPOSICIÓN DE LOS FILMS PROVENIENTES DEL DDGS, LIBRE DE ACEITE Y PROTEÍNAS, BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE EXTRACCIÓN..... 29

TABLA III - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS FILMS CONFECCIONADOS DE LOS COMPONENTES DE CADA EXTRACCIÓN 30

TABLA IV - DISTRIBUCIÓN DE LA FRACCIÓN DE PROTEÍNAS EN EL MAÍZ CLASIFICADA SEGÚN SU SOLUBILIDAD 35

TABLA V - COMPARACIÓN DE LOS CAMBIOS EFECTUADOS LUEGO DE CADA PASO DEL PROCESO DEL BIOETANOL, EN COMPARACIÓN A 3 PLANTAS 38

TABLA VI - RESUMEN DEL APROVECHAMIENTO DEL DDGS 59

TABLA VII- COMPOSICIÓN DEL DDGS DE PROVEEDORES ARGENTINOS 70

TABLA VIII - COMPOSICIÓN DEL DDGS SEGÚN SPIEHS ET AL, 2002 Y BELYEA ET AL, 2004..... 71

TABLA IX - COMPOSICIÓN DE DDGS Y SU MATERIAL CELULÓSICO..... 72

TABLA X - COMPOSICIÓN DE DDGS POR XINYI E ET AL, 2010 72

TABLA XI - RESULTADO OBTENIDO A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE AGUA OXIGENADA Y SOLUCIÓN DE HEMICELULOSA. 80

TABLA XII- COMPARACIÓN DE LOS RENDIMIENTOS DE HEMICELULOSA 85

TABLA XIII - COMPARACIÓN CON OTROS AUTORES DE LA VARIACIÓN DE TURBIDEZ ENTRE EL PRIMER INSTANTE Y EL DÍA 7..... 98

TABLA XIV - REGISTRO DE ABSORBANCIAS DEL MOMENTO A 117

TABLA XV - CÁLCULO DE TURBIDEZ PARA EL MOMENTO A 117

TABLA XVI – REGISTRO DE ABSORBANCIAS DEL MOMENTO B..... 118

TABLA XVII – CÁLCULO DE TURBIDEZ DEL MOMENTO B 118

TABLA XVIII - REGISTRO DE ABSORBANCIAS DEL MOMENTO C 119

TABLA XIX- CÁLCULO DE TURBIDEZ DEL MOMENTO C 119

TABLA XX - COSTOS VARIABLES DE PRODUCCIÓN..... 120

TABLA XXI - INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS 151

TABLA XXII- INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA TRIANGULAR 152

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

Fue un largo camino el poder llegar al final de este trabajo, en el medio pasaron muchas personas que nos brindaron todos sus conocimientos sobre diversos temas y aportaron algo valioso para construir esta tesis, por lo que estamos muy agradecidos con todos ellos y principalmente con el equipo de profesores de UADE. Queremos resaltar y agradecer particularmente la ayuda recibida por Martín Piña y Pablo Rossito, quienes nos guiaron y aportaron parte de su experiencia profesional a lo largo de este año y medio.

Los materiales utilizados y los equipos con los que se trabajaron no fueron siempre fáciles de conseguir, pero existieron personas que ajenos a nosotros y a la institución pusieron a nuestra disposición la materia prima o las instalaciones, por eso queremos reconocer la ayuda recibida por todos ellos y especialmente la de Susana Gregoriotti y de Martín Arredondo quienes nos brindaron la burlanda de maíz de la planta Bio4, de la provincia de Córdoba, Argentina. También la de Martín Pereira, Nicolás Vidal y Cintia Rougier, de la planta de Arcor San Pedro, quienes abrieron las puertas de la planta para guiarnos en los procesos de obtención del bioetanol, elaboración de productos alimenticios y responder todas nuestras dudas.

Por supuesto a todas esas personas que nos ayudaron en diferentes puntos de este trabajo, y a todos, por estar con nosotros, GRACIAS!

Quisiéramos dedicar este trabajo a nuestras familias que nos apoyaron durante toda la carrera y a todas aquellas personas que nos ayudaron a superarnos.

Resumen

La burlanda de maíz, entendida como granos de destilería secos con solubles (DDGS), es un subproducto del proceso de obtención del bioetanol llevado a cabo por fermentación de los granos del maíz. Considerando que dicha industria se encuentra en crecimiento y teniendo en cuenta que del rendimiento del proceso se obtiene por cada 100kg de granos de maíz se 40.11 de alcohol, 32,3 kg CO₂ y 32,2 kg de DDGS, el presente trabajo busca darle mayor valor agregado a los DDGS en la industria de los alimentos. Por lo que se investigaron diferentes opciones utilizando a este como materia prima.

Junto con los estudios de la composición química de los DDGS se halló que la hemicelulosa se encuentra en un gran porcentaje y según investigaciones pasadas esta podría ser un buen emulsionante. Para esto, los DDGS se someten al tratamiento de Na(OH) al 1%, a 120°C por 1 hora a 2 bares, centrifuga a 3600rrpm y separación de hemicelulosa A de la B mediante la variación del pH con H₂S₀₄ al 35%, centrifugación, separación de impurezas con alcohol y secado. Obteniendo un rendimiento de 3,67g de Hemicelulosa B por cada 100g de DDGS. Se evaluaron los costos variables para su obtención.

Se desarrolló una bebida emulsionada con esta para verificar sus propiedades emulsionantes a lo largo del tiempo y contrastarlas contra la goma arábica. Para ello se calculó la turbidez en base a la absorbancia medida a lo largo de 10 días a 650nm en cubetas de 1cm. Los resultados obtenidos se compararon con los de otros autores, viendo que la Hemicelulosa B estabiliza mejor la emulsión a lo largo del tiempo que la goma arábica. Sin embargo aporta mayor turbidez inicial, color, olor y genera sedimentos. Se buscó obtener el perfil sensorial del producto final y su posible posicionamiento en el mercado, pero por los resultados obtenidos en esta etapa queda abierto a una segunda fase para un futuro proyecto de investigación.

ABSTRACT

The soluble dried distillers grains (DDGS) is a byproduct of the production of bioethanol carried out by fermentation of corn grains. Whereas the industry is growing and taking into account that the process performance is obtained for each 100kg of grain corn 40.11 alcohol, 32.3 kg and 32.2 kg CO₂ DDGS, this paper seeks to give added value to DDGS in the food industry. As options were investigated using this feedstock. Along with studies of the chemical composition of the DDGS it was found that the hemicellulose is in a great percentage and according to past research this could be a good emulsifier. For this, DDGS undergoing treatment Na (OH) 1%, at 120 for 1 hour to 2 bars, and centrifugal separation 3600rpm hemicellulose B by varying the pH with 35% H₂SO₄, centrifugation, removal of impurities with alcohol and drying. Obtaining a yield of hemicellulose B of 3,67g per 100g of DDGS. Variable costs were evaluated for their preparatio

An emulsified drink developed this to verify its emulsifying properties over time and compare them with gum arabic. For this turbidity to the absorbance measured it is calculated based on over 10 days at 650nm in 1 cm cuvettes. The results obtained were compared with those of other authors, the hemicellulose B seeing better stabilizes the emulsion over time gum arabic. However brings higher initial turbidity, color, odor and generates sediments. He sought to obtain the sensory profile of the final product and its possible positioning in the market, but because of the results obtained in this stage it could not be performed and should be part of a future project.

1. INTRODUCCIÓN

¿Qué tan descabellado puede ser pensar que un subproducto destinado para alimento balanceado, podría ser usado para alimentación humana? En la historia de la industria de los alimentos muchos de aquellos subproductos considerados como residuos molestos se descartaban directamente y otros subproductos se derivaban para el uso agropecuario. Hoy en día, muchos de estos residuos o subproductos son materias primas o inclusive productos de la industria de los alimentos con variadas aplicaciones, como es el caso de la lecitina de soja proveniente de las aceiteras, el suero de la leche de las queseras o pectinas de la epidermis de las frutas y vegetales. Entonces, si estas industrias pudieron ¿por qué no desarrollar un producto o materia prima para alimentos partiendo de un subproducto voluminoso producido por las fábricas de Bioetanol?

Debido a las políticas energéticas impulsadas desde el Estado Nacional para disminuir las importaciones de energía; como la nueva resolución 44/2014 que incrementa el porcentaje de corte de naftas con bioetanol del 5% al 10%, la producción del bioetanol en base a maíz, se ha visto aumentada tal como lo ilustra el Grafico 1, tan solo en el primer periodo del 2014 la misma alcanzó los 190.850m³ (Bolsa de Comercio de Rosario, 2014). En consecuencia los volúmenes de su subproducto, DDGS, se han visto incrementados, tan solo con la producción del primer periodo del 2014, a 744,14 toneladas.

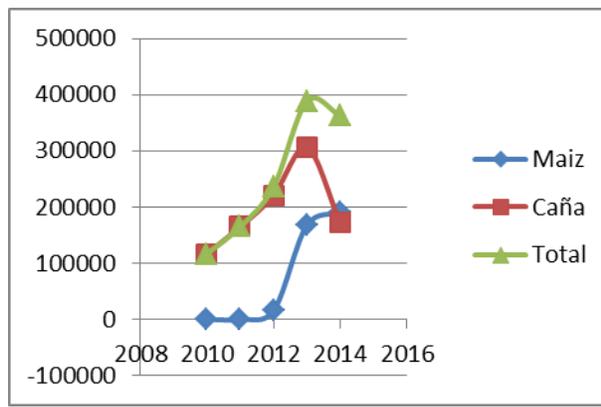


Gráfico 1 - Evolución de la producción del bioetanol producción

Los granos de destilería actualmente en Argentina, como en muchas otras partes del mundo, se destinan a la alimentación de animales de cría por ser ricos en nutrientes. Justamente, debido a esta “riqueza” se considera al DDGS como un potencial punto de partida para la confección de diversos productos muy tentadores en diferentes industrias, por ejemplo, gracias a su alto contenido en fibra se podría utilizar en la industria de los alimentos o en la e envases. En consecuencia, este trabajo busca destinar el uso de la burlanda de maíz (DDGS) en el desarrollo de otro producto, además de la de alimentos balanceados, para así darle un mayor valor agregado. Teniendo en consideración que se trata de una tesis de alimentos, los usos a considerar se encuentran dentro de este campo.

A tal efecto, se estudiaron investigaciones donde se innovaran productos con DDGS de maíz o de diferentes cereales. Luego de analizar la información, se pudo observar que muchas de las investigaciones apuntaban a la incorporación de DDGS, como sustituto de las harinas de uso habitual, para otorgarle al producto terminado mayor contenido de fibras, proteína y/o aminoácidos (Rasco et al 1987, Rasco et al 1989, Denise Brochelti y Marjorie P. Penfield 1989). En cambio, otras investigaciones partían de los componentes químicos tales como: el material celulósico (celulosa, lignina y hemicelulosa) y proteína para confeccionar nuevos productos (Yadav et al 2005, Xinyi E et al 2010, Lopez F et al 2010, entre otros). Si bien existen diversas posibilidades de aprovechamiento del DDGS, se consideraron algunos parámetros para poder realizar la elección del camino a seguir. Así, se descartaron diferentes tipos de desarrollos debido a: los tiempos con los que se cuenta

para su confección, la disponibilidad de equipos, antecedentes de productos desarrollados con DDGS que no han sido viables, y basados en: (1) la composición química de los DDGS (principalmente en el porcentaje de fibra), (2) investigaciones pasadas que han demostrado el uso de la hemicelulosa y la capacidad que tiene la hemicelulosa B (fracción de hemicelulosa soluble), comprendida en el pericarpio del maíz, para emulsionar (Yadav. Et al 2005 y 2008, Xinyi E 2010, Gaspar et al. 2006), (3) el aumento en las importaciones de la goma arábica (principal emulsionante utilizado en la industria de los alimentos) y el crecimiento de la industrias de las bebidas saborizadas se intenta desarrollar un emulsionante partiendo de la extracción de hemicelulosa contenida en los DDGS.

El trabajo se divide en dos etapas diferentes. La primera, iniciada luego de las investigaciones de los diferentes desarrollos que podrían ser factibles llevar a cabo, se busca la obtención de la hemicelulosa, a través de un tratamiento en el que el DDGS es sometido a alta temperatura, presión y diversos pH. Se incluye el cálculo de los costos variables para su obtención. Mientras que la segunda etapa se basa en constatar que la hemicelulosa obtenida sea efectivamente un buen emulsionante, O/W (aceite en agua), elaborando una bebida cítrica usando saborizante de naranja en base oleosa, y comparar si la emulsión preparada con hemicelulosa puede ser igual o mejor que una emulsión, de características semejantes, utilizando goma arábica.

Para la elección del método de extracción, de la hemicelulosa, se analizaron varias investigaciones donde la misma se realizaba tanto partiendo del DDGS como de la burlanda de la molienda seca o húmeda del maíz. Así, basados en diferentes investigaciones (Gaspar et al. 2007, Xinyi E. et al, 2010, Doner et al, 2001), se consideró que el mejor método sería utilizar un tratamiento con H_2O_2 a $120^\circ C$ a una presión de 2 atm. en autoclave; ya que los subproductos no sería tan contaminantes como sería en el caso del uso de $Na(OH)$ o $Ca(OH)_2$, y se obtendría una solución más clara por su propiedad blanqueadora. Sin embargo, podría traer consecuencias en el rendimiento de la extracción de la hemicelulosa según lo expuesto por Xinyi E et al, 2010. De todas formas, como el tratamiento de peróxido de hidrógeno a alta temperatura y presión puede ser considerado

una técnica de riesgo, se adecuó el método y se optó por la extracción en medio alcalino a iguales condiciones de presión y temperatura

El desarrollo de la segunda etapa se fundamenta desde los conceptos básicos de una emulsión. Por definición, una emulsión consiste en dos líquidos inmiscibles (usualmente aceite y agua), con uno de los líquidos dispersos en forma de pequeñas gotas en el otro, en la mayoría de los alimentos emulsionados, el tamaño de estas va en el rango de 0,1 a 100 μm . La sustancia que conforma la gota se la conoce como fase dispersa, discontinua o fase interna, en contraste, la fase que forma la del líquido contenedor se la llama fase continua o fase externa (McClement et al 2005).

Las emulsiones pueden ser clasificadas de acuerdo con la distribución espacial relativa de la fase grasa y acuosa. Si consiste en gotas de aceites dispersas en una fase acuosa, se denomina emulsión aceite en agua u O/W (por sus siglas en ingles “oil in water”), ejemplo leche, mayonesa, crema, aderezos, bebidas, etc. Si el sistema consiste en gotas de aguas dispersas en una fase grasa, se denomina emulsión agua en aceite o W/O (por sus siglas en ingles “water in oil”) como por ejemplo la margarina (McClement David J., 2005).

De todas formas, la dispersión de líquidos insolubles no son realmente emulsiones al menos que tengan suficiente estabilidad como para mantener la dispersión por un periodo de tiempo. La estabilización de una emulsión es alcanzada utilizando emulsionantes. Estos son agentes que facilitan la formación de la emulsión bajando la tensión interfacial entre el aceite y el agua e impartiendo estabilidad formando un “film” protector alrededor de las gotas dispersas (Phillips Lance G., 1994).

Aún, aunque se haya adicionado un emulsionante, las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables y eventualmente se romperán si se dejan por un periodo de tiempo suficiente. Por lo que, para mantener la dispersión de la fase dispersa en el tiempo, el tamaño de las gotas es un factor de mucha importancia. Así que para poder prolongar la estabilidad, además del uso de emulsionantes, se utilizan homogenizadores que reducen el tamaño de las partículas en la fase dispersa y del agente emulsificante que fue

adicionado. Como consecuencia, se disminuye la tensión interfacial entre las fases (a mayor tensión entre las fases, más difícil se torna mantener la emulsión estable) aumentando el área interfacial (Gennaro Alfonso R. 2003).

En el gráfico 2 se puede observar la relación entre el área interfacial y el diámetro de las gotas. Esta, presenta una relación inversamente proporcional, donde, al aumentar el área el diámetro de la gota disminuye el área interfacial, por lo que se requiere aplicar una energía cada vez mayor par poder obtener gotas de menor tamaño (Jian Zhang, et al, 2011).

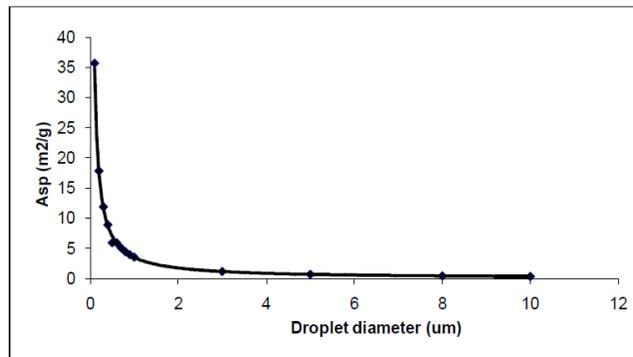


Gráfico 2 - Relación entre el diámetro de las gotas y el área interfacial (Asp.)

Calculado en base a una emulsión de aceite de naranja.

Fuente: Zhang Jian et al, 2011.

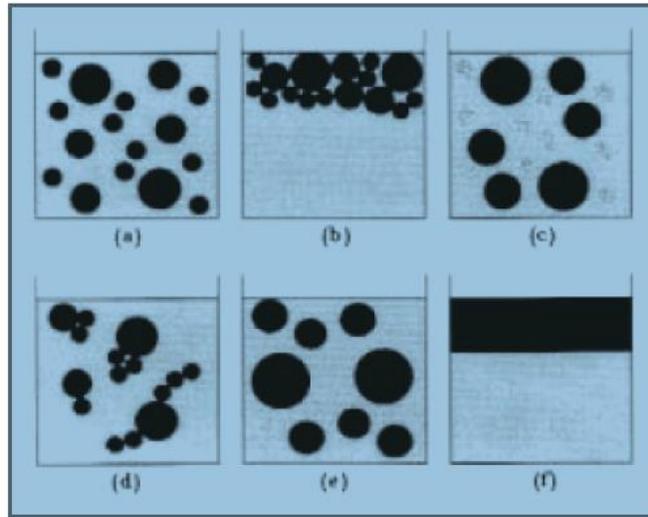
Tomando estos conceptos, se prepararon las soluciones bases concentradas y se les aplico una agitación vigorosa para obtener un buen tamaño de gota y homogenizar la solución. Luego, se desarrollaron dos soluciones emulsionantes por cada solución base obtenida y nuevamente se homogeneizaron vigorosamente.

Finalmente, se preparó una dilución por cada solución emulsionante, diluyéndola con 125ml de solución al 10% de sacarosa, 0,1% benzoato de sodio y 0,3% ácido cítrico. Las homogenizaciones se llevaron a cabo mediante el empleo de un mix de alta velocidad que utiliza turbina o hélices para pre-mezclar emulsiones, para líquidos de baja viscosidad, mediante la acción de corte. Aunque la mejor opción hubiera sido utilizar un homogenizador a presión, debido a que el tamaño de las gotas formadas es menor y

más homogéneo, ya que bombea la emulsión a alta presión y genera por la diferencia de presión pequeñas partículas.

Siguiendo la técnica descrita arriba se realizó la bebida utilizando goma arábiga. Esta es el emulsionante predilecto para realizar bebidas emulsionadas, debido a sus características de emulsionante y estabilizante otorgadas por la cadena de polipéptidos unida a su cadena. Esta goma proviene del exudado de los árboles de acacia que se encuentran únicamente en República de Sudan, Senegal, Mauritania y Nigeria. Son árboles que tardan 6 años en crecer y establecerse, y crecen en el desierto del Sahara. El exudado se recoge a mano (Yadav P. et al, 2007). Por lo que, si se pudiera realizar la extracción de hemicelulosa de los DDGS para emplearla como emulsionante, y se verificara que es igual o mejor de buena que la goma arábiga, no solo se estaría dando mayor valor agregado al DDGS y a la industria del bioetanol, sino que también se contaría con un sustituto nacional que podría competir con los emulsionantes importados.

Luego del desarrollo de las dos bebidas, se realizaron las comparaciones por diferentes técnicas de monitorear de los procesos de inestabilidad de las emulsiones. La inestabilidad esta dada por un número de diferentes tipos de procesos físicos y químicos, en este trabajo se tuvo en cuenta los procesos físicos. Estos resultan de la alteración de la distribución espacial u organización estructural de las moléculas, tales pueden ser cambios reversibles: cremado, floculación, o irreversibles como; coalescencia, coalescencia parcial, fase invertida y Ostward ripening, representados en la figura 1. Por lo que, si las emulsiones fueran estables deberían de resistir los cambios en sus propiedades a lo largo del tiempo: cuanto más estable sea la emulsión más lento irán ocurriendo estos cambios (McClement David J., 2005).



Mecanismos más importantes de ruptura de emulsiones: a) emulsión estable; b) cremado; c) maduración de Ostwald; d) floculación; e) coalescencia; f) separación de fases.

Figura 1 - Mecanismos de inestabilidad de una emulsión

Además de la estabilidad físico-química de un producto, otro factor importante es la aceptación por parte del consumidor. Ya que, al final, estos son los que adquirirán el producto y dirán si el desarrollo es o no factible. Para esto, la evaluación sensorial juega un rol importante, debido que no solo permite diferenciar si el uso de la hemicelulosa B es mejor o no que el de la goma arábica, sino que también permite saber si será aceptada.

Considerando que el emulsionante desarrollado se aplica para emulsionar el sabor adicionado, que proviene de una materia prima que ha sufrido varios procesos químicos que pudiera otorgar sabor no buscado al producto y que no se tienen antecedentes sobre el perfil sensorial de esta, la evaluación sensorial apunta a conocer las características de sabor y aroma del producto final. Aunque, también nos permite conocer si el consumidor acepta el uso de hemicelulosa B y la preferencia del mismo al uso de esta o de la de goma arábica.

Por lo que, por un lado las técnicas afectivas, de preferencia y aceptabilidad, buscan obtener información sobre las características sensoriales, mientras que, las técnicas analíticas de diferenciación y preferencia dan respuesta a si la hemicelulosa es mejor, o no, que la goma arábica para emulsionar las bebidas, según el panel sensorial.

Por todo lo expuesto arriba se desarrolla el presente trabajo en busca de ampliar el uso de los DDGS aplicándolo a la industria de los alimentos. A su vez, calcular sus costos variables y, en caso de ser factible, los de las maquinarias necesarias para poder llevarlo a escala industrial. Si se llegase a un producto viable, realizar un análisis del mercado para el cálculo del volumen de producción necesaria para cubrir el mercado disponible.

2. ANTECEDENTES

Obtención del DDGS

Se entiende por bioetanol al alcohol etílico (etanol) obtenido a partir de materia vegetal, normalmente maíz, sorgo, trigo, caña o remolacha. No es considerado solamente como un recurso renovable sino también como un biocarburante, es decir, que por sus características fisicoquímicas resulta adecuado para sustituir a la nafta de forma parcial o total. Como se detalla en la Figura 2, el proceso de obtención del bioetanol en base a maíz comprende las etapas de Molienda, cocción, licuefacción, sacarificación, fermentación alcohólica (donde se produce el alcohol propiamente dicho por ataque de la glucosa por parte de las levaduras) y destilación que permite la separación del agua del alcohol.

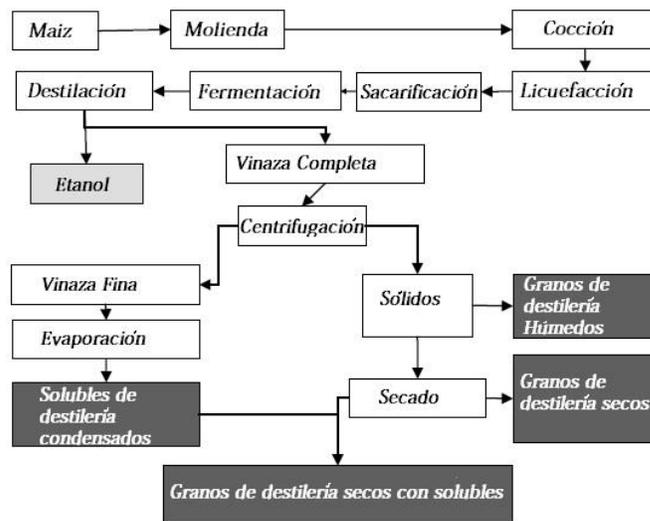


Figura 2 - Diagrama de flujo de la industria de Bioetanol

Fuente: Elaboración propia.

Existen en la actualidad dos métodos de molienda: Húmeda, el grano se condiciona y se separan sus componentes principales aprovechándolos para diferentes fines. Luego se seca y muele con todos sus componentes principales.

Este trabajo se desarrolla desde la molienda seca, siendo la que mayor interés presenta por obtener la harina de maíz, que es la materia prima para la producción del Bioetanol en base a maíz. Para la molienda seca se puede utilizar un molino a martillo, donde el tamaño de las partículas de harina está definido por la velocidad de trabajo, la cantidad de martillos y el tamaño de la malla. Así, se obtienen partículas entre 1 mm y 5 mm, teniendo en cuenta que el tamaño de partícula afecta el rendimiento del alcohol obtenido (US GRAINS COUNCIL).

Luego de la molienda, la harina de maíz es cocida junto con agua y vinaza reciclada a temperaturas entre 90° y 165°C. Se lleva a temperatura de licuefacción (alrededor de 60°C), donde se produce la hidrólisis del almidón a dextrina mediante la ruptura de enlaces internos glucosídicos α -D1-4 dando como resultado moléculas de diferentes unidades de glucosa. De esta forma se busca tener acceso al almidón, y disminuir el tamaño de la estructura para facilitar el acceso de las enzimas en el siguiente paso. Para la siguiente etapa, se agregan amilasas termoestables para degradar las dextrinas a glucosa por el ataque de los enlaces glucosídicos de los extremos no reductores (sacarificación). Se ajusta la temperatura a 30°C y se le agregan levaduras previamente activadas. Las más utilizadas pertenecen a la especie *Saccharomyces Cerevisiae* porque pueden producir etanol hasta una concentración de 18% p/v (Pretorius *et al*, 2000).

La fermentación alcohólica es un proceso exotérmico y si no se quiere perjudicar el rendimiento de la operación, se la debe refrigerar monitoreando que no superen los 35°C. Por otro lado, se debe controlar la contaminación con otros microorganismos (principalmente *Lactobacillus spp.* y levaduras silvestres¹) que compitan con las levaduras por los nutrientes y generen subproductos indeseados e inhibitorios del crecimiento de la levadura como ácido acético y ácido láctico. Para ello se suelen usar antibióticos (Narendranath y Power, 2005).

¹ Levaduras silvestres: Especies no cultivada, encontradas de forma natural en la naturaleza – Togores Hidalgo José, *Tratado de Enología 2011*,

Luego, la mezcla es bombeada hacia un sistema de columna de destilación, normalmente se utiliza la destilación fraccionada porque tiene mejor rendimiento. La destilación consiste en separar el alcohol formado del resto de los sólidos y líquidos. Para esto, se somete a un tratamiento de calor donde se hierve y el alcohol que sale con un 90 al 96% de pureza se separa por la parte superior, mientras el resto de los componentes se separan por la base para ser tratados como subproductos. Los sólidos y el agua con solubles remanente de la destilación (Whole Stillage o vinaza completa), se separan mediante centrifugación. El líquido, Vinaza Fina, se lleva al evaporador para quitarle humedad y obtener solubles de destilería condensados (CDS o Condensed Distiller Solubles). Por otro lado, los sólidos toman el nombre de granos de destilería húmedos (WDG o Wet Distillers Grains) y pueden ser secados para obtener los granos de destilería secos (DDG o dry distillers grains). Si se mezcla WDG con CDS se obtiene granos de destilería húmedos con solubles (WDGS o wet distillers grains with solubles) y si se los seca se obtiene granos de destilería secos con solubles (DDGS, por sus siglas en inglés), con una humedad que se encuentra entre el 10 al 12%.

De esta forma, los DDGS están compuestos por la materia no fermentada de los granos originales, levaduras y nutrientes solubles (Fundación Española para el desarrollo de la Nutrición Animal). Su composición química varía ligeramente dependiendo de la región donde se encuentre radicada la empresa elaboradora y el tratamiento utilizado (Spiehs et al, 2002). Para ejemplificar esto en la figura 3 se ilustran 5 muestras de DDGS que provienen de diferentes plantas extractivas. Si bien la relación color/composición química está en estudio, se cree que a colores más claros de DDGS la composición química de los mismos es superior (U.S Grain Council).

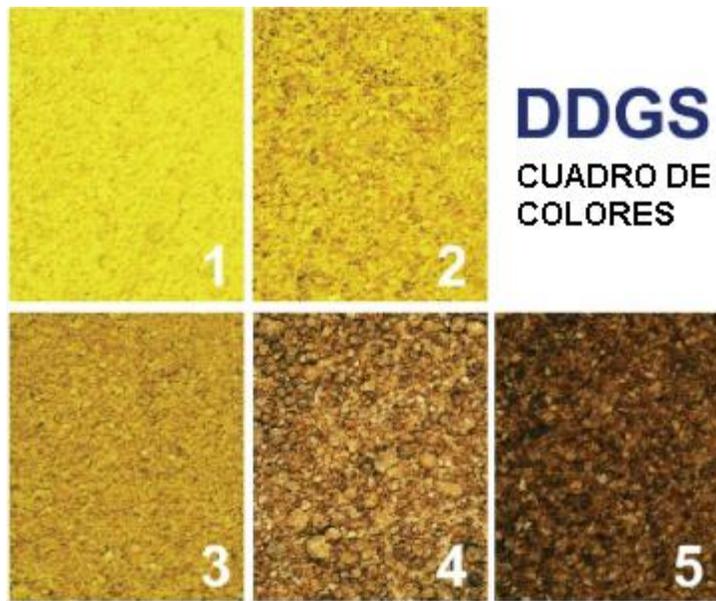


Figura 3 - Variación del color del DDGS luego de procesos de secado

En la figura se ilustra como varia la coloración del DDGS cuando es sometido a la extracción del alcohol y luego a secado. Si bien el producto final es el mismo, en todos los casos los procesos utilizados dan DDGS de coloración distintas pudieron utilizarse como indicadores de calidad. Donde las coloraciones más claras tienden a ser de mayor calidad. **Fuente:** Distiller's Dried Grains with solubles 3ra edición.

De todas formas, sin importar en donde se procese, el contenido en fibra, proteína, materia grasas y ceniza se concentran entre 2,2 a 3 veces en relación al grano ingresado (Vergagni G., 2006). Por consiguiente, se obtiene un subproducto de alto nivel nutricional, el cual se aprovecha para comercializar como alimento balanceado para animales de cría.

En los últimos años, en Argentina, la industria del bioetanol se vio en crecimiento fomentada por la Ley de biocombustibles 25.093 y las nuevas políticas energéticas que pretenden reducir el volumen de energía importada. Se estima que este crecimiento se mantendrá, ya que apoyados en el artículo 8 de dicha ley, se permite a la autoridad competente modificar el porcentaje añadido de bioetanol en nafta, estos valores se han incrementado pasando de un corte del 5% al 10% .

En consecuencia, existe una preocupación por parte de los productores, ya que teniendo en cuenta que por cada 100 kg de maíz procesado se obtienen 40,57 litros de alcohol, 32,14 kg de DDGS y 32,14kg de CO₂ (Ustarroz F. et al, 2010), un aumento en la producción del biocombustible en base de maíz traerá acoplado un alto crecimiento en la producción de DDGS.

Desarrollos en base a DDGS

Desarrollos usando DDGS entero

El aprovechamiento de la torta de maíz (burlanda) del proceso de bioetanol se ha venido estudiando ya hace varios años, principalmente en los Estados Unidos ya que cuenta con la mayor producción de bioetanol en base a maíz. Estas investigaciones se han centrado en darle mayor valor agregado a los DDGS incorporándolos como materia prima en el desarrollo de productos de diferentes industrias como: la de papel, envases, alimentos balanceados y alimentos de consumo para humanos (Yadav P. Madhav et al, 2005). A lo que refiere a esta última industria, diferentes investigadores centraron sus estudios en la producción de alimentos adicionando DDGS en diferentes porcentajes para obtener productos que no sean solamente aceptables, sino que también den un aporte nutricional y sean saludables. Los primeros desarrollos se centran principalmente en productos de pastelería y panadería donde se reemplaza un porcentaje de la harina de trigo por DDGS proveniente del trigo como ejemplo: galletas de azúcar (Choc Tsen C. 1982), pan de banana, galletitas con chips de chocolate y panes con un agregado de hasta un 30% de DDGS (Rasco et al, 1987) e insumos para el uso de la elaboración de productos de pastelería (Rasco et al, 1989).

Lo que respecta al desarrollo de productos con DDGS de maíz, Liu Sean X. et al 2010 y Saunder J.A et al 2014 estudiaron el desarrollo de productos con adición de diferentes porcentajes de DDGS. Liu Sean X. et al 2010 desarrollo un pan de maíz donde reemplazo a la harina de maíz, utilizada en la receta, por DDGS en diferentes porcentajes.

Aunque, si bien, la denominación del producto es pan de maíz este se elabora con partes

iguales de harina de trigo que de maíz. Las ventajas de utilizar esta clase de pan, es que las características de textura y coloración impartidas por el DDGS pueden ser enmascaradas ya que los panes de este estilo poseen una textura (más quebradiza) y coloración (amarilladorada) diferentes a los panes de trigo. Para su elaboración no se requiere fermentación, por lo que no tiene complicaciones con el exceso de fibra que interfiere con el desarrollo de la masa.

Lo que respecta a la coloración del producto terminado, al aumentar el contenido de DDGS se torna más oscuro (principalmente la corteza), el color amarillo disminuye y el pan se vuelve más rojizo. La incorporación de DDGS no afecta los valores finales de aceite, ceniza, actividad acuosa, humedad y volumen en comparación con los panes de maíz regular. Estos resultados, Liu Sean X. et al 2010, se los adjudica a que la harina de maíz y el DDGS presentan una composición aproximadamente parecida, donde no se adicionan cantidades más elevadas de ceniza o fibra, que pudieran interferir en el desarrollo del pan. A medida que se incorpora DDGS, la textura se hace más blanda y la tenacidad (presión máxima necesaria para la deformación) decrece.

En contraste Saunder J.A et al 2014, reemplazó un porcentaje de harina de trigo por DDGS para elaborar un pan común. Para esto utilizó una mezcla de harina de trigo-DDGS con diferentes porcentajes de sustitución y comparó diversos parámetros de composición y reológicos como tenacidad, estabilidad, absorción de agua, gelatinización y ruptura de proteínas. Observó que al aumentar el contenido de DDGS aumenta: (1) el contenido de cenizas, tanto, en la mezcla de harina como en el producto terminado, por adicionar un producto que tiene partes nutritivas y no nutritivas, (2) el contenido de humedad en la harina, debido a que el DDGS (12,4%) es más húmedo que la harina de trigo (7,4%), y en el producto terminado, ya que, la fibra que compone al DDGS absorbe más agua al ablandarse dando un producto con mayor humedad, (3) se incrementa el contenido de proteínas, por el alto contenido de las mismas en el DDGS. Además, el porcentaje de DDGS adicionado causa cambios significativos en los valores de estabilidad, tenacidad, absorción de agua, gelatinización, ruptura de proteínas y en la velocidad con la que alcanza la estabilidad de cocción. Así, a mayor contenido de DDGS: menor estabilidad,

esta relación está dada por la disminución del contenido de proteínas que forman el gluten, incrementó de la humedad por aumento del contenido de fibras. La velocidad de estabilidad de cocción también aumenta, lo que significa que a medida que se aumenta la cantidad de DDGS se requiere menor tiempo para estabilizar el proceso. Lo que respecta al color, a medida que se incrementa la cantidad de DDGS el color del pan se torna más rojizo debido a la reacción de maillard.

El volumen del producto al igual que la forma y el tamaño, se ven afectados de formas negativas por el aumento del contenido del DDGS. Este defecto esta asociado con la dilución de las proteínas que conforman el gluten (la hidratación de la fibra compromete la formación de la estructura del gluten afectando principalmente a los productos fermentados con levaduras). La estructura del gluten también se ve afectada por la presencia de albúmina y globulina, proteínas presentes en los DDGS.

Liu Sean X. et al 2010 concluyo que no puede incorporarse mas del 15% en panes de este estilo mientras que el valor al que arribo Saunder J.A et al 2014 asciende al 25% (debido a que se reemplazó harina de maíz y no de trigo por DDGS), ya que luego de estos valores los panes no presentaban características aceptables.

Lo que respecta al estudio sensorial de productos desarrollados con DDGS del maíz Brochelti et al 1989 desarrolló muffins, donas con especias y galletas de arroz con melaza sustituyéndoles diferentes porcentaje de harina de trigo (10, 20 y 30%) por DDGS de maíz y estudió la aceptabilidad por medio de un panel sensorial. Si bien, el agregado de DDGS aumentaba el contenido de proteína y de fibra la aceptabilidad disminuía ya que el DDG comparado con la harina de trigo es más ácido, absorbe mayor cantidad de agua y aceite y da una coloración más oscura. Los productos que contenían un 10 y 20% fueron aceptados por el panel (Brocheleti et al, 1989).

También se ha intentado desarrollar spaghetti con agregado de CDG de maíz (granos de destilerías sin agregado de solubles), pero la concentración de CDG que podía ser adicionado no podía superar el 10%, ya que el producto pasaba a ser no aceptable por el panel sensorial. Si bien adicionando este porcentaje el producto se considera bueno y se

vio que aportaba proteína, fibra dietara y aminoácidos esenciales, no fue tan bueno como el spaghetti control (elaborado sin CDG) (V. WU et al. 1987)

En la actualidad no existe en el mercado de los alimentos, de consumo humano, ningún producto con derivados de DDGS (Xinyi. E, 2010). Esto se relaciona con la inferioridad de la calidad del sabor, color (debido a pigmentos relacionados con el color propio del grano, agregado de solubles y tiempo de secado) y tiempo de vida útil, más cortos.

Desarrollos usando los componentes químicos del DDGS

Si bien, la adición de DDGS como materia prima en los productos no fue muy exitosa, mirando la Tabla I se puede notar que posee un alto porcentaje de proteínas y fibra que pueden ser aprovechadas para el desarrollo de un potencial aditivo².

Tabla I - Comparación de los principales componentes del DDGS

Referencias(**)	Proteínas	Lípidos	Fibra	Ceniza
Dong et al 1987	24,7%	11%	46,1%	12%
Spiels et al 2002	28,7 – 31,6	10,3 – 11,7	36,7 - 49,1	5,2 - 6,7
Xinyi E. et al 2007	28,6	11,09	ND*	4,12
Nuez-Ortin, Wal G. 2010	26,8 – 33,7	3,5-12,8	25,0 – 51,3	2,0 – 9,8

Elaboración propia en base a fuente citada en referencia (**)

² Ingrediente agregado a los alimentos intencionalmente, sin el propósito de nutrir, con el objeto de modificar las características físicas, químicas, biológicas o sensoriales, durante la manufactura, procesado, preparación, tratamiento, envasado, acondicionamiento de un alimentos, ello tendrá lo puede esperarse razonablemente que tenga como resultado, que el propio aditivo o sus productos se conviertan en un componente de dicho alimento (Código Alimentario Argentino).

(*ND: dato no proporcionado por el investigador

2.1.1.1. Fibra

Por fibra se entiende a la sustancia proveniente de los vegetales, resistentes a la hidrólisis enzimática del tracto digestivo de los mamíferos (sin tener en cuenta los microorganismos presentes en él). La mayoría de la fibra se encuentra en las paredes celulares de los vegetales (Scaramal, 2000). Según la función que cumplen dentro del tejido vegetal se puede dividir la fibra en tres grandes grupos:

1- Polisacáridos Estructurales: Están asociados con la pared celular, incluyen los polisacáridos no-celulósicos (hemicelulosa y algunas pectinas) y celulosa.

2- No-polisacáridos Estructurales: Predominantemente ligninas.

3- Polisacáridos No-Estructurales: Incluyen gomas y mucílagos secretados por las células, y polisacáridos tales como carrageninas y agar-agar provenientes de las algas marinas.

Los polisacáridos que conforman la fibra difieren en sus componentes químicos. Así, la celulosa es un polímero lineal conformado por β -D-glucopiranososa unida por enlaces β 1-4 glucosídicos, sin cadenas laterales, que por su gran número de grupos hidroxilos, forma uniones inter-intramoleculares de hidrogeno dando una estructura cristalina (Hallac et al 2011); las hemicelulosas son polímeros de pentosas y hexosas, con cadenas laterales en las que se presentan diferentes azúcares y ácidos glucurónicos (detalladas más adelante); las pectinas son polímeros de ácido galacturónico con cadenas laterales con diferentes azúcares. La lignina es un polímero no polisacárido que contiene unidades de fenilpropano derivados de los alcoholes sinapílico, coniferílico y cumarílico (Moron C. et al, 1997).

Se pueden distinguir distintos tipos de fibras: Fibra Bruta, Fibra neutro detergente, fibra acido detergente y fibra dietética.

La fibra bruta (rica en celulosa), es el residuo libre de ceniza que queda después de una digestión rigurosa con ácido y álcalis caliente. Representa el 20-50% del total de la fibra ingerida. La determinación de la fibra bruta es puramente convencional. Aunque, no indica con precisión el contenido de carbohidratos estructurales y sustancias ligadas a los mismos, se observa que a mayor contenido de fibra bruta menos digestible resulta ser el alimento analizado.

Fibra detergente neutro (FDN), es el resultado que se obtiene al someter a la muestra a una digestión con un detergente en solución neutra de laurilsulfato sódico a pH 7. La solución detergente neutro rompe la pared celular y separa el contenido celular soluble en el detergente, que está constituido por lípidos, carbohidratos solubles, ácidos orgánicos y proteínas. El resultado es una fracción insoluble (fibra neutro detergente) la cual incluye tanto la fibra digestible como la indigestible. La fibra neutro detergente sería un sinónimo de pared celular (celulosa, hemicelulosa y lignina).

Fibra detergente ácido (FAD), es la proporción insoluble del alimento que se obtiene a someter la muestra a una digestión en medio ácido. El resultado es una pared insoluble que estaría constituida por dos fracciones, una menos lignificada y más digestible que incluye a las hemicelulosas (son disueltas en el detergente) y otra más lignificada e indigestible que sería la fibra detergente ácido (celulosa y lignina).

Fibra dietética no es sinónimo de fibra bruta. Es un término genérico que incluye a todos los constituyentes de las plantas que no son digeribles. La fibra dietética se clasifica según la solubilidad en agua ya que es la solubilidad de la fibra es quien determina su funcionalidad fisiológica, estas son; fibras solubles (pectina y gomas) y fibras insolubles (celulosa, lignina y hemicelulosa) (Ballester, 2014). Las primeras en contacto con el agua forman un retículo, donde queda atrapada, formando soluciones de gran viscosidad. Son fibras con gran capacidad de retención de agua destacándose las pectinas, algunas hemicelulosas, las gomas, los mucilagos y los polisacáridos procedentes de las algas. La fibra insoluble se caracteriza por su baja capacidad de formación de soluciones viscosas,

aunque pueden retener algo de agua en cantidades inferiores a las solubles, como la celulosa, la mayoría de las hemicelulosas, y lignina (Gil Hernandez, 2010).

Como se ha mencionado, el hombre no puede digerir ninguno de estos polímeros ya que no cuenta con la capacidad enzimática gástrica apropiada, en tanto, los rumiantes sí lo hacen, gracias a las bacterias del rumen, exceptuando la lignina y la suberina³. Estas bacterias los transforman en ácidos grasos de cadena corta, principalmente ácido acético, que le aportará energía al animal y será precursor de la leche en la vaca. (Scaramal 2000). Esta, entre otras, es la razón por la cual actualmente el DDGS se utiliza para el mercado de alimento balanceado para animales. Si bien, el hombre no puede degradarlas, el material lignocelulósico que la compone (celulosa, lignina y hemicelulosa) la hace una potencial fuente de materia prima para la elaboración de diversos productos como: aditivos utilizados en la industria de los alimentos; espesantes (pectinas), emulsionantes (gomas) o estabilizantes (derivados de celulosa), envases biodegradables e inclusive para la reutilización en la industria del bioetanol, entre otras (Freddon E. et al 2002, Yadav P Madhav et al 2007, Xu Weijie et al 2008, Xu Weijie et al 2008, Li Xin et al 2010, Wang Wei et al 2013, Alvarez–Castillo A et al 2013, Heiikinen et al 2014).

Varias investigaciones se basaron en la capacidad de la celulosa y la hemicelulosa en formar films para la elaboración de envases para alimentos (Zhang 2001, Xu Weijie et al 2008, Alvarez–Castillo A et al 2013, Heiikinen et al 2014). La celulosa se encuentra en un 9-16% en los DDGS y las técnicas para su extracción fueron estudiadas por Zhang 2001 y Xu Weijie et al 2008. Este último, basado en la propiedad de formar films y del poder absorbente de la celulosa, estudio su extracción partiendo del DDGS libre de materia grasa y proteínas. Utilizó cuatro extracciones diferentes: tratamiento con álcali y enzimas glicoamilasas y xiloamilasas (para disminuir impurezas), solución acuosa 5% (NaOH), 1%Na(OH) y 0,5%Na(OH). Luego, cada celulosa extraída se utilizó para realizar un film (uno por cada celulosa) y comparó sus propiedades.

³ Suberina: Principal componente de la pared celular exterior de los órganos subterráneos y de las células de corcho de la peridermis. Es un polímero formada por hidroxí-o-epoxi ácidos grasos unidos por enlaces tipo ester. Lincoln Taiz, Eduardo Zeiger. Fisiología Vegetal. Universitar Jaume I 3ª Edición [530]

Xu Weije et al 2008 observó que la celulosa extraída con solución 5% Na(OH) es la que presenta mejores valores de resistencia a la ruptura y de elongación, Esto esta dado por la óptima relación del contenido de celulosa y hemicelulosa en el film. La hemicelulosa actúa como aglutinante mientras que la celulosa como material reforzante. Si bien el film presenta una calidad inferior al hecho con celulosa pura o de celofane, es más fuertes que los fabricados con: proteína láctea, ácido oleico y zeína, proteína de soja, polietileno de baja densidad y polietileno de alta densidad. Demostrándose que pueden formarse films partiendo del material lignocelulósico.

A continuación se pueden observar las tabla II y III, extraídas del trabajo de Xu Weiji et al 2008 (Extraction, characterization and potential applications of cellulose in corn kernels and Distillers' dried grains with solubles (DDGS)) los valores del rendimiento de cada extracción, el contenido de celulosa e impurezas (hemicelulosa y lignina), humedad y las características de los films obtenidos de cada una de las extracciones, respectivamente.

Tabla II - Composición de los films provenientes del DDGS, libre de aceite y proteínas, bajo diferentes condiciones de extracción.

Treatment condition	5% NaOH + enzymes + 1% NaOH	5% NaOH	1% NaOH	0.5% NaOH
Yield (db%)	7.24 ± 0.36	16.75 ± 0.35	21.38 ± 0.42	26.46 ± 1.45
Cellulose (%)	80.98 ± 0.04	53.59 ± 0.45	40.03 ± 0.28	35.09 ± 0.07
Hemicellulose (%)	12.94 ± 0.27	26.31 ± 0.95	36.67 ± 0.60	34.49 ± 1.97
Lignin (%)	1.12 ± 0.08	1.93 ± 0.26	5.74 ± 0.69	5.65 ± 0.28
Moisture (%)	8.99 ± 0.25	11.73 ± 0.12	10.58 ± 0.08	10.68 ± 0.02

Fuente: Xu Weiji et al, 2008.

*Yield:Rendimiento, Cellulose: Celulosa, Hemicellulose: Hemicelulosa, Lignin: Lignina, Moisteure: Humedad

Tabla III - Características físicas de los films confeccionados de los componentes de cada extracción

	5% NaOH + enzimas + 1% NaOH	5% NaOH	1% NaOH	0.5% NaOH
Espesor de Film (mm)	0.078 ± 0.008	0.076 ± 0.008	0.073 ± 0.007	0.075 ± 0.013
Fuerza de Ruptura (MPa)	8.24 ± 1.38	42.46 ± 5.42	28.27 ± 6.27	7.13 ± 2.23
Elongación (%)	0.86 ± 0.23	3.34 ± 0.70	1.43 ± 0.34	0.40 ± 0.13
Retención de Agua (x peso seco)	2.67 ± 0.14	5.85 ± 0.14	8.95 ± 0.09	5.20 ± 0.01

FUENTE: Xu Weiji et al, 2008.

Al comparar ambas tablas, se puede observar que a concentraciones diluidas de Na(OH) (bajo estas condiciones) la metodología no es buena para obtener celulosa de purificación más elevada, por lo que se debe aumentar la concentración del hidróxido, basado en la observación de que el desarrollo de los films esta muy estrechamente relacionada con las condiciones de extracción.

La hemicelulosa es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza, después de la celulosa. Presenta una cadena larga, altamente ramificada y de peso molecular más bajo y uniones de puentes de hidrógeno menos eficaces en comparación con esta última. Se encuentra en la pared celular del tejido vegetal formando una estructura entrecruzada con la celulosa y la lignina como lo muestra la figura 4.

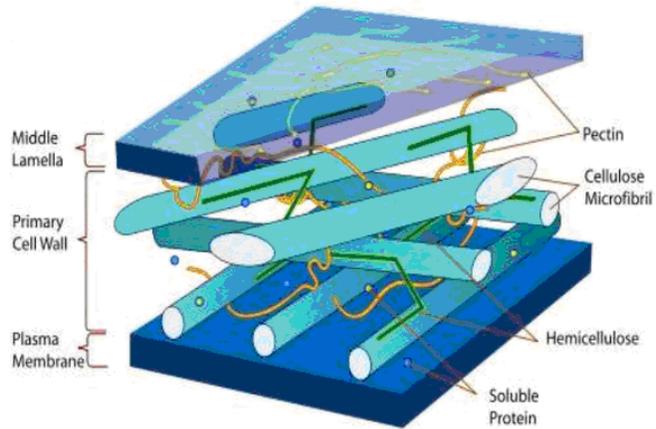


Figura 4- Estructura de la pared celular vegetal

Su composición química varía según la especie vegetal, en el maíz se caracteriza por ser un polisacárido conformado principalmente por D-xilosa, (48 -54%), L-arabinosa (33 – 35%), galactosa (7-11%) y ácido glucurónico (3-6%). Su estructura amorfa se debe a que es altamente ramificada por uniones β -(1-4) xilopiranosas y residuos de α -l-arabinofuranosa en ambos lados de la cadena, tanto en los grupos hidroxilos primarios como secundarios, mostrada en la Figura 5 (Yadav et al ,2005).



Figura 5 - Estructura esquemática de la hemicelulosa

Fuente: Justin Matthew Montante, 2010.

Existen varios documentos sobre la extracción de hemicelulosa (Donner et al, 2000; Gaspar et al, 2003; Yadav et al, 2005; Gaspar et al, 2007; Xinyi E. et al, 2010) la gran mayoría de ellos parten del salvado de maíz proveniente de la molienda seca o húmeda. Partiendo de esta materia prima, Donner et al, 2000 investigó diferentes vías de extracción con el objetivo de obtener una técnica de extracción de alto rendimiento. Para esto, comparó diferentes tratamientos alcalinos, con y sin agregado de peróxido de hidrógeno, y a diferentes temperaturas. Años después, siguiendo la misma línea de investigación, Gaspar et al 2003 comparó las diferentes variables que pueden afectar al proceso de extracción como; la temperatura, álcali utilizado y el uso del peróxido en el tratamiento con el fin de desarrollar un proceso de mayor rendimiento. Gaspar et al. 2007 extrajo un 80 % de la hemicelulosa, sometiendo 10% de fibra de maíz a una solución acuosa con el 2% de Na(OH) a 120°C y 2 atm en autoclave durante una hora.

Xinyi E. et al, 2010 comparó las diferentes técnicas de extracción de hemicelulosa, evaluando cual era las más adecuada para la extracción de la misma partiendo del DDGS. Para identificar cual método era el más conveniente sometió al DDGS a diferentes condiciones: solamente agua, solamente álcali y combinación de álcali y peróxido de hidrogeno a diferentes temperaturas. El mayor rendimiento fue del 32,6 %, de recuperación de hemicelulosa, utilizando $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a 120°C seguido del 32,4% utilizando al 10% de H_2O_2 a 120°C . Xinyi E observa que al agregar H_2O_2 en condiciones básicas de pH y temperatura el rendimiento y el recobro de hemicelulosa decrece, esto lo atribuye a una posible degradación oxidativa de la hemicelulosa y a la rápida reducción del H_2O_2 en medio alcalino. Según Doner et al, 2001 el mayor rendimiento (50%) fue la muestra que sometió a un pH 11.5 la primer hora y luego a pH 12.5 la segunda hora a una temperatura de 60°C .

La hemicelulosa obtenida puede tener diversas vías de aplicación. De la figuras 6 se puede observar que por medio de hidrólisis se la puede separar en sus componentes químicos y utilizar estos para el desarrollo de diferentes productos. Si bien en este trabajo no se explican cada uno de estos, se puede observar que existe un amplio campo de investigación sobre el uso de hemicelulosa.

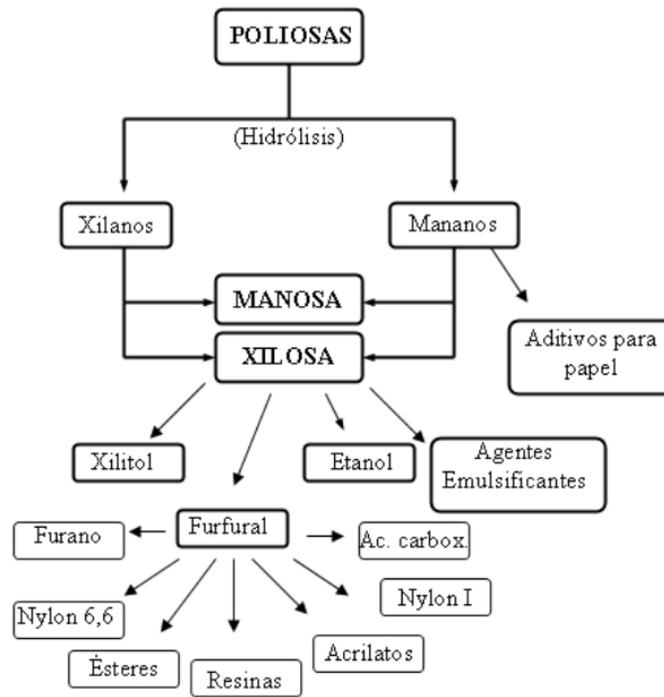


Figura 6 - Derivados de la hemicelulosa

Yadav et al 2005 y Xinyi E et al 2010 utilizaron la hemicelulosa proveniente del residuo de la molienda del maíz y del DDGS, respectivamente y demostraron la capacidad de la misma en emulsionar, pudiendo ser un posible reemplazo de la goma arábica en bebidas a base de sabores oleosos.

2.1.1.2. Desarrollos a partir de Proteínas

De la tabla I se puede observar que el 2do componente mayoritario en el DDGS son las proteínas. En el grano de maíz estas se encuentran en el germen y en el endospermo. La mayoría de las proteínas del germen son albúminas y globulinas, mientras que las del endospermo son prolaminas y glutelinas. Tal como se puede observa en la Tabla IV se encuentran clasificadas según su solubilidad: las albúminas se disuelven en agua, las globulinas son solubles en soluciones salinas, las prolaminas son solubles en 79% alcohol, y las glutelinas en disoluciones acidas o alcalinas (Song Li 2014).

Tabla IV - Distribución de la fracción de proteínas en el maíz clasificada según su solubilidad

Distribution of protein fractions in corn (% dry basis)

Protein	Solubility	Whole kernel	Endosperm	Germ
Albumins	Water	8	4	30
Globulins	Salt	9	4	30
Glutelin	Alkali	40	39	25
Zein	Alcohol	39	47	5

Fuente: *Shukla Rishi et al 2001.*

La zeína, una proteína del endospermo, es la proteína que se encuentra en mayor proporción en el grano de maíz, representando el 53% del total de las proteínas del grano y el 60% de las proteínas del endospermo, en el DDGS llega a representar el 50% de las proteínas presentes (Xu Weijie et al, 2008). Esta proteína es una prolina insoluble en agua (solamente 0,054g/l), pero soluble en medio acuoso con alta concentración de urea, presencia de alcohol (etílico y isopropílico principalmente), en alta concentración de álcali (pH 11 – 12,7), detergentes aniónicos o en una solución acida fuerte (12N HCl) (Shukla Rishi et al 2001). Esta característica se relaciona con su composición de aminoácidos, ya que si bien es particularmente rica en leucina (20%), prolina (10%), y alanina (10%), es deficiente en aminoácidos esenciales como lisina y triptofano. La alta porción de residuos de aminoácidos no polares y la deficiencia en aminoácidos básicos y ácidos son los responsables de su comportamiento de solubilidad (Wu Shaowen et al 1996).

La zeína es una mezcla de péptidos que presentan diferentes características en el peso molecular, la solubilidad y la carga. Dos de las mayores fracciones de zeína son la alfa y beta. La α -zeína constituye el 80% del total de la zeína en el maíz y representa la fracción de interés comercial. Este interés data de 1821 cuando se la logro aislar por primera vez, y a partir de ese entonces se ha estudiado diversas posibilidades de uso en las distintas

industrias como: en la química realizando adhesivos y tintas, en la farmacéutica, desarrollando recubrimiento para medicamentos y en la de alimentos en aplicaciones para el desarrollo de goma de mascar (Sula Rishi et al 2001). Investigaciones recientes intentan aplicarla como sustituto del gluten en productos aptos para celíacos (Bloom 2015), pero debido a la baja calidad nutricional, por la deficiencia en aminoácidos esenciales, como lisina y triptofano, a su insolubilidad en agua y a su alto costo (\$USD 20-40/kg dependiendo de la pureza de la misma) sus usos en la industria de los alimentos son limitados. De todas formas, a pesar de no contar con un mercado ampliamente desarrollado, en los Estados Unidos se producen 0,54 millones de kilos de zeína utilizadas principalmente en la industria farmacéutica (Wu Shaowen 1996).

Debido a las propiedades funcionales de esta proteína como la de formar film y fibras, su termoplaticidad, adhesividad e hidrofobicidad, ha sido material de estudio en el marco de las investigaciones para el desarrollo de envases a base de material agrícola como sustituto de los envases y plásticos derivados del petróleo (Rosentraer et al 2010). Por su alta hidrofobicidad la zeína genera films con buena barrera contra la grasa lo que despertó el interés en la extracción de zeína para el desarrollo de este tipo de envases.

Actualmente, la zeína comercial es extraída del salvado del maíz proveniente de la molienda húmeda o seca. Para esto el método comercial más conocido, es el confeccionado por Carter y Reck 1970. Este se basa en la extracción de zeína partiendo de gluten meal (molienda seca) y utiliza 88% (p/p) 2-propanol en solución acuosa con 0,25% Na (OH) por 1 hora a 55°- 65°C. Luego de una doble precipitación el extracto de proteína se seca por frío. Así se obtiene un rendimiento del 22%. Recientemente, Anderson y Lamsal (2011), modificaron este método utilizando diferentes solventes. La modificación incrementa el uso de alcohol en el solvente y se omite la centrifugación. Entre las 5 mezclas de solventes orgánicos utilizadas el empleo de 70% 2 propanol, 55% 2 propanol y 70 % etanol dan los mejores resultados, obteniendo un rendimiento del 35% con un recobro de la proteína del 44%.

Lo que respecta a la extracción de zeína partiendo del DDGS, Wolf y Lawton (1970) desarrollaron una técnica utilizando una solución acuosa al 60% de etanol a 60°C

con 0,1% de ditiotreitól (DTT) (agente reductor), obteniendo un rendimiento del 3,2 al 6%. Aunque el rendimiento fue menor, que el obtenido con el gluten meal, demostraron que era posible extraer la zeína.

Paraman y Lamsal (2011) extrajeron α -zeína desde DDGS usando 70% (v/v) etanol diluido con 0,5% Na(OH) y 1% bisulfito de sodio. Luego de centrifugar, para enriquecer el contenido de α -zeína, se obtuvo un rendimiento del 5,9 al 7,3% con un contenido de zeína del 71,5 al 81,2%. Si bien el proceso de extracción de la zeína del DDGS tiene menor rendimiento que el del gluten meal la propiedad de formar film la mantiene.

Si bien los rendimientos de extracción no son similares a los obtenidos del grano de molienda se debe considerar que los costos de la extracción con DDGS son menores que los de extraer la proteína desde gluten meal razón por la cual los investigadores intentan mejorar estos procesos. Rosentraer et al 2010, busco desarrollar un polímero extrusado mezclando a la zeína proveniente del gluten meal, de la molienda, con un porcentaje de la zeína extraída del DDGS para bajar los costos, llegando a la conclusión de que si bien era factible realizar esta combinación, a medida que aumentaba el porcentaje de zeína del DDGS la calidad del polímero disminuía.

La disminución de la calidad de la proteína del DDGS puede estar asociada a la variabilidad en el contenido de proteína de los granos de maíz y a los procesos productivos de las plantas elaboradoras del bioetanol. Estos procesos son severos y puede afectar a la zeína en muchas formas, si bien hay que tener en cuenta que estos cambios varían de planta en planta luego de la fermentación la composición de los granos se modifica en comparación al grano sin procesar, y sin importar la planta de donde se procese. Como se ve en la tabla V, desde la fermentación el contenido de proteína se ve incrementado, esto es gracias a la producción de proteínas propias de las levaduras.

Tabla V - Comparación de los cambios efectuados luego de cada paso del proceso del bioetanol, en comparación a 3 plantas

Ethanol Processing Streams	Protein Content (%)		
	Ethanol Plant 1	Ethanol Plant 2	Ethanol Plant 3
Ground corn	7.7	7.8	7.5
Cooked slurry	9.3	8.9	8.1
Liquified mass	9.8	9	8.1
Saccharified mass	12.1	9	na
Fermented mass	29.4	26.6	27.2
Whole stillage	29.5	26.8	26.6
Thin stillage	22.9	17.2	21.1
Distiller solubles	21.3	17	21.2
Distiller grains	33.4	32	30.2
WDGS	27.7	na	26.9
DDGS	29.5	29.4	26.7

Fuente: (Timothy J. Anderson y Buddhi P. Lamsal 2011)

Kwiatkowski et al 2006 evaluó las condiciones a las que se someten los granos del maíz hasta obtener el DDGS (Tabla V) y los daños causados en la proteína. Según su estudio, a 90°C, la estructura de la proteína no es alterada, se necesita de un trabajo mecánico brusco para que esto suceda, tal como sería el extrusado o sometimiento de presión, lo que causaría la separación de las estructuras de la proteína. Lo que respecta a la cocción, a 70°C no causa mucho efecto en la extracción de la proteína pero cuando se cocina a 100°C el rendimiento de la extracción decrece.

La fermentación también puede ayudar a la degradación o alteración de la proteína. Si bien la levadura de la fermentación convierte el almidón en alcohol, asimismo requiere de nitrógeno para sintetizar proteínas, razón por la cual se adiciona amonio o urea como suplemento. Recientemente se ha implementado el uso de proteasas en el proceso para ayudar a las levaduras a obtener el nitrógeno que le permite sintetizar las proteasas. La actividad proteolítica, de estas proteínas, puede hidrolizar la zeína en péptidos de bajo peso molecular.

Tal como se observa en la tabla V, el secado de los granos produce una degradación en las proteínas, disminuyendo su contenido en el DDGS. En la zeína, las altas

temperaturas pueden inducir a cambios en el cruzamiento de los enlaces de la zeína y llevarla a su forma nativa. Con todos los cambios que se producen en el DDGS este es la fuente menos elegida para realizar la extracción de zeína.

Emulsiones

Dentro de los aditivos se encuentran los emulsionantes. Estos son agentes adicionados a preparaciones formadas por dos fases, una hidrofílica y otra hidrofóbica, siendo inmiscibles una en la otra. Por lo que, gracias a su estructura anfipática⁴, se agregan para producir una estabilidad entre las dos fases formando un sistema homogéneo a la vista denominado emulsión.

Una emulsión es una dispersión de una fase líquida en forma de gotas diminutas (fase dispersa) en una fase continua. Sus características reológicas dependen especialmente de la fase dispersa (estructura química del material dispersado, fracción de volumen, viscosidad de la fase dispersa, tamaño y distribución de tamaño de las gotas).

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables y eventualmente se romperán si se dejan por un periodo de tiempo suficiente. En tanto, la estabilidad cinética es la mayor responsable de los fenómenos fisicoquímicos y sensoriales exhibidos en diferentes alimentos emulsionados. Los fenómenos dominantes de inestabilidad son: gravitacionales consistentes en el desplazamiento vertical debido a la acción de la gravedad, tales pueden ser de sedimentación, precipitación de la fase dispersa, o de formación de crema, suspensión de la fase dispersa, (fenómenos reversibles); la floculación, acercamiento de las gotas, (también reversible) debido a la asociación de gotas formando unos agregados; la coalescencia, que implica la ruptura de la película interfacial y la consiguiente ruptura de la emulsión; otros fenómenos que afectan a la estabilidad son la

⁴ Molécula que poseen en la misma molécula una zona o porción con propiedades polares y otra apolar, dándole carácter polar y no polar a la molécula. La parte polar puede disolverse en agua mientras que la parte apolar en solventes no polares. Peña, *Bioquímica*, 2004

inversión de fase y la maduración de Ostwald. (Fernandez Artega A. 2006), detallados mas adelante.

La inestabilidad termodinámica es demostrada al agitar en un recipiente aceite con agua. Con el tiempo se observan cambios en la apariencia del sistema. La emulsión formada al comienzo se irá rompiendo a medida que pase el tiempo hasta formar una capa de aceite por encima del agua.

Esto se puede comprobar al comparar la energía libre del sistema antes y después de la ruptura. Suponiendo que los líquidos a emulsionar poseen igual densidad por lo que no ocurriría cremado ni sedimentación. Como consecuencia el estado final consiste en una sola gota de gran tamaño suspendida en la fase continua. En este estado inicial, anterior a la emulsión, la energía libre esta dado por:

$$G_i = G_{io} + G_{iw} + G_{iI} - TS_{i\text{config}} \quad (a)$$

Y en su estado final:

$$G_f = G_{fo} + G_{fw} + G_{fI} - TS_{f\text{config}} \quad (b)$$

Donde G_o , G_w y G_I son la energía libre de la fase grasa, fase acuosa, y interfase aceite-agua, respectivamente, T temperatura absoluta, y S es la entropía configuracional de las gotas en el sistema.

La energía libre del volumen del aceite y de la fase acuosa se mantiene constante al principio y al final de la homogenización: $G_{io} = G_{fo}$ y $G_{iw} = G_{fw}$, por lo que la diferencia en la energía libre entre el estado inicial y final está dado por:

$$\Delta G_{\text{formation}} = G_f - G_{fi} = G_{fi} - G_{ii} - (TS_{f\text{conf}} - TS_{i\text{config}}) = \Delta G_i - T\Delta S_{\text{config}} \quad (c)$$

Por definición la diferencia de energía interfacial entre el estado inicial y final (ΔG_i) es igual al incremento en el área de contacto entre la fase oleosa y acuosa (ΔA) multiplicada por la tensión interfacial

$$\Delta G_{\text{formación}} = \gamma \Delta A - TS_{\text{config}} \quad (d)$$

El cambio en la energía libre interfacial ($\gamma \Delta A$) es siempre positivo, porque el área de contacto incrementa después de la homogenización, y de esta forma se opone a la formación de la emulsión. Por otro lado, el término de la entropía configuracional es siempre negativo, porque el número de disposiciones accesibles de las gotas en el estado emulsionado es mucho mayor que en el estado no emulsionado, y de esta forma se favorece la formación de la emulsión

$$GS_{\text{config}} = \frac{-nk}{\varphi} (\varphi \ln \varphi + (1-\varphi) \ln(1-\varphi)) \quad (e)$$

Donde k es la constante de Boltzaman, n es el número de gotas presentes en la emulsión y φ es la fracción del volumen de la fase dispersa. En la mayoría de los alimentos emulsionados la entropía configuracional es mucho menor que la energía libre interfacial y puede ser ignorada. Por lo que el cambio en la energía libre puede ser representada como:

$$\Delta G_{\text{formación}} = \gamma \Delta A \quad (f)$$

Así la formación de emulsiones en alimentos es siempre termodinámicamente desfavorable, debido al crecimiento en la área interfacial después de emulsionar.

La estabilidad termodinámica nos dice si la emulsión es o no estable, pero no indica cuales son los parámetros que varían en el tiempo, el tipo o los mecanismos físicos responsables del cambio.

Si bien pueden ser emulsiones termodinámicamente inestables pueden ser emulsiones estables cinéticamente por meses o años. La estabilidad cinética esta atribuida a la energía activación ΔG^* , que debería de ser superada antes que la emulsión pueda

alcanzar su estado termodinámico más estable. Una emulsión que sea cinéticamente estable debe presentar una energía de activación que sea significativamente más grande que la energía térmica del sistema (kT). Para la mayoría de las emulsiones una energía de activación de $20 kT$ es suficiente para proveer una larga estabilidad. En realidad una emulsión tiene varios meta-estados que cada uno tiene una energía de activación. Por lo que el sistema puede ir alcanzado diferentes meta-estados antes de alcanzar su estado termodinámico más estable. Pero cada cambio es suficiente para generar una modificación en el producto (McClement David J., 2005).

Por lo que todas las emulsiones a lo largo del tiempo irán sufriendo a mayor o menor velocidad algunos de los procesos de inestabilidad detallados a continuación:

Cremado: En general las gotas en las emulsiones tienen una densidad diferente que la del líquido que las contienen, por lo que una fuerza gravitacional actúa sobre ellas. Si las gotas tienen una densidad menor que el medio que las rodea, estas tenderán a moverse hacia arriba formando una fase superior constituida por gotas de la emulsión. Esto se manifiesta debido a la acción de la gravedad que produce que la fase menos densa suba debido al empuje de Arquímedes y la coloque sobre la más densa y quede así acumulada en la superficie.

Aunque esta diferencia es el factor primario en este proceso de separación, existen otros parámetros que son importantes, tales como la polidispersidad (diferencia en la distribución del tamaño de las gotas), la concentración de gotas, y las interacciones inter-partículas. Por lo que se puede trabajar sobre estos factores para disminuir el cremado. La estrategia más simple es reducir la diferencia de densidades entre la fase continua y dispersa. Esto puede lograrse ya sea eligiendo un sistema con densidades similares o bien agregando agentes espesantes apropiados a alguna de las fases. La segunda mejor estrategia es reducir el tamaño de gota. Para una gota aislada en un medio muy diluido, la ley de Stoke establece que la velocidad de cremado se incrementa con el cuadrado del diámetro. Además, a medida que el tamaño de las gotas se reduce la velocidad de auto-difusión se

incrementa hasta un punto tal que las gotas muy pequeñas pueden mantenerse sin cremar por mezclado difusional, aunque haya una gran diferencia de densidad entre las dos fases.

Cuando ninguna de las dos opciones anteriores pueda ser aplicada, otra posibilidad es incrementar la viscosidad de la fase continua mediante la adición de polímeros de alto peso molecular. Estos incrementan la viscosidad en tal grado que la velocidad de cremado se vuelve despreciable. Sin embargo, estos polímeros también actúan reduciendo la estabilidad del sistema a flocular, lo cual conduce a un cremado rápido

De manera opuesta si las gotas tienen una densidad mayor que el líquido que las rodea entonces la tendencia será moverse hacia abajo formando la sedimentación. La densidad de la mayoría de los aceites comestibles (en su estado líquido) es menor que la del agua, por lo que tenderán a acumularse en la superficie. Por lo que las gotas en emulsiones O/W tenderán a cremar mientras que en W/O tenderán a sedimentar.

Floculación: Es el proceso mediante el cual dos o más gotas se asocian (adhesión superficial), pero mantienen su integridad individual. Las gotas se asocian mediante enlaces débiles formando flóculos de un tamaño promedio mayor, siendo las fuerzas gravitacionales las que predominan en el sistema. En la mayoría de los casos es un proceso que puede invertirse con agitación. La floculación puede ser ventajosa o no dependiendo la naturaleza del alimento. En una emulsión diluida, la floculación acelera el ritmo de la separación gravitacional (basado en la ley de Stokes), usualmente indeseado por la disminución de la vida útil. También puede generar el aumento de la viscosidad protegiendo al producto de la desestabilización gravitacional y de esta forma la floculación puede ser deseada.

Maduración de Ostwald: Es el envejecimiento que consiste en la transferencia de soluto desde las partículas pequeñas a las grandes a través de la solución. Ya que las gotas grandes tienen una menor relación superficie/volumen que las más pequeñas, este proceso ocurre con una reducción neta de la energía interfacial. Sin embargo la fase dispersa debe ser significativamente soluble en la fase continua para que este proceso se produzca. (Hernandez Zarazua Liliana 2009)

Este fenómeno puede generar una suspensión inestable. El uso de un polímero apropiado con afinidad por la superficie del sólido disperso reduce o elimina la cristalización en suspensiones. Se minimizara con una distribución estrecha de partículas (Gennaro Alfonso R, 2003).

Coalescencia: Es similar a la floculación pero, el proceso de coalescencia se produce cuando en un agregado de gotitas floculadas se rompe la interfase entre ellas y se unen irreversiblemente perdiendo su identidad, por lo que al fusionarse forman gotas de mayor tamaño. Así se convierte en el principal fenómeno en el cual una emulsión se mueve a través de su estado termodinámico más estable debido al descenso en el área de contacto entre las fases de agua y aceite. Las gotas formadas de mayor tamaño sufren con más claridad el mecanismo de cremado o sedimentación más rápidamente por el incremento en su tamaño y así se favorece la desestabilización del sistema, y, en un caso extremo, la aparición de las dos fases totalmente separadas, donde en una emulsión O/W, permite la formación de una capa de aceite en la superficie y en una emulsión W/O la acumulación de agua en el fondo

La velocidad a la que se produzca la coalescencia va a depender de la velocidad a la que colisionen las gotas y de las propiedades superficiales de las mismas. El hecho que las gotas tengan que estar en contacto significa que la coalescencia es dependiente de las fuerzas “cortas” y del detalle de precisión molecular de un sistema. Los procesos tales como cremado, floculación y los movimientos browniano y de agitación favorecerán este mecanismo de desestabilización.

El rango al cual ocurre este y los otros fenómenos físicos está altamente relacionado con la naturaleza emulsionante utilizado. Existen varios tipos de emulsionantes clasificadas según diferentes criterios como por ejemplo: si son aniónico, catiónicos o no iónico, si son naturales o sintéticos, si actúan como sustancias activas superficialmente, si aumenta la viscosidad, si son absorbentes sólidos o si predomina su propiedad hidrofóbica o hidrofílica. (Scalamar 2003). Las formas de seleccionar un emulsionante pueden ser diversas pero principalmente se seleccionan según el tipo de emulsión a estabilizar, es

decir, si es un sistema donde la fase lipídica esta dispersa en la fase acuosa denominada O/W (oil in water), o si es un sistema donde la fase acuosa esta dispersa en la fase lipídica W/O (water in oil) o según el resultado final que se desea obtener. Por lo que un emulsionante puede dar estabilidad a una emulsión por alguna de las siguientes propiedades otorgadas: Disminuyendo la tensión superficial, por repulsión debida a la carga eléctrica, formación de cristales líquidos, por sólidos finamente divididos o mediante macromoléculas. Por ejemplo una forma de evitar que se produzcan la coalescencia es a través de la utilización de surfactantes iónicos o no iónicos. Los surfactantes iónicos, se caracterizan por dar carga superficial a las gotas y de este modo generan fuerzas electrostáticas que se oponen a la colisión entre las mismas. Por su parte los surfactantes no iónicos no pueden incrementar la carga superficial por lo que estabilizan la emulsión de un modo estérico. Estos tienen grandes grupos hidrofílico los cuales se ubican de forma alejada de la superficie e imponen una barrera para la colisión entre las gotas. Así se pueden mencionar diferentes tipos de emulsionantes utilizados de forma específica para evitar la inestabilidad de las emulsiones preparadas en la industria.

Al relacionar la composición química de los DDGS y las características de los emulsionantes se toma la decisión de desarrollar un emulsionante partiendo del DDGS. Por lo que considerando las investigaciones de Xinyi E. et al, 2010 y Yadav et al, 2005 sobre el uso de hemicelulosa proveniente del maíz como emulsionante en la industria de alimentos, se decidió desarrollar un emulsionante extraído de la fibra del maíz y aplicarlos en bebidas emulsionadas.

Bebidas emulsionadas

Las bebidas emulsionadas al igual que cualquier emulsión están compuestas por una fase dispersa, una continua y una interfase:

Generalmente, las bebidas emulsionadas son emulsiones O/W por lo tanto la fase dispersa consiste principalmente en aceite y varios otros componentes que son parcial o totalmente insolubles en la fase acuosa, como sabores, antioxidantes y agentes espesantes. El tipo de aceite presente en la gota será dependiendo si la emulsión es de color o de sabor. Las gotas en emulsiones de colores están compuestas principalmente de aceites no aromáticos (aceites vegetales), mientras que las gotas en emulsiones de sabor están compuestas por aceites aromáticos (aceite de cítricos) o mezcla de ambos. Los aceites aromáticos mas comunes son los cítricos tales como; el de naranja, limón, lima y uva. Estos aceites son primordialmente compuestos hidrocarburo-terpenos que tienen olor o sabor por si mismos. De todas formas el aceite de cítricos contiene muchos terpenoides oxigenados que contribuyen al perfil del sabor final. Muchos aceites aromáticos contienen componentes que tienen una limitada cantidad de solubilidad en agua. Como resultado, las bebidas emulsionadas que contienen estos aceites son más susceptibles a la maduración de Ostwald que las emulsiones que contienen aceites convencionales. Algunos componentes de los aceites aromáticos son susceptibles a desestabilización química (oxidación) y por eso es necesario tener especial control en las condiciones tales como; pH, temperatura, luz y minerales, incorporar conservantes para prever este hecho. Otro problema que se cuenta con los aceites aromáticos es la baja densidad comparada con el del agua, por lo que tendera al cremado, razón por la que se agrega un agente espesante para contrarrestar la diferencia de densidades entre la fase acuosa de la oleosa (McClement David J., 2005).

La fase continúa esta compuesta mayoritariamente por agua. Algunas bebidas cuentan con espesantes para dar un deseable mouthfeel⁵ y propiedades de textura, así como también bajar la separación gravitacional de las gotas del aceite. También cuenta con otros agentes disueltos en agua como acidulantes y conservantes.

⁵ Mouthfeel: Interacción física y química de un producto alimenticio en la boca.

El límite entre el aceite y el agua, en una emulsión, consiste en una estrecha región que rodea cada gota de aceite y se compone de una mezcla de aceite, agua y moléculas de emulsionante, pudiendo contener otras moléculas como: iones de minerales, polielectrolitos y lípidos polares. (Piorkowski Daniel T et al, 2014). La composición y la estructura de la membrana interfacial de una bebida emulsionada son determinadas por el tipo de emulsionante usado para estabilizar el sistema. Los emulsionantes mas utilizados para estas bebidas son los polisacáridos anfifílicos como la goma arábica y el almidón modificado.

Goma Arábica

La goma arábica proviene del exudado de los árboles de acacia que se encuentran únicamente en Republica de Sudan, Senegal, Mauritania y Nigeria. Son árboles que tardan 6 años en crecer y establecerse, y crecen en el desierto del Sahara. El exudado se recoge a mano (Yadav P. et al, 2007). Consumiéndose en el mercado internacional unas 45.000 toneladas anuales (año 2000) de goma arábica.

Esta goma esta compuesta por lo menos de tres moléculas de alto peso molecular. La fracción de superficie activa se cree que esta constituida de ramificaciones de bloques de arabinogalactosa unida a polipéptidos. La cadena hidrofóbica se cree que ancla la molécula a la superficie de las gotas, mientras que los bloques de arabinogalactosa hidrofílica se extiende dentro de la solución. La membrana interfacial formada por la goma arábica se cree que provee estabilidad contra la agregación de las gotas por la repulsión estérica, pero con alguna contribución de la repulsión electroestática.

Ha quedado demostrado que la goma arábica estabiliza las emulsiones de la floculación cuando se expone a un buen rango de pH y temperatura. De todas formas tiene, relativamente, baja afinidad por la interfase aceite-agua, comparada con otros biopolímeros, esto significa que se debe utilizar en concentraciones más altas para que pueda realizar una estabilidad.

Tradicionalmente, la goma arábica es el emulsionante más utilizado debido a su alta disolución en agua, baja viscosidad de emulsión, y buenas habilidades para formar una membrana protectora alrededor de las gotas de la emulsión. De todas formas tiene una afinidad por la interfase aceite-agua relativamente baja comparada con otros biopolímeros de superficie activa, generando la necesidad de adicionar una concentración elevada para formar emulsiones estables. Se requieren alrededor de 20% de goma arábica para producir una emulsión 12wt% O/W, por esta razón su uso como emulsionante es restringido para productos que tengan una concentración baja de gotas. Otro problema asociado a esta goma es su variabilidad entre una planta y la otra trayendo complicaciones dentro de la industria de bebidas. (Piorkowski Daniel T et al, 2014). Por estas características los investigadores están inquiriendo en nuevas alternativas de emulsionantes para bebidas.

Medición de la estabilidad de emulsión

La estabilidad de la emulsión puede ser medida monitoreando los mecanismos que la llevan a la inestabilidad. Existen diferentes mecanismos que dependen del fenómeno a controlar. La distribución del tamaño de las gotas puede medirse por microscopia, dispersión de luz, contador de pulsos eléctricos o métodos ultrasónicos. La separación gravitacional puede ser llevada a cabo mediante la medida de la altura de la interfase entre las distintas capas formadas, donde se coloca la emulsión en un tubo de ensayo transparente, se lo deja por un determinado periodo de tiempo y se mide dicha altura. Otro método, más sofisticado, es mediante la técnica de dispersión de luz. Se mide el porcentaje de luz transmitida o dispersada (medida en función a la altura de la emulsión usando uno o más detectores para escanear el haz de luz) (McClement David J., 2005)

La coalescencia se puede controlar por medio de microscopia. La emulsión se coloca en el microscopio y se mide los cambios en el tamaño de las gotas en función del tiempo, midiendo manualmente el tamaño de las gotas o utilizando computadora con procesamiento de imagen. También puede ser medida utilizando otros tipos de microscopio. Para poder detectar la coalescencia en un razonable periodo de tiempo, es

necesario preparar la emulsión con bajo contenido de emulsionante en la superficie de la gota, lo que es irrealista porque en las emulsiones las gotas se encuentran saturadas de emulsionante. Otras técnicas empleadas son el uso de dispersión de luz, espectrometro ultrasónico o NMR. Considerando que la coalescencia es un proceso lento, para poder acelerarlo se puede aplicar una fuerza centrífuga que fuerza a las gotas a juntarse: cuanto más resistente sea la membrana interfacial a la ruptura, se deberá aplicar mayor fuerza lo que indica que la emulsión se mantendrá por mayor tiempo. Este aceleramiento no siempre es buen indicador de larga estabilidad, ya que las emulsiones pueden ser desestabilizadas por fuerzas a las cuales nunca serían sometidas, además tampoco se consideran los fenómenos químicos o biológicos que pueden ocurrir en el producto. (McClement David J. 2005)

Los mecanismos de monitoreo del anillo de ostwald son muy parecidos a los usados para medir la coalescencia. Si las gotas son lo suficientemente grandes ($>1\mu\text{m}$) se puede utilizar microscopio, de lo contrario puede utilizarse métodos como dispersión de luz, contador de pulso eléctrico. De todas formas, es muy difícil poder distinguir entre el fenómeno de la coalescencia y del anillo de Ostwald (McClement David J., 2005).

Como se ha mencionado el tamaño de las gotas es de gran importancia en la estabilidad de las emulsiones, ya que a mayor tamaño de partícula los procesos de desestabilización se aceleran. Por lo que el tamaño de las gotas, así como, la estructura y la organización de los componentes pueden ser controlados utilizando microscopia óptica, electrónica y microscopia de fuerzas atómica (brinda información de la estructura pero a nivel atómico y molecular). Estas técnicas tienen la habilidad de convertir la información compleja en una imagen simple de comprender.

La distribución del tamaño de las partículas y su concentración pueden ser medidas mediante la dispersión de la luz: Esta técnica esta basada en el principio que el haz de luz que atraviesa directamente a la emulsión es dispersado por las gotas de una manera bien definida. Una mediada del grado de dispersión de la luz, en una emulsión, puede ser usada para determinar estas características utilizando modelos matemáticos. Dentro de este método se encuentra el espectroturbidimétrico. Esta técnica mide la turbidez

de una emulsión diluida en función de la longitud de onda. La turbidez es determinada comparando la intensidad de luz que ha viajado directamente a través de la emulsión con aquella que ha viajado directamente a través de la fase continua. Cuando mas grande es la dispersión más chica es la intensidad de la onda transmitida, y por lo tanto más grande es la turbidez. Esta en una emulsión diluida esta linealmente relacionada con el volumen de la fase dispersa, entonces la medida de la turbidez puede ser usada para determinar si el tamaño de las gotas se mantiene constante.

Evaluación Sensorial

Si bien las bebidas pueden ser estables a lo largo del tiempo, deben también ser aceptadas por los consumidores. Para esto se utiliza la evaluación sensorial. En términos técnicos, esta es el examen de los caracteres organolépticos de un producto mediante los sentidos obteniendo datos cuantificables y objetivos (Sancho Valls J. et al, 1999). Trabaja en base a paneles de degustadores, denominados jueces, que hacen uso de sus sentidos como herramienta de trabajo. De esta forma se logra obtener información sobre el producto investigado, que por medio de los métodos instrumentales no podrían obtenerse, debido a los limites de detección de los mismos (Witting de Penna Emma, 2001).

Otro concepto que se le da a la evaluación sensorial es de la caracterización y análisis de aceptación o rechazo de un alimento por parte del panel (conjunto de jueces), de acuerdo a las sensaciones experimentadas desde el mismo momento que lo observa y después de que lo consume (Hernandez Elizabeth A. 2005).

Los métodos de evaluación sensorial se pueden clasificar de diferentes formas, pero básicamente se encuentran las pruebas analíticas y afectivas. El uso de las mismas se encuentra en función de lo que se busque obtener del producto a evaluar y/o del análisis a desarrollar. Así, se pueden combinar diferentes técnicas de evaluación.

Las técnicas analíticas tienen como finalidad separar, ordenar y, dentro de lo posible, identificar las impresiones dominantes. Es la interpretación de un conjunto de

sensaciones que se perciben simultánea o sucesivamente (Sancho Valls J.. et al, 1999). Dentro de estas se encuentran las pruebas:

- **Discriminativas;** compara dos o más muestras de un producto alimenticio, en donde el panelista indica si se percibe la diferencia o no, y se puede describir y estimar el tamaño de dicha diferencia. Están clasificadas en pruebas de: diferenciación y sensibilidad. En la primera se encuentran las pruebas que comparan de dos a cinco muestras; comparación de pares, prueba duo-trio y prueba triangular, para más muestras se utilizan: escalar de control y pruebas de ordenamiento. Lo que respecta a la segunda es utilizada para evaluar y entrenar a los jueces de un panel sensorial.

- **Descriptivas,** permiten conocer las características del producto alimenticio y las exigencias del consumidor. A partir de estas, se realizan los cambios en la formulación hasta que el producto contenga los atributos que le den mayor aceptación del consumidor. Clasificados por atributos (escala de categorías y estimación de magnitudes), pruebas de análisis descriptivo (perfil del sabor y perfil de textura) y análisis cuantitativos (análisis de varios atributos sensoriales como sabor, textura y apariencia, esto indica que se combinan dos tipos de pruebas: la escala de categorías y la prueba de perfiles)

En contraste, en las pruebas afectivas el panelista expresa el nivel de agrado, aceptación y preferencia de un producto alimenticio, puede ser frente a otro. Se utilizan escalas calificación de las muestras (pruebas de preferencia y aceptación).

En la figura 7 se puede observar el resumen de lo expresado arriba:

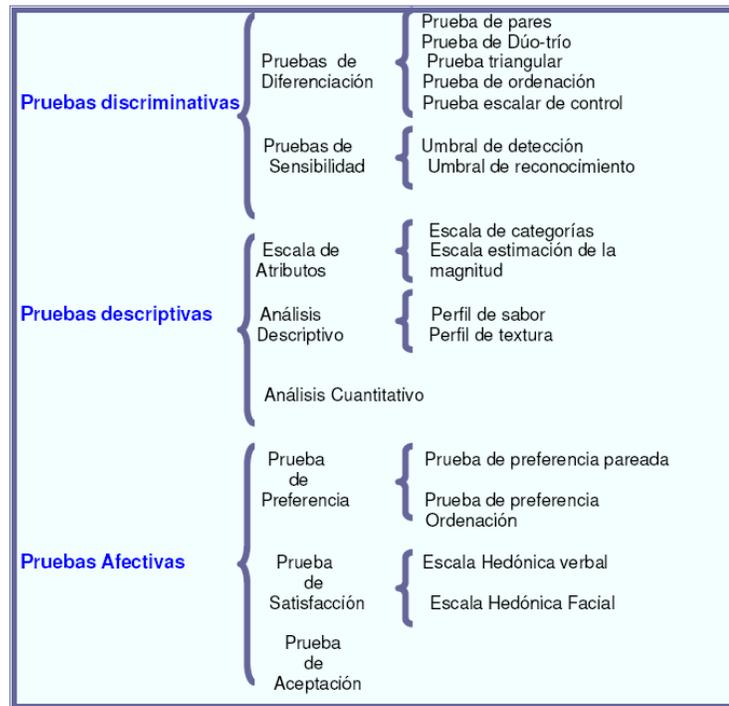


Figura 7 - Resumen de los métodos empleados en el Análisis Sensorial

Fuente: Hernández Elizabeth A. 2005.

Si bien las pruebas desarrollas sobre el producto, en cuestión, se realizan basadas en lo que se busca del mismos, otras características como: cantidad de muestra disponibles, cantidad de jueces necesarios y tipo de producto analizados hacen una limitantes en el desarrollo de las pruebas.

Lo que respecta a la evaluación sensorial de los productos que se le han adicionado DDGS, se ha observado que no todos los desarrollos han sido evaluados sensorialmente. Esto, puede deberse, principalmente, a que las investigaciones se enfocaron en evaluar si era posible emplear el DDGS en el producto, y a la incertidumbre de la aptitud para el consumo humano del mismo.

De todas formas, de aquellos desarrollos que se han podido realizar las pruebas sensoriales, se ha visto que los problemas estaban asociados al escaso sabor, la coloración oscura y rancidez oxidativa. En contraste, el análisis realizado por Morad et al 1984 en galletas elaboradas con DDGS de sorgo, tuvo una aceptación más alta que el control, esto

se cree que es debido a que el DDGS utilizado tenia menos concentración de solubles (asociados al sabor otorgado al producto). Rasco et al, 1987, llevo a cabo una evaluación sensorial en galletitas de chocolate, pan de bananas y pan blanco realizadas con DDGS de trigo. En está se otorgó una muestra a la vez (la muestra a investigar y el control) y se solicitó que el panelista la clasificara en una escala del 1 al 5 (1=muy pobre, 2=pobre, 3= aceptable, 4= bueno y 5= excelente). Además se solicitó que comparara el producto testeado con productos con los que estaba familiarizado, y por último se consulto en que lugar lo compraría. Esta evaluación concluyo en que era posible la incorporación de DDGS del trigo en productos como estos, ya que fue aceptado por el panel sensorial luego de realizar las pruebas. Años más tardes, Rasco et al, 1989 realizó un testeo de diferencia, análisis de atributos, prueba de preferencia y parámetros de coloración, sobre galletitas con chips de chocolate, rolls de canela y baguette con una sustitución del 0, 12,5% y 25% de la harina de trigo por DDGS del trigo. Obteniendo resultados aceptables para las galletitas y los rolls, no así para la baguette siendo que al sustituir con más del 12, 5% de DDGS el producto se detectaba como mas salados, ácido y menos sabor que el control.

En materia de bebidas con emulsionante de goma de maíz, no se han encontrado investigaciones que evaluaran las características sensoriales.

3. VIABILIDAD DE DESARROLLO DE LOS ESTUDIOS INVESTIGADOS

Si bien hay muchas alternativas para aprovechar el DDGS, no todas ellas pueden ser llevadas a cabo o no pueden ser demostradas en esta investigación como viables, debido a la acotada disponibilidad de recursos que se posee en comparación al tipo de investigación requerida.

En este apartado se detalla, brevemente, la justificación de declinar el avance de las investigaciones que fueron explicadas en las secciones anteriores y que no pudieron ser llevadas a cabo. De todas formas, algunas de ellas podrían ser viables para el aprovechamiento de los residuos del producto a desarrollar, por lo que serán tenidas en cuenta para futuras investigaciones.

Como se ha visto en las secciones 2.2.1 y 2.2.2 para el aprovechamiento del DDGS puede tomarse tanto los granos de destilería con solubles como tal o extraer sus componentes químicos para utilizarlos, inclusive pueden tomarse los componentes moleculares de estos y desarrollar diversos productos. Sin importar como se tome el DDGS para el desarrollo, se tiene que considerar que este proviene de un proceso industrial que puede disminuir la calidad de las propiedades del grano del maíz.

Uso del DDGS sin disgregar

En base a las investigaciones desarrolladas en los antecedentes, el uso de DDGS como materia prima directa tiene potencial uso en productos de panadería. Por lo que se analizó el posible aprovechamiento en esta industria, ya que la inclusión de DDGS puede expandir el mercado de este tipo de productos al de los alimentos saludables, por su perfil nutricional y sus bajos efectos glicémicos (el aumento de glucosa en sangre es lento) (Liu

Sean X. et al 210). Además se requiere de tan solo un molino que disminuya la granulometría de estos y sin generar contaminantes.

De todas formas existen dos problemas principales en el uso de los DDGS: (1) la seguridad microbiológica de los productos desarrollados, debido al potencial contenido de micotoxinas provenientes del desarrollo fúngico en el almacenamiento de los granos, y (2) las características final de los productos, tales como color y textura, al adicionarle el DDGS. El punto uno dejaría de ser un problema si los granos utilizados en la industria del bioetanol fueran aptos para el consumo humano y las empresas que utilicen sus subproductos, en la industria de los alimentos, contaran con buenas practicas de manufacturas y estándares de calidad alimentaría. Lo que respecta al segundo punto, como se ha desarrollado en los antecedentes, varias investigaciones se centraron en encontrar el porcentaje adecuado de incorporación de DDGS como materia prima para desarrollar productos aceptables (Liu Sean X. et al 2010, Saunder J.A et al 2014).

Se pudo observar que son más abundantes las investigaciones en desarrollos de productos provenientes del DDGS del trigo, y aún así no se ha encontrado investigaciones que reemplazara el 100% de la harina de trigo por DDGS provenientes tanto del trigo o del maíz. Esto se debe principalmente a que en la elaboración de masas de panadería, la harina es uno de los ingredientes principales, ya que, otorga las proteínas necesarias para formar una red proteica denominada gluten, que le permite capturar el CO₂ y darle mayor volumen. El gluten permite formar masas visco-elásticas, que tienen la capacidad de retener el gas producido en la fermentación y le da cohesividad a la masa, siendo características críticas en el desarrollo de productos de panadería (Bloom Rachel et al 2015).

Según el porcentaje de DDGS adicionado se puede obstaculizar el proceso de la fermentación y diluir el gluten, ya que disminuye el contenido de proteínas (gliadina y glutelinas) con capacidad de formarlo, y el DDGS no contiene proteínas con dicha capacidad (Saunder J.A et al 2014). Entonces los productos que se preparen mediante una fermentación serán más propensos a sufrir complicaciones al incorporarles DDGS.

Como se ha desarrollado en el punto 2.2.1 la incorporación de DDGS oscurece al producto, aumenta el contenido de fibra trayendo complicaciones en la elasticidad y textura (dependiendo el porcentaje adicionado), en la forma y tamaño del alimento.

De las investigaciones con adición directa del DDGS del maíz, se concluye que se puede adicionar un máximo de 15% al 20% (Gr. de DDGS /100g de producto) en productos de panadería tal como pan de trigo, y hasta un 25% (Gr. De DDGS /100g de producto) en pan de maíz (ya que en lugar de reemplazar la harina de trigo por DDGS se reemplaza la harina de maíz y a su vez no requiere fermentación) superados estos valores se observan características no aceptables.

Se ha demostrado que los procesos de calor afectan al desempeño del DDGS en los productos de panadería. Aquellos granos de destilería que provienen de tratamientos que utilizan altas temperaturas tienen un menor desempeño, que los que provienen del secado en tambor a bajas temperaturas. Así como también, las temperaturas utilizadas en la elaboración de los productos disminuyen las propiedades de los DDGS.

Apoyados en las investigaciones realizadas que demuestran las cualidades que presentan los productos desarrollados con DDGS del maíz (textura, coloración, volumen, tamaño de pieza) y sus limitaciones (porcentaje a utilizar, metodología de elaboración, combinación de ingredientes, evaluación sensorial) y variaciones en del DDGS por proceso de secado sometido como por ejemplo el color. Se decidió continuar con otras vías de desarrollos y no incorporar el DDGS como materia prima directa.

Proteína

El contenido de proteínas en el DDGS es elevado en comparación al grano de maíz sin procesar, tal como lo muestra la tabla III, por lo que se evaluó la posibilidad de aprovechar los DDGS en el desarrollo de un producto partiendo de la proteína.

Como se muestra en la tabla II, las principales proteínas del maíz son: globulina, albúmina, prolina y glutelina. Siendo la prolina, denominada zeina, la que se encuentra en mayor proporción (60% del total de proteína).

En la sección 2.2.2 se mencionan y desarrollan las potenciales aplicaciones que pueden llevarse a cabo partiendo de esta proteína tales como: encapsulantes, goma de mascar, emulsionantes, envases y film. En la mayoría de estas investigaciones, la fuente de proteína proviene del salvado de maíz de la molienda húmeda o seca del grano (Cabra Flores V. et al 2009). Si bien extraer zeína de estos subproductos son mas caros que extraerlos del DDGS (Xu Weijie et al, 2008). En la molienda, la proteína no esta sometida a condiciones extremas que puedan afectar su calidad, como es en el caso del proceso del bioetanol (principalmente la fermentación y el secado), quedando demostrado en los estudios que se basaron en DDGS (Rosentrater R S. et al 2012, Shukla Rishi et al 2012, Alves Oliveira Joner et al 2012) donde se pudo observar que el rendimiento de la extracción a partir de este era baja y la calidad de los films realizados eran de menor calidad que los que se realizaban con zeína comercial.

Si bien el desarrollo de envases y films para alimentos es de gran interés en la industria de los alimentos, la disminución de la calidad de la zeína por los procesos a la que se le es sometida, los bajos rendimientos de los métodos de extracción, a la existencia de otras fuentes más abundante de zeína, como el gluten meal obtenido de la molienda y los materiales que se utilizan para el desarrollo de envases, hacen el uso de la proteína una limitante para desarrollar un producto en base de esta, así que no es tenida en cuenta para el desarrollo en esta investigación.

Derivados Lignocelulósicos (Celulosa, Lignina y Hemicelulosa)

El materia lignocelulósico esta compuesto por celulosa, lignina y hemicelulosa. De las investigaciones que utilizan este derivado para su aprovechamiento, la gran mayoría ponen su foco de interés en el uso de celulosa o hemicelulosa ya que el acceso a la lignina es más limitado. Las principales aplicaciones de celulosa y hemicelulosa se encuentran en la industria de los envases y en la producción de bioetanol.

En lo que respecta a envases, Xu Weijie et al 2008 demostró que se puede extraer el material lignocelulósico del DDGS y producir films que sean aceptados, aunque no fueran tan fuertes como los obtenidos por la celulosa pura o celofane.

Por otra parte varios investigadores intentan reutilizar los desechos del maíz utilizando el material lignocelulósico para producir Bioetanol (Li Xin et al 2010, Wang Wei et al 2013, Alvarez–Castillo A et al 2013). Si bien estos desarrollos no están contemplados en este trabajo serán tenidos en cuenta para futuras investigaciones ya que podrían aplicarse para la reutilización de residuos de procesos con DDGS.

Hemicelulosa

Del material lignocelulósico del DDGS, se ha observado que la hemicelulosa además de poder ser utilizada para el desarrollo de envases tiene un gran potencial para aplicarse en la industria de los alimentos, como una potencial materia prima para obtener aditivos.

Como se ha mencionado la hemicelulosa en el DDGS representa en promedio al 20,3 % y el azúcar que se encuentra en mayor proporción es la xilosa, cual se podría aprovechar para la producción de xilitol.

El xilitol es un (polialcohol) azúcar natural de 5 carbonos con un poder endulzante parecido a la sacarosa. Comercialmente puede ser producido de la hidrólisis química (reducción) o por fermentación (utilizando principalmente levadura del género Candida) de la xilosa o de la hemicelulosa. Una vez obtenido, el xilitol es separado y purificado por métodos cromatográficos (Zhuang et al 2009.). El producto final es muy caro por los extensivos procesos de purificación. La producción microbiana del xilitol ha sido estudiada como un método alternativo (Afflec Richard Peter 2000).

Si bien la producción de xilitol sería una buena opción para el aprovechamiento de la hemicelulosa su obtención tiene algunas limitantes como: siguiendo el método químico, este se desarrolla bajo un proceso que tiene abundantes extracciones que enlentecen el proceso y a su vez lo encarecen, y por vía microbiana, esta tiene la limitación que el ácido

formica inhibe las bacterias que llevan la conversión. Existen investigaciones para mejorar estos métodos utilizando desintoxicación de los inhibidores o utilizando membranas como puede ser la ultrafiltración por la separación y purificando y así mejorar los procesos de extracción. Aunque sería una aplicación de gran interés económico por las limitaciones actuales del método y los equipos con los que se cuenta para el desarrollo del presente trabajo se continuó con el desarrollo de otro producto.

De todas formas, la extracción de la hemicelulosa ha sido bien estudiada para obtener otro aditivo, un emulsionante. Por lo que, fundamentados en las investigaciones que demostraron la posibilidad de extraer hemicelulosa del DDGS y poderla utilizar como fue de materia prima para obtener un emulsionante se siguió por esta vía de desarrollo.

A continuación se presenta en la tabla VI, las posibilidades de aprovechamiento del DDGS que se han evaluado para poder desarrollar el presente trabajo.

Tabla VI - Resumen del aprovechamiento del DDGS

COMPONENTE	FUENTE	PROCESO	DESARROLLOS	REFERENCIA (*)
DDGS (sin modificación química)	DDGS (maíz y trigo)	Aplicación Directa	SUSTITUTO DE HARINAS	Rasco et al 1987, Rasco et al 1989, Denise Brochelti et al 1989, Liu Sean X et al 2010, Saunders et al 2014
PROTEINA	Salvado de maíz (molienda húmeda o seca)	Separación química y enzimática	EMULSIONANTE	Cabra I. et al 2009
	Salvado de maíz (molienda húmeda o seca) y DDGS	Extracción química (alcohólica)	ENVASES (Plásticos biodegradables, adhesivos, y películas para recubrimiento de alimentos)	Corradini Elisangela et al 2014
	Salvado de maíz (molienda húmeda o	Extracción química	SUSTITUTO DEL GLUTEN	Bloom Rachel

	seca)			2015
CELULOSA	DDGS (maíz y trigo), Salvado (molienda húmeda o seca), Mazorca de maíz	Degradación química y enzimática	FILM	Xu Weijie et al 2008,
	DDGS y Mazorca de maíz	Degradación química y enzimática	GENERACION DE BIOETANOL	Casillas Barroso Miguel et al 2010, Li Xin et al 2010, Wang Wei et al 2013, Alvarez-Castillo A et al 2013
HEMICELULOSA	Salvador de maíz, DDGS, Mazorca de maíz	Degradación de química	EMULSIONANTE	Yadav et al 2005, Xinyi E et al 2010
	Mazorca del maíz	Degradación química y fermentación	XILITOL (Edulcorante apto para diabéticos, reductor de caries)	Afflec Richard Peter 2001, Zhuang J. et al 2009
	Salvado de maíz	Tratamiento químico	FILM HIDROFOBICO	Freddon E. et al 2002

Fuente: Elaboración propia tomando las fuentes de la referencia (*)

4. MATERIALES Y METODO

Materiales

El DDGS fue cortesía de dos empresas elaboradoras de bioetanol diferentes: BIO4 ubicada en la provincia de Córdoba y Arcor San Pedro situada en la provincia de Buenos Aires. A la muestra obtenida por la empresa cordobesa se la secó a 100°C, 10 Hs. en estufa y se le realizaron análisis de materia grasa (Soxlet), Proteína (Kjeldahl), ceniza (AOAC 923.03 1990) y humedad (AOAC 925.10) y se compararon con los análisis recibidos por la empresa bonaerense, (análisis mostrado en **Anexo 3**) de esta comparación y por otras variables como distancia de la empresa y forma de recepción de las muestras (seca o húmeda), se decidió realizar la investigación con los DDGS provenientes de la empresa Arcor. Además se compararon los datos obtenidos con los estudios realizados por Xinyi E. et al., 2010; Yougmi Kim et al., 2008; Sphies et al. 2002 y Belyea et al. 2004.

El sabor a naranja utilizado en extracto oleoso (y no alcohólico) fue cortesía de la empresa Harmony S.A.

Extracción de Hemicelulosa

La extracción de hemicelulosa se realizó siguiendo la técnica de estudio de Xinyi E. et al, 2010 con modificaciones tomadas del trabajo de Gaspar et al, 2007 y otras modificaciones tomadas de Yadav P. et al, 2002 y Donner L. W. et al, 2001. La muestra como se indica en la Figura 4 se paso por el mortero, para aumentar la superficie de contacto, y se pesaron 100 gramos. Se colocó en vaso de precipitado y se adicionaron 558ml de agua destilada y 2meq de hidróxido de sodio (Na(OH))/g de DDGS). Luego se llevó a autoclave (modelo VZ 100) a 120°C por una hora a una presión de 2 bares. Finalizada esta etapa, se sometió a centrifugación (Rolco CM2036) a 4000 rpm por

10min y se prosiguió a separar la parte sólida, (rica en celulosa, lignina y cutina) de la parte líquida (rica en hemicelulosa).

Siguiendo el método de Donner et al, 2000, para separar la hemicelulosa A (insolubles en medio ácido) de la Hemicelulosa B (soluble en medio ácido), se tomo la fase líquida y se ajusto el pH a 4,5 con 5ml de H_2SO_4 al 25% y se volvió a centrifugar. Por trasvasado se separaron: el sólido rico en hemicelulosa A, el líquido rico en hemicelulosa B y la capa lipídica, se pesaron las partes. Una vez separada la hemicelulosa A, se añadió al líquido con hemicelulosa B dos volúmenes de etanol al 95%, y se dejo reposar por un día a 5°C, ayudando a la floculación⁶ de las impurezas. Pasado el tiempo, se separó de manera mecánica trasvasando lo floculado. Para asegurarse un mayor precipitado de impurezas se llevo a centrifugado. Se lavó con etanol de igual volumen.

Se repitieron estos pasos 3 veces: Momento A, Momento B y Momento C. (Entiéndase por momentos, a extracciones diferentes).

La muestra obtenida del Momento A fue a secado a fin de aumentar la vida útil de la hemicelulosa y evitar degradación. Para ello fue llevada a concentración de la solución en baño maría a 100 °C, y luego secado en esterilizador (FAETA Modelo 70-hqlf) a 70° hasta humedad constante. Finalmente, se pesó la muestra y se continuó con la medición en turbidimetría.

La muestra obtenida del Momento B fue utilizada para investigar la clarificación de la hemicelulosa. La clarificación contó con la toma de 16ml de solución de hemicelulosa que se le adicionaron 70ml de agua oxigenada 10 volúmenes dejándola reposar 30 minutos para verificar cambios. Se tomó 22ml de esta solución y se agregaron 20 ml de agua oxigenada 50 volúmenes dejándola en reposo por 24 horas. Luego se observaron los cambios. La fracción restante (48gr) se utilizó para hacer una nueva corrida de turbidimetría sabiendo la concentración de hemicelulosa en base a los cálculos en el anexo 1.

⁶ Floculación: Formación de aglomerados por unión de partículas en suspensión existentes en el seno del liquido. *Bureau Veritas, Manual para la formación en medio ambiente,2008*

En el Momento C la muestra fue llevada a centrifugación a 2500rpm durante 5 min. Se repitió la centrifugación 5 veces hasta no poder separar más alcohol de la muestra. Luego se separó en dos fracciones de peso conocido. Una fue utilizada para hacer una corrida de turbidimetría y la otra fue a secado por liofilización previo tratamiento en estufa al vacío (*Bomba de vacío “Pascal bomba de alto vacío PC100” y estufa “National Appliance Co. Model 5831-8”*) a 40 °C y a -80 Kpa. durante 6hs para evitar daños en el liofilizador (RIFICOR modelo L-M10-A-E50-CRT).

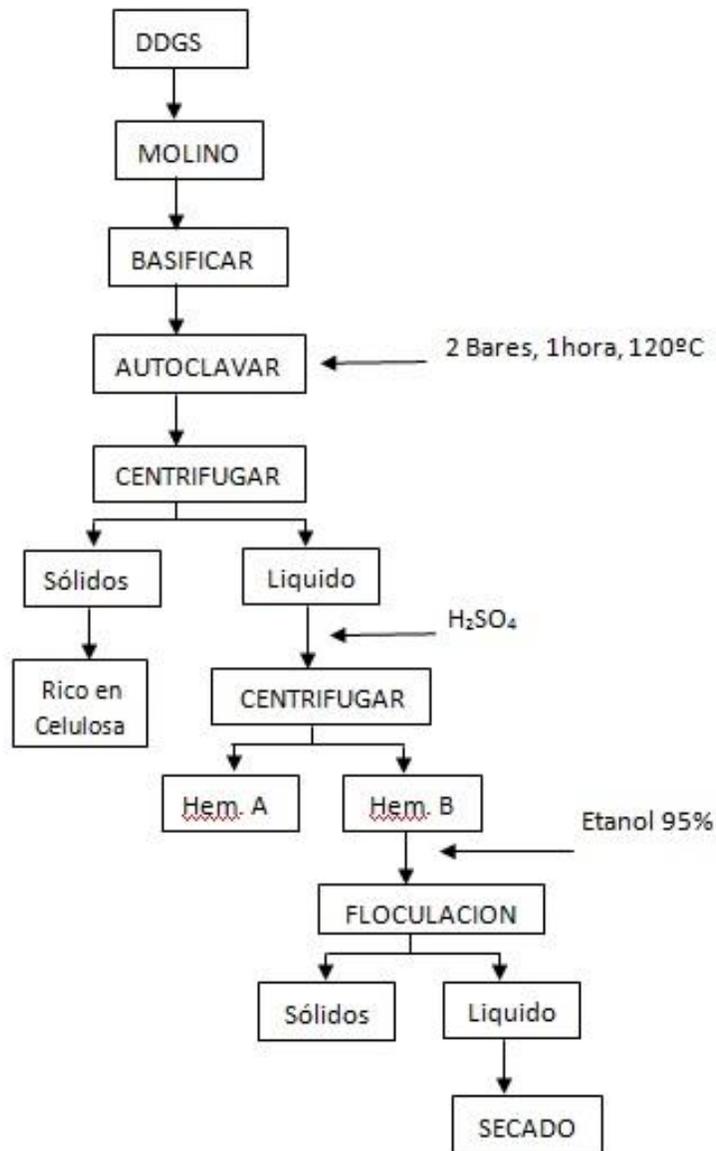


Figura 8 - Extracción de Hemicelulosa

Fuente: Elaboración propia

Preparación de bebida con saborizante oleoso a naranja

Para el desarrollo de la bebida con sabor a naranja se siguió lo expuesto por Yadav P. M. et al, 2007. Se prepararon 3 soluciones base: una para la goma arábica, otra para la hemicelulosa y la última para el blanco. Las mismas se formularon de la siguiente

forma: 6%p/v de emulsionante (para el caso del blanco se utilizó 6% de agua), 0,12%p/v de benzoato de sodio y 0,36%p/v de ácido cítrico. Con cuidado de disolver primero el benzoato de sodio. Se agitó vigorosamente cada solución hasta conseguir la correcta homogenización de todos los componentes.

Luego se prosiguió a desarrollar dos soluciones emulsionantes por cada solución base. Para ello se toman 2,5g de solución base y se mezclan con 300 mg (360µl) de aceite de naranja y 200µl de agua destilada. De esta forma se obtuvieron 6 soluciones emulsionantes (2 soluciones blanco, 2 soluciones con goma arábica y 2 soluciones con hemicelulosa). Al final se homogeneizaron vigorosamente las soluciones. Para el caso del momento C se formaron 8 soluciones: 2 soluciones blanco, 2 soluciones con goma arábica, 2 soluciones con hemicelulosa liofilizada y 2 soluciones con hemicelulosa sin liofilizar. Además en este caso, la homogenización se hizo con una Minipimer (Philips HR 1363) al máximo de revoluciones durante 5 minutos cada solución.

Finalmente, se preparó una dilución por cada solución emulsionante, diluyéndola con 125ml de solución al 10% de sacarosa, 0,1% benzoato de sodio y 0,3% ácido cítrico.

Estos pasos se repitieron para las muestras de cada Momento A, B y C.

Medición de la estabilidad de la emulsión en el tiempo

La medición de la estabilidad de la emulsión en el tiempo se llevó a cabo mediante turbidimetría:

Para la medición de la absorbancia de las soluciones se utilizó el Espectrofotómetro (*espectrofotómetro Spectronic 20 Genesys*) en el espectro del visible con una onda de luz de 650 nm. y cubetas de 1cm de ancho. Se tomaron las emulsiones preparadas y se completó el volumen de las cubetas, quedando así 6 cubetas: 2 blancos (B1 y B2), 2 con goma arábica (GA1 y GA2) y 2 con hemicelulosa (H1 y H2). En el caso del momento C, quedaron 8 cubetas, ya que se suman HL1 y HL2 correspondientes a las

muestras liofilizadas y H1 y H2 corresponden a las muestras previas al secado. De esta manera se pudo verificar el efecto de la liofilización sobre las propiedades emulsionantes. Para reducir los posibles errores de trasvasado, se colocaron las soluciones en cubetas y se utilizaron de esta forma a lo largo del periodo de medición. Para identificar las cubetas sin rotularlas directamente, se guardaban en vasos de precipitados rotulados con papel dispuesto de tal manera que evitara que se volcaran. Entre mediciones las cubetas se almacenaron de esta forma y se cubrían los vasos con vidrio reloj para evitar posibles contaminaciones.

Las mediciones se llevaron a cabo por 10 días. En este periodo de tiempo las soluciones fueron conservadas a condiciones de temperatura y presión ambiente.

. Las absorbancias diarias permitieron calcular la turbidez por medio de la siguiente ecuación:

$$T = \frac{2,303 \times AD}{l} \quad (1)$$

En donde **T** es la turbidez, **A** la absorbancia, **D** factor de dilución y **l** el área de la cubeta de medición. Por medio de la turbidez se puede ver la estabilidad de la emulsión preparada.

Evaluación sensorial de las bebidas

Evaluación sensorial de comparación de Hemicelulosa B.

La evaluación sensorial de la bebida emulsionada con hemicelulosa B busca caracterizar sus propiedades, ver si estas son aceptables por el consumidor y si la prefiere sobre una bebida preparada de iguales condiciones sin emulsionante. Para ello se decidió realizar una prueba sensorial afectiva, de preferencia y de aceptación.

La evaluación sensorial se da lugar en el segundo subsuelo de UADE labs y para llevarla a cabo, una vez obtenida la bebida emulsionada con hemicelulosa B, se prepara la bebida, tal como se detalla en la figura 10, pero sin adicionarle emulsionante. Se

codifican 2 muestras con un número de 3 dígitos en vasos transparentes a temperatura ambiente y se lo presentan a un panel de 30 jueces consumidores. Los jueces seleccionados deben ser potenciales consumidores de la bebida preparada.

La prueba de preferencia consiste en preguntarle al consumidor, formulario 1 mostrado en el anexo 4, qué muestra prefiere. Para esto, se respeta el orden de degustación donde la mitad del grupo pruebe primero la muestra con hemicelulosa B y la otra mitad pruebe primero la muestra sin emulsionante. Considerando un nivel de significancia del 5% con 30 jueces, se debe contar con por lo menos 21 respuestas coincidentes para que la diferencia sea significativa (Anzaldúa- Morales A, 1994).

Si bien el consumidor puede preferir una sobre la otra, no garantiza que la acepte, por eso se lleva a cabo la evaluación de aceptación. Esta, bajo iguales condiciones de jueces y físicas que la anterior, consiste en presentarle al panelista una muestra a temperatura ambiente de bebida emulsionada con hemicelulosa B, luego se le pide que la pruebe e indique, mediante formulario 2 Anexo 4, que tanto le gusto la muestra de una escala de 5 categorías: Excelente=5, Muy bueno=4, Bueno=3, Regular=2 y Malo=1. Luego se analizan los datos con la tabla XXI, considerando una nivel de significancia del 5% y 30 panelista, se debe contar con por lo menos 20 respuestas coincidentes.

Evaluación sensorial de comparación de Hemicelulosa B y Goma Arábica

Para poder asegurar que la hemicelulosa B puede ser utilizada como un sustituto de la goma arábica, se deben llevar a cabo pruebas sensoriales de comparación. Esta, busca poder identificar si existen diferencias detectables por el consumidor entre las bebidas emulsionadas confeccionadas con estos emulsionantes. El método más adecuado es la evaluación analítica discriminativa - triangular.

Esta evaluación, al igual que en los casos de evaluación sensorial anteriores, toma lugar en el segundo subsuelo de UADE labs, y a diferencia de estos se requieren 10 jueces con cierto grado experiencia. (semi- entrenados). La técnica se realiza luego de haber preparado la bebida emulsionada con goma arábica y con hemicelulosa B. Entonces, se arma el panel con 3 muestras en vasos transparentes codificadas con un número de 3 dígitos

elegidos al azar. Dos de las muestras codificadas contienen la bebida emulsionada con goma arábica y la restante con hemicelulosa B. Luego, mediante formulario 3, se le pregunta al juez cual es la muestra diferente.

La evaluación de los datos se hace mediante la tabla XXII, al trabajar con un nivel de significancia del %5 y 10 jueces, se requiere un mínimo de 7 respuestas coincidentes para que la diferencia sea significativa. Los jueces semi-entrenados serán estudiantes de Ingeniería en alimentos de UADE que ya hayan cursado la materia” Nutrición y evaluación sensorial”.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Consideraciones previas

En el desarrollo del presente trabajo, se presentaron inconvenientes debido a diferentes factores, tales como:

- Los recursos con los que se contaban no nos permitieron realizar la extracción de hemicelulosa con H_2O_2 solo o adicionando H_2O_2 a la solución de $Na(OH)$ y DDGS debido, a que al ser sometida a alta presión y temperatura es una practica de riego. A pesar de los beneficios de utilizar H_2O_2 y teniendo en cuenta los rendimientos obtenidos por Xinyi E et al, 2010 se consideró que no era un factor determinante en la extracción de la misma y se decidió continuar el desarrollo usando hidróxido de sodio en la extracción de hemicelulosa.
- Para disminuir las impurezas de la muestra el método sugerido por Xinyi E et al, 2010 requiere el uso de filtración a vacío con un filtro “Precoat celite-577” ($2,5 \mu m$). Al no contar con el mismo se utilizo un filtro banda negra ($12-25 \mu m$) de mayor poro que el sugerido. De todas formas, debido a que el fluido era muy viscoso la bomba de vacío (Pascal PC 100, Bomba para alto vacío) para realizar la filtración no era eficiente. A pesar de que se intento llevar a cabo otros métodos para disminuir las impurezas presentes, tal como el uso de lienzo en la bomba de vacío, no se pudieron separar las impurezas debido a que los poros eran demasiado grandes.
- La centrifuga con la que se contaba era batch y tenía poca capacidad (4 tubos de 50 ml) por lo que la extracción se realizó en varias etapas produciendo mayor error por perdida de muestra.

- Debido a que no se contaba con una secadora industrial, el secado de la hemicelulosa del momento A no pudo ser realizada de manera pareja y uniforme, ya que tuvo que ser secada primero a baño maría a 100°C y luego a estufa a 70°C. Por lo que el producto final tuvo inconvenientes para poder ser disuelto en agua.
- Por último, como no se contaba con las columnas y los detectores de HPLC adecuados para la medición de hemicelulosa, no se pudo cuantificar la misma en ningún punto de la extracción. Por lo tanto, en base a lo investigado se estimo de forma teórica la cantidad de hemicelulosa en la muestra final.

Análisis y comparación de DDGS

En base a lo propuesto, se analizaron las materias primas y en la tabla VII se detallan los resultados. A continuación de esta, se puede observar en las tablas VIII, IX y X la recopilación de los datos de composición de DDGS de distintas fuentes.

Tabla VII- Composición del DDGS de proveedores argentinos

Composición Promedio de DDGS de maíz			
	BIO4(secada)	ARCOR	ARCOR corregido*
Grasa	7,898333	7,69	15,75
Proteínas	25,47841	12,98	26,59
Almidón	-	0,4	0,9
Fibra detergente neutro	-	13,25	27,17
Fibra detergente acido	-	7,2	14,76
Fibra bruta	-	2,47	5,06
Cenizas	3,14	2,35	4,81
Humedad	10,72	61,97	10,72

Valores expresados en gr/100 gr de muestra

Error ± 0,5%

$$datos\ corregidos = \frac{datos\ originales}{100\ gr - agua\ perdida}$$

Fuente: Elaboración Propia

Tabla VIII - Composición del DDGS según Spiels et al, 2002 y Belyea et al, 2004

	Spiels et al., mean value, coefficients of variation	Belyea et al., mean (%)
Moisture content (% total)	11.1	Na
Dry matter content (% total)	88.9 (1.7)	Na
Total mass closure	100.0	
Crude protein	30.2% (6.4)	31.3
Crude fat	10.9% (7.8)	11.9
Crude fiber	8.8% (8.7)	10.2
Starch	Na	5.1
ADF	16.2% (28.4)	17.2
Ash	5.8% (14.7)	4.6

All values are % dry basis except where otherwise noted.

** *ADF (acid detergent fiber)*

Fuente: Youngmi Kim et al, 2008

Tabla IX - Composición de DDGS y su material celulósico

	Average	Relative deviation
<i>(A) Cellulosic biomass compositional analysis</i>		
Dry matter	88.8	0.0
Water extractives	24.7	0.0
Ether extractives	11.6	0.1
Crude protein	24.9	0.1
Glucan (total)	21.2	0.2
Cellulose	(16)	(0.1)
Starch	(5.2)	(0.1)
Xylan and arabinan	13.5	0.2
Xylan	(8.2)	(0.1)
Arabinan	(5.3)	(0.0)
Ash	4.5	NA
Total dry matter mass closure	100.4	

Fuente: Young Kim et al, 2008

Tabla X - Composición de DDGS por Xinyi E et al, 2010

(N=2)

Protein	Fat	Ash	Glycerol	Starch	Hemicellulose	Cellulose ^b
28.6±1.65	11.09±0.04	4.12±0.00	4.24±0.09	7.71±0.53	23.88±1.51	20.36

^aBased on DDGS dry weight.

^bCellulose was calculated as 100% - the sum of other components.

Fuente: Xinyi E et al, 2010

Luego de analizar las materias primas provenientes de Arcor San Pedro SA y de Bio4 se obtuvieron valores analógicamente esperados (ver Tabla VII). Siendo la fibra la que se encuentra en mayor proporción, luego las proteínas y por último las grasas. Como ya fue mencionado, la fibra detergente neutra está compuesta por hemicelulosa, celulosa,

lignina y cutina, mientras que la fibra detergente ácida está compuesta por celulosa, lignina y cutina. Por lo tanto, de estos datos tendremos una noción de la cantidad hemicelulosa presente en la muestra al realizar la resta correspondiente. Así se llega que el contenido de hemicelulosa es de 12,41 % p/p en la muestra de ARCOR (anexo1.1). Si comparamos las cantidad de hemicelulosa (Xilosa+ arabinosa+ galactosa) presentes en nuestra materia prima con la cantidad obtenida por Yougmi Kim et al., 2008 se verifica que el valor es ligeramente inferior. Sin embargo si comparamos con los datos obtenidos por Xinyi E. et al., 2010 notificaremos que el valor obtenido de hemicelulosa es prácticamente la mitad con respecto a la obtenida por él. Hay que destacar que los métodos empleados por Xinyi E. et al.,2010 y Yougmi Kim et al., 2008 son similares. En base a esto, no se comprende plenamente porque hay tanta diferencia entre los valores obtenidos. La razón más factible es que la naturaleza de ambas materias primas sean diferentes dado que la obtenida por Xinyi E. et al., 2010 es de Cargill Dry Corn Ingredients Inc (Indiapolis, IN,USA) y la otra de Big River Resources , LLC (West Burlington, IA, USA).

Por otro lado, en este trabajo no se tomó en cuenta el contenido de almidón en la materia prima. Si bien el mismo puede ser un interferente en el producto final se descarto desalmidonar la muestra, dado que el contenido del mismo era muy bajo (<1% p/p de DDGS). Por lo tanto se decidió no efectuar alguna técnica para lixiviarlo⁷ (por ejemplo hidrolisis enzimática).

Luego de los análisis, basados en las distancias hasta la planta productora de DDGS, la composición conocida (particularmente de hemicelulosa) y las condiciones de entrega, se decidió trabajar con la muestra de Arcor San Pedro.

Extracción de hemicelulosa

Tal como se ilustró anteriormente en la figura 9, la extracción de la hemicelulosa comienza con la molienda de los granos del DDGS. Esto disminuye la granulometría y aumenta la superficie de contacto entre las partículas y el hidróxido de sodio. De esta forma

⁷ Lixiviado: Liquido resultante de un proceso de percolación de un fluido a través de un sólido.

se logra una mayor penetración del Na(OH) permitiendo atacar de manera más eficiente a las uniones entre la hemicelulosa y la matriz que la contiene, que luego al ser sometida a alta presión y temperatura, en el autoclave, se rompe liberando la hemicelulosa. A la salida del autoclave el sistema presentaba un pH 10, con dos fases: una sólida marrón oscura de textura cremosa y una líquida de alta viscosidad de igual color con partículas de marrón claro.

Al someter el sistema a centrifugado, las fases se separaron quedando 4 capas bien diferenciadas, ilustradas en la imagen 1: (1) La menos densa de las capas se encuentra en la superficie, es fluida, viscosa y de color marrón con tonos amarillos con partículas en suspensión en abundante cantidad. (2) La segunda capa es fluida y es la menos viscosa de las 4, de color marrón oscuro con partículas de tonos marrones más claros presentes en pocas cantidades, que en reposo tienen a acumularse en la interface de la capa 1 y 2. (3) La tercera capa, de color marrón brillante, prácticamente homogénea y con muy alta viscosidad. (4) La cuarta capa ubicada en la parte inferior es marrón oscura con gran cantidad de partículas, es prácticamente sólida y arenosa.

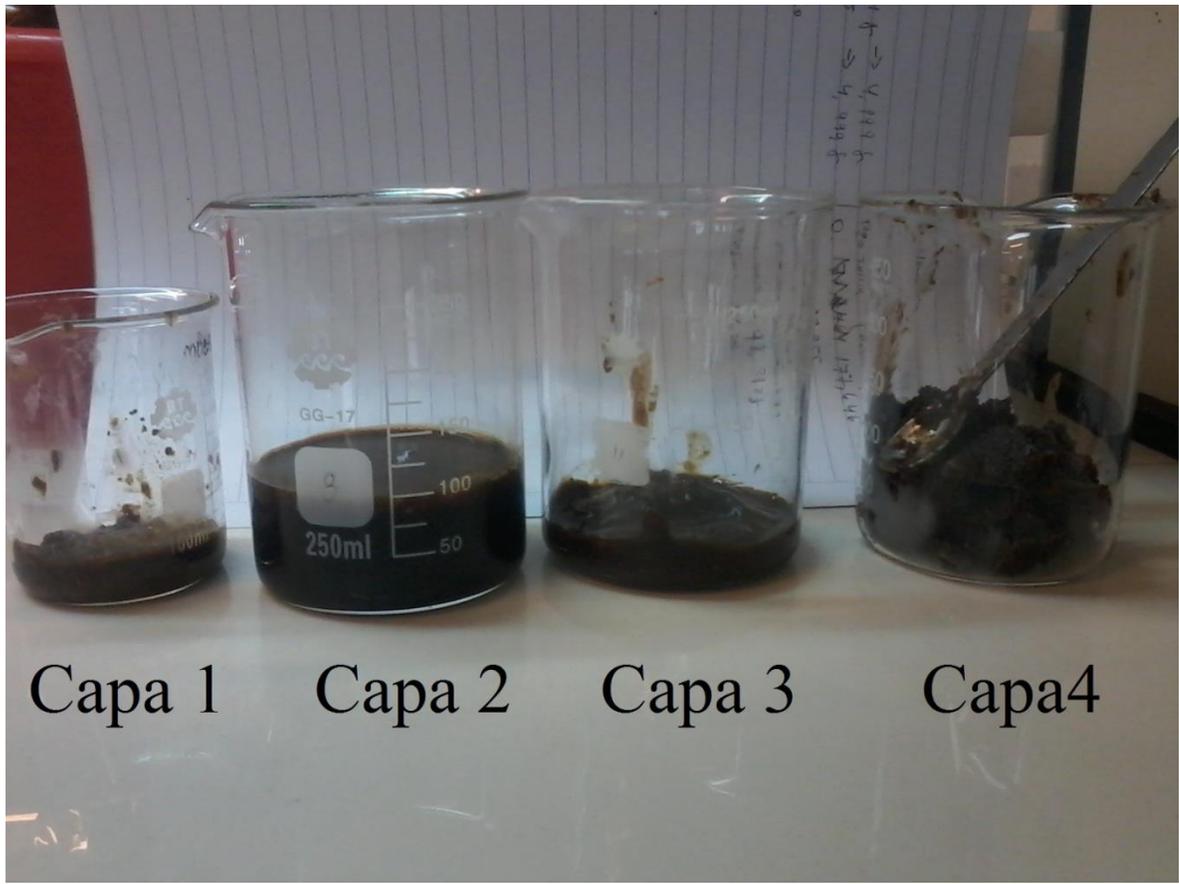


Imagen 1 - Separación de las capas luego de la centrifugación

Fuente: Imagen propia

La heterogeneidad del sistema se puede entender ya que en Argentina para la obtención de bioetanol se parte de un proceso que comienza con la molienda seca del grano. Esta técnica no separa el grano en sus componentes principales, por lo que el resultado es una harina rica en almidón, proteínas y lípidos. Si bien, estos componentes son los responsables de la riqueza nutricional de los DDGS al momento de realizar la extracción de hemicelulosa se convierten en interferentes del proceso. Los lípidos al no ser separados al momento de alcalinizar el medio, dan lugar a posibles saponificaciones y luego de la centrifugación por ser menos densos ascienden a la superficie en conjunto con el resto de las partículas menos densas. La capa más densa de color marrón más oscura contiene todos los sólidos y partículas insolubles principalmente material celulósico. La parte más líquida y homogénea contiene a la mayor proporción de hemicelulosa.

La separación de capas es un punto muy importante del proceso, ya que define el rendimiento del tratamiento. Por lo expuesto, cuanto más líquido quede asociado a los sólidos, más hemicelulosa se está perdiendo, y así se obtendría un menor rendimiento.

Para mayor detalle de las imágenes de las capas ver ANEXO 2.

En la siguiente etapa, al acidificar el medio se verificó una clarificación de la muestra. Luego de la centrifugación se obtuvieron 3 capas bien definidas como muestra la figura 6: (1) la superior de color marrón claro, alto contenido de partículas de gran tamaño y apariencia oleosa y viscosa, (2) la del medio contiene la hemicelulosa B, presenta una consistencia fluida, poca viscosa y de color marrón claro, (3) la inferior, de una textura tixotrópica⁸, casi sólida del mismo color marrón claro que las anteriores. Esta diferenciación de capas se debe a que la hemicelulosa esta conformada por dos fracciones: A y B. Siendo la hemicelulosa A una estructura mayormente soluble en medio alcalino e insoluble en medio ácido. Por lo que, la capa inferior corresponde a la hemicelulosa A concentrada en la fase sólida (Gaspar et al, 2008), la capa del medio, líquida, contiene la hemicelulosa B ya que esta es soluble en medio acuoso a pH medio ácido, y la capa superior se relaciona con impurezas de menor densidad insolubles en medio ácido.

La separación de las fracciones de hemicelulosa es de suma importancia en este trabajo, ya que se intenta desarrollar un emulsionante para bebidas gaseosas, que tienen un pH ácido, y si no se separaran a la hora de realizar la bebida se produciría un enturbiamiento correspondiente a la floculación de la hemicelulosa A, lo que sería un defecto en el producto final (Donner et al, 2000).

⁸ Fluido tixotrópico: Fluido no newtoniano en lo que su viscosidad disminuye al aumentar el tiempo de aplicación del esfuerzo cortante, recuperando su estado inicial después de un periodo prolongado. Scaramal, 2003.

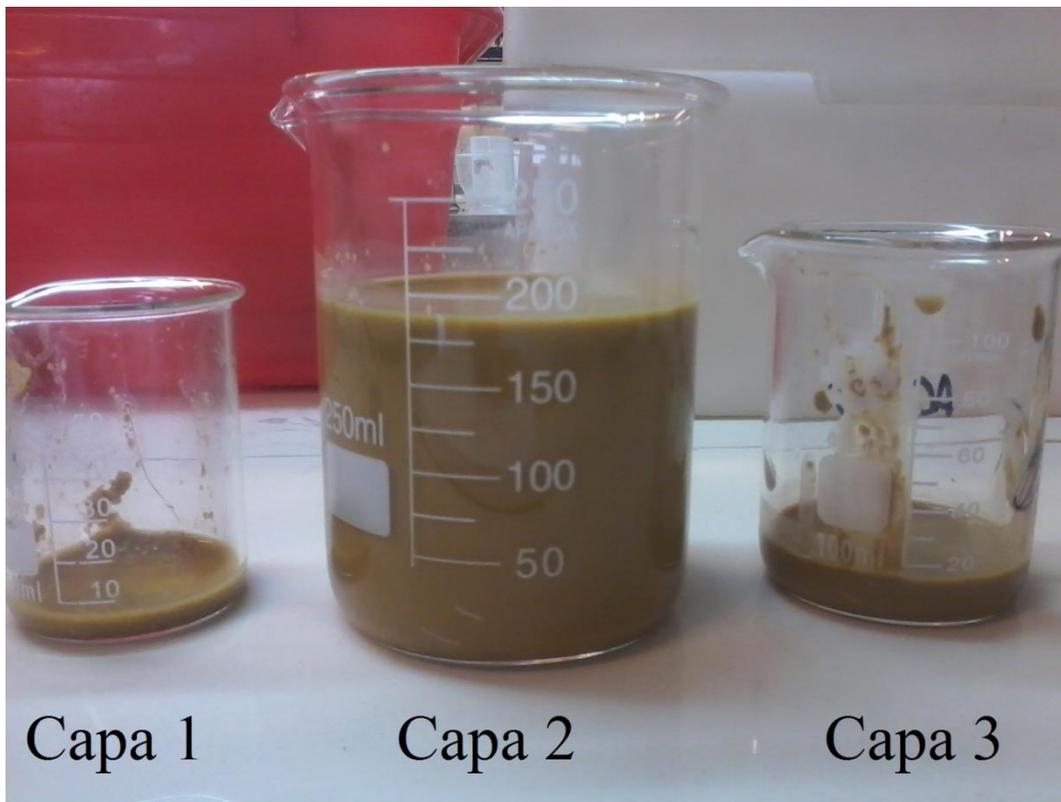


Imagen 2 - Separación de las capas luego de la segunda centrifugación

Fuente: Elaboración propia

Además de la separación de fases, la acidificación, ayuda a la clarificación, lo que explica por qué en la primera centrifugación la pigmentación era de un marrón mucho más oscuro, que luego de la acidificación y centrifugación. Este fenómeno de clarificación puede estar relacionado con la formación de dobles enlaces por la deshidratación de alcoholes debido a la adición de ácido sulfúrico (Bruice Y. P, 2008). Los dobles enlaces formados pueden dar lugar a dobles enlaces conjugados, es decir, un compuesto orgánico donde los átomos unidos mediante enlace covalente con enlaces simples y múltiples alternados (por ejemplo, $C=C-C=C-C$) y con influencia mutua para producir una región llamada deslocalización electrónica. En esta región, los electrones no pertenecen a un solo enlace o átomo, sino que se mueven entre los enlaces conjugados. La deslocalización electrónica permite que los electrones se muevan con mayor libertad y trae como consecuencia un cambio en el color observado. Sin embargo, no existe un estudio que

realmente corrobore la razón de la clarificación en DDGS. En los ensayos se verificó que si se vuelve a adicionar hidróxido de sodio el color de la muestra se vuelve a oscurecer, lo que sugiere que la reacción es reversible.

Para mayor purificación de la hemicelulosa B obtenida, se adicionó alcohol etílico y se dejó reposar toda la noche. Pasado este tiempo, la hemicelulosa B flocula y se deposita en el fondo dejando el alcohol con una coloración marrón oscura debido a la extracción de las impurezas que estaban presentes en el medio (Mostrada en imagen 3). Luego, por medio de centrifugación son separadas. La solubilidad de la hemicelulosa depende principalmente del tamaño de la molécula y la carga de la misma. Tal como se observa en este paso el agua es capaz de estabilizar las cargas a pesar del tamaño de la molécula de hemicelulosa lo que le permite a la hemicelulosa permanecer disuelta en el agua que es muy polar. En cambio a medida que agregamos alcohol etílico que es un compuesto de menor polaridad que el agua, las asociaciones entre moléculas de hemicelulosa resultan más estables termodinámicamente que las uniones con el medio lo que produce una polimerización y luego una precipitación tal como se observa en la imagen.



Imagen 3 - Sedimentación de la hemicelulosa B en medio alcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

En el momento B, 16ml de muestra obtenida luego de centrifugar el precipitado se pudo observar que luego de agregar los 70ml de H_2O_2 10 volúmenes no se observaron cambios en la coloración al instante ni luego de pasados los 30 minutos, pero tampoco ocurrieron cambios cuando se adicionó 20 ml de agua oxigenada 50 volúmenes a 22 ml de esta solución con 24 horas de reposo (ver Tabla XI). Esto se debe a que el agua oxigenada en medio ácido tiene una actividad muy limitada como agente blanqueador, por el contrario en medio alcalino es un potente blanqueador. Sin embargo a pH muy elevado ($>11,5$) el agua oxigenada se descompone en oxígeno sin generar los intermediarios activos para el blanqueado. Por lo tanto, el agregado de agua oxigenada debería ser efectuado antes de la acidificación de la mezcla.

Tabla XI - Resultado obtenido a diferentes concentraciones de agua oxigenada y solución de hemicelulosa.

	Sol. De Hemicelulosa (% p/p)	H ₂ O ₂ (% p/p)	Tiempo	Volumen total de la solución (ml)	Resultado
Prueba 1	18,60	2,44	30 min	86	Sin cambios observables
Prueba 2	9,74	8,5	24hs	42	Sin cambios observables

Fuente: Elaboración propia

En el Momento A después de someter la hemicelulosa B al secado en estufa, se obtuvo 9,48g de un producto sólido, compacto, quebradizo, de coloración marrón fuerte, de difícil disolución en agua. Parte de ese producto es causa de la concentración a baño maría, ya que se formó una capa sólida por encima de la solución mientras se trataba. Esta característica probablemente se pudo haber dado por un exceso en la temperatura de los procesos (100°C en la concentración y 70°C en estufa) o tiempos de tratamiento inadecuados en presencia de oxígeno, que trajo como consecuencia una caramelización⁹ de los azúcares. Sin embargo, luego de adicionarle 50ml de agua destilada y dejarla hidratar por 24 horas en reposo se logró disolver, obteniendo una solución de 0,17g de extracto de hemicelulosa por ml de solución.

En el Momento B la extracción de hemicelulosa terminó luego de la separación del alcohol y antes del secado, con un volumen de 64ml, donde 16 ml se utilizaron para la prueba de clarificación con agua oxigenada y 48ml para turbidimetría. Sabiendo que el extracto tenía 0,05 gr de hemicelulosa/ml de solución (Ver anexo 1.2) se utilizó el extracto para realizar las pruebas de turbidimetría.

En el momento C luego de la etapa de separación de alcohol, se prosiguió con una centrifugación, para separar la mayor cantidad de alcohol sin someter a temperatura la

⁹ Caramelización: Es un tipo de oscurecimiento que se produce por efecto del calor cuando los azúcares son calentados por encima de su punto de fusión, dando reacciones de deshidratación, fragmentación y formación de polímeros insaturados.

muestra y evitar daños en la misma. Luego de la centrifugación se obtuvieron 2 tubos Falcon: uno con 13,214 gr de muestra (F1) y el otro con 14,573 gr de muestra (F2) (ver anexo 2.13). El F1 fue llevado a liofilización. Para ello hay que asegurar que la muestra no contenga alcohol ya que podría significar daños en el equipo. Por lo tanto, se sometió la muestra a un secado en estufa al vacío (ver Anexo 2.12) para evitar la caramelización ocurrida en el momento A. Luego de este secado F1 pesaba 10,998gr y no presentaba olor a alcohol. Luego de liofilizar la muestra, se obtuvo un sólido macizo de color marrón claro, de aspecto similar a una esponja rígida, con partículas blancas semejantes a sal, quebradizo y con dificultad para disolverse en agua (ver imagen 4). El peso registrado fue 5,29gr de muestra liofilizada, de los cuales 1,75 gr son hemicelulosa pura (ver Anexo 1.1).

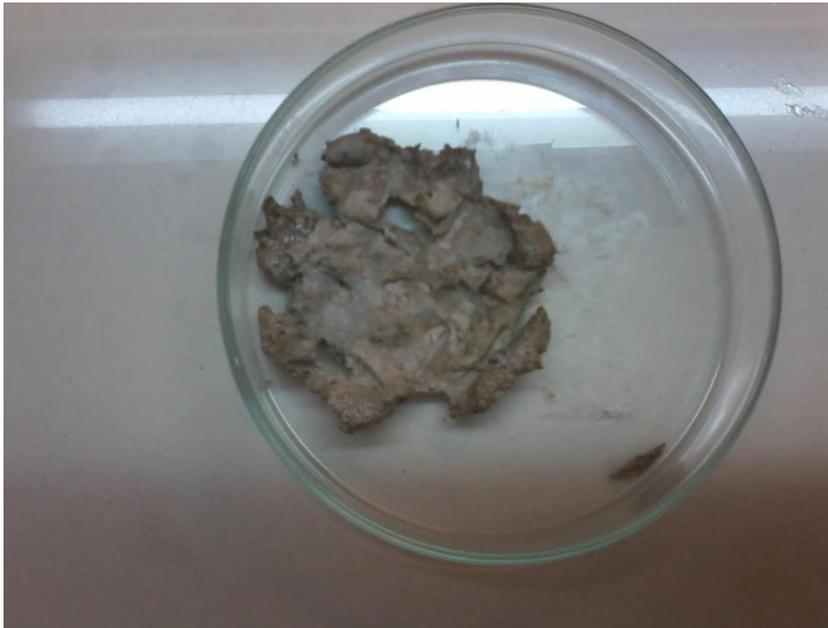


Imagen 4 - Extracto de DDGS luego de liofilizar

Fuente: Elaboración propia.

Para asegurarse que la capacidad de emulsionar de la hemicelulosa no se pierda debido al secado, se tomo una porción del extracto de hemicelulosa (F2) y no fue sometida a ningún medio de secado, utilizándose luego como solución de hemicelulosa para las pruebas de turbidimetría, sabiendo que la muestra tenía 1,92gr de hemicelulosa B (ver anexo1.3).

Cuando se realizaron las bebidas utilizando la hemicelulosa como emulsionante, aquella que no fue sometida a ningún tratamiento de secado presentó menos problemas para poder disolverse, esto es así gracias a que la hemicelulosa ya se encuentra hidratada.

En la Figura 9 se detallan resumidamente los pasos utilizados para la extracción para el momento A (secada en baño maría y estufa), Momento B (hasta separación, no se secó) y el momento C (centrifugación, pre secado y liofilización). También se muestran los subproductos remanentes y los resultados obtenidos, con sus fracciones de impurezas y de hemicelulosa B.

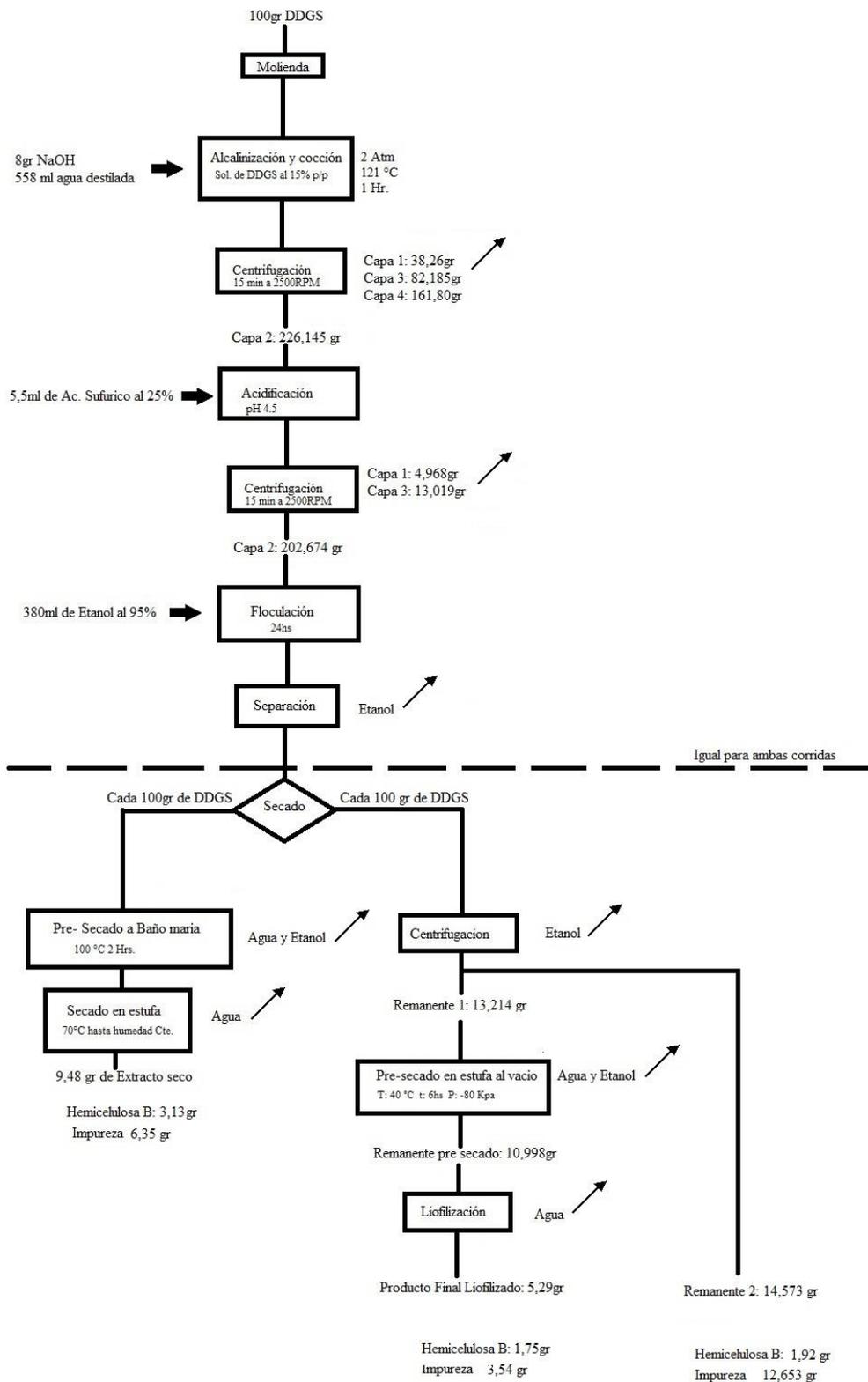


Figura 9 - Procedimientos y resultados de la extracción de Hemicelulosa

Fuente: Elaboración propia

Rendimientos

Considerando que no se contaba con patrones de arabinosa, xilosa, galactosa, columnas adecuadas (CarboPAC1), (Aminex HPX-87H) y detector de intercambio aniónico para medir el contenido de hemicelulosa en HPLC, no se pudo obtener el contenido total de hemicelulosa presente en la matriz. Debido a esto se calculó un rendimiento teórico utilizando los resultados de rendimiento de Xinyi E et al, 2010.

En el momento A, Partiendo de 100gramos de DDGS se obtienen 9,48 gramos de extracto seco, generando un desperdicio de 1042,02 gramos. Por lo expuesto arriba, el contenido de hemicelulosa B pura al que se llegó en esta extracción es de 3,13g (Los cálculos se muestran en el Anexo 1.1). En cambio en el momento C, partiendo de 100gramos de DDGS se obtienen 11,12 gramos de extracto seco (Ver anexo 1.4), generando un desperdicio de 1040,38gr y el contenido de hemicelulosa B pura al que se llegó en esta extracción es de 3,64 gramos. Además, si consideramos que la concentración inicial de hemicelulosa en la muestra es de 12,41 gr cada 100gr de DDGs obtendremos un rendimiento de 25,22% para el momento A y 29,33% para el momento C (ver anexo 1.1).

Como se observa en la tabla XII, estos resultados no se condicen con los obtenidos por Xinyi E et al. 2010, ya que utilizando Na(OH) a 120°C obtuvo un mayor contenido de hemicelulosa B (7,4g) y/o por el alcanzado por Donner et al. 2000, ya que partiendo de 100g de fibra de maíz a 60°C con H₂O₂ y Na(OH) obtuvo 15,2 a 22g de hemicelulosa B. Las diferencias pueden estar dadas debido a la materia prima inicial: en el caso de Xinyi E et al 2010 existen diferencias en la naturaleza de los DDGS utilizados como por ejemplo: lugar de procedencia, tratamiento de extracción de alcohol y de secado de los mismos, mientras que si comparamos los datos obtenidos con los de Donner et al 2000 la diferencia radica que en su trabajo se parte de fibra de maíz. La misma tiene la ventaja de no haber sido sometida a tratamientos de calor ni fermentación. Además, muchos de los

procedimientos realizados por Xinyi E. et al. debieron ser ajustados a los recursos disponibles para el desarrollo del presente trabajo, por ejemplo Xinyi E. et al. utilizó un secado en spray y en este trabajo se procede a secar liofilizando o en estufa. Por otro lado en el trabajo de Xinyi E. muchas de la separaciones luego de los tratamientos se realizan por medio de filtrado o filtrado al vacío, técnica que en nuestro caso no funcionó ya que se verificaban taponaciones e imposibilidades para efectuarla debido a la falta de los filtros necesarios, y las separaciones se realizaron por centrifugación y de forma manual.

Tabla XII- Comparación de los rendimientos de hemicelulosa

	Extracto de hemicelulosa (HFG)(gr)	Hemicelulosa pura(gr)
Momento A	9,48	3,13
Momento C	11,12	3,64
Xinyi E. et al 2010	21,94	7,406944
Donner L. W. et al 2000	41 ^a	22 ^a

Datos obtenidos cada 100 gr de DDGs tratados a 120°C 1 Hr. con NaOH (pH 11), luego acidificados y luego tratados con etanol.

^a Obtenido a partir de 100gr de fibra de maíz (CF) tratado con NaOH y H2O2 a 60°C (pH 11,5 - 12,5), luego acidificados y luego tratados con etanol.

Fuente: Elaboración propia

Considerando el tratamiento al que se someten los DDGS para la obtención de la hemicelulosa, el residuo generado contiene una alta carga de contaminantes rico en hidróxido de sodio, alcohol y material celulósico, y es pobre en nutrientes lo que lleva a que no pueda ser comercializado en el mercado de alimentos balanceado, teniendo la necesidad de tratarlos o buscar nuevas alternativas de mercado por lo sería un tema a considerar para investigaciones futuras.

Consideraciones del producto final

Tomando en cuenta las consideraciones previas el producto que se obtiene es un sólido con dificultad para disolver en agua. Aquí se consideran tres soluciones posibles:

- 1) Una vez liofilizado o secado se debe moler para aumentar la superficie de contacto una vez que se introduce en el agua.
- 2) El secado se debe realizar en secado en spray, el cual no se pudo realizar en este trabajo. Aquí posiblemente se deba trabajar en la viscosidad del producto a secar y en cuidar las temperaturas para evitar caramelizaciones en el secado.
- 3) Vender el producto ya solubilizado: el principal problema de esta solución es la durabilidad de la solución ya que el nivel de actividad acuosa¹⁰ es muy superior al del producto seco. Por otro lado, se debería desarrollar un packaging de mayor costo y el peso por gramo de hemicelulosa sería mayor.

Finalmente, no se puede garantizar la inocuidad alimentaria del producto. Partimos de un producto que sabemos por estudios ya hechos que es destinado a alimentación animal, lo cual nos sugiere que posiblemente sea apto para consumo humano. Sin embargo, con la adición de hidróxido de sodio, ácido sulfúrico y alcohol etílico, la materia prima se ve seriamente modificada. No solo trae aparejado una incertidumbre en la inocuidad alimentaria sino que también la calidad nutricional se ve seriamente afectada. Además, no existe al día de la fecha algún estudio que determine la ingesta diaria admisible (IDA)¹¹ del DDGs. Tal como lo expone Liu Sean X. et al, 2010 no se tiene certeza que el DDGS proveniente de la planta del bioetanol esté libre de micotoxinas. Se debería de llevar a cabo análisis que confirmen que las muestras de DDGS están libre de micotoxinas y son aptas para el consumo para humanos, y esto se encuentra fuera de la capacidad de análisis de este trabajo. Las micotoxinas según una publicación de U.S. Grain Council (A guide to distillers dried grains with solubles DDGs, third edition) son un parámetro a evaluar en el DDGs, ya que se acumulan en el consumidor y trae serios problemas posteriores. A pesar

¹⁰ Actividad acuosa: es la cantidad de agua “libre”, es decir, que no se encuentra formando puentes de hidrogeno con el soluto o solvatando iones, hidratos de carbono o ácidos. (Rembado M. et al, 2009)

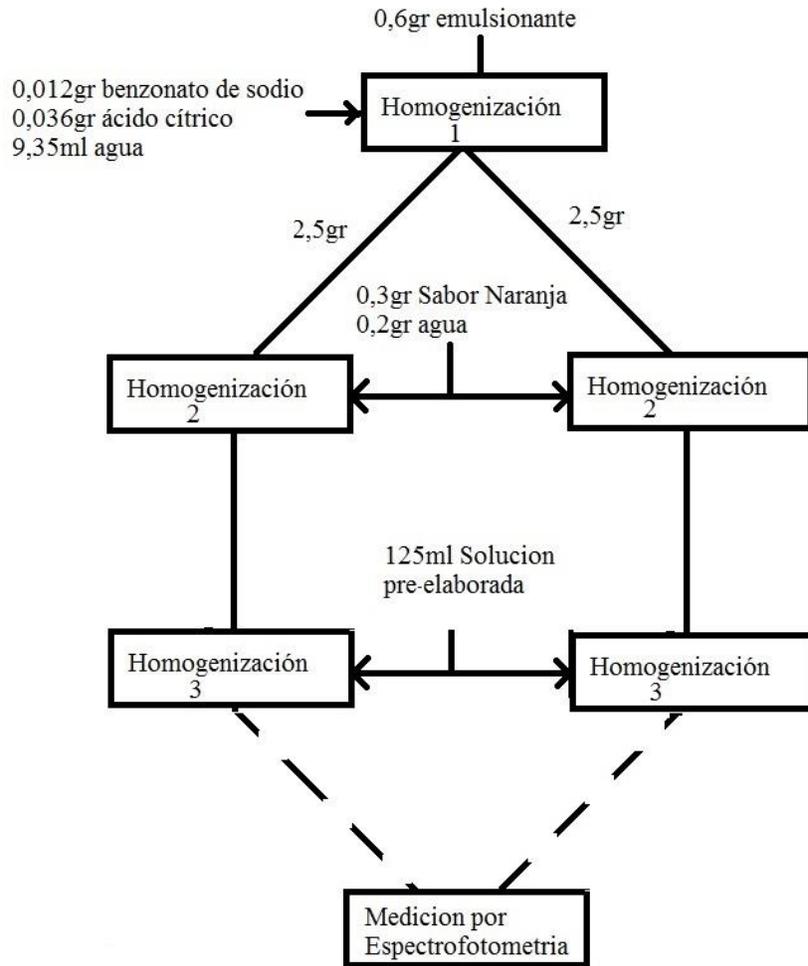
¹¹ Ingesta diaria admisible (IDA) o dosis diaria admisible (DDA): es la cantidad de una sustancia que puede ser ingerida por un individuo por día durante toda su vida, sin que le produzca daño en la salud. (Valle Vega P. et al, 2000, pág. 30)

de ello, cuando el DDGs es tratado con hidróxido de sodio a temperaturas altas está demostrado que la contaminación por micotoxinas se reduce (Riley R.T. et al, 1999). Por lo tanto no sería un problema en nuestro producto.

Medición de la estabilidad de la emulsión

Turbidimetría

La bebida fue preparada según lo detallado en la figura 11:



Sol. Preelaborada:
 -112gr de agua
 -12,5 gr de sacarosa
 -0,125gr de Benzoato de Sodio
 - 0,375gr de ácido cítrico

Figura 10 - Diagrama de flujo elaboración de bebida cítrica.

Fuente: Elaboración propia

En los 3 momentos luego de la agitación, se pudo observar que la hemicelulosa B producía espuma quedando estabilizada, mientras que en el caso de la goma arábica la formación era mínima y desaparecía luego de un breve lapso de tiempo.

En el momento A, se utilizó la hemicelulosa B en solución al 0,17 % p/p. La misma al ya estar disuelta no presentó dificultades para disolverse, pero a diferencia de la goma arábica le otorgó a la solución mayor turbidez. En este caso, todas las homogenizaciones se hicieron manualmente con ayuda de una varilla de vidrio. Por otro lado, la bebida ya hecha se almacenó en un vaso de precipitados y cada vez que se quería medir absorbancia se transvasaba a la cubeta correspondiente. Luego de medir absorbancia se descartaba el contenido de la cubeta.

En el momento B, se procedió de forma similar al momento A con la diferencia de utilizar directamente las cubetas para almacenar la bebida.

En el momento C se procedió como en el momento B con la diferencia de emplear una Minipimer para la “homogenización 2” según la imagen 5. En este caso luego de la homogenización de la solución emulsionante se vio (imagen anexo 2.15 a anexo 2.21) que las soluciones que contenían emulsionante a diferencia del blanco no formaban gotas de aceite en la superficie (cremado) visibles a simple vista. Esta es una de las ventajas, entre otras, de utilizar un emulsionante para la preparación de bebidas con sabores oleosos.



Imagen 5 - Comparación del cremado en el instante cero entre la solución emulsionante goma arábica 1 y el blanco

Fuente: Elaboración propia

Luego de realizadas las muestras, se estudio la estabilidad de emulsión por un periodo de 10 día, utilizando como cero el blanco para los momentos A y B, en cambio, para el momento C se utilizó como cero la absorbancia obtenida del espectrofotómetro sin nada en el compartimiento de la muestra. Se sacó el promedio entre los duplicados y se muestran los resultados para el momento A en el grafico 3. Los valores detallados se muestran en el anexo 1.5.1.

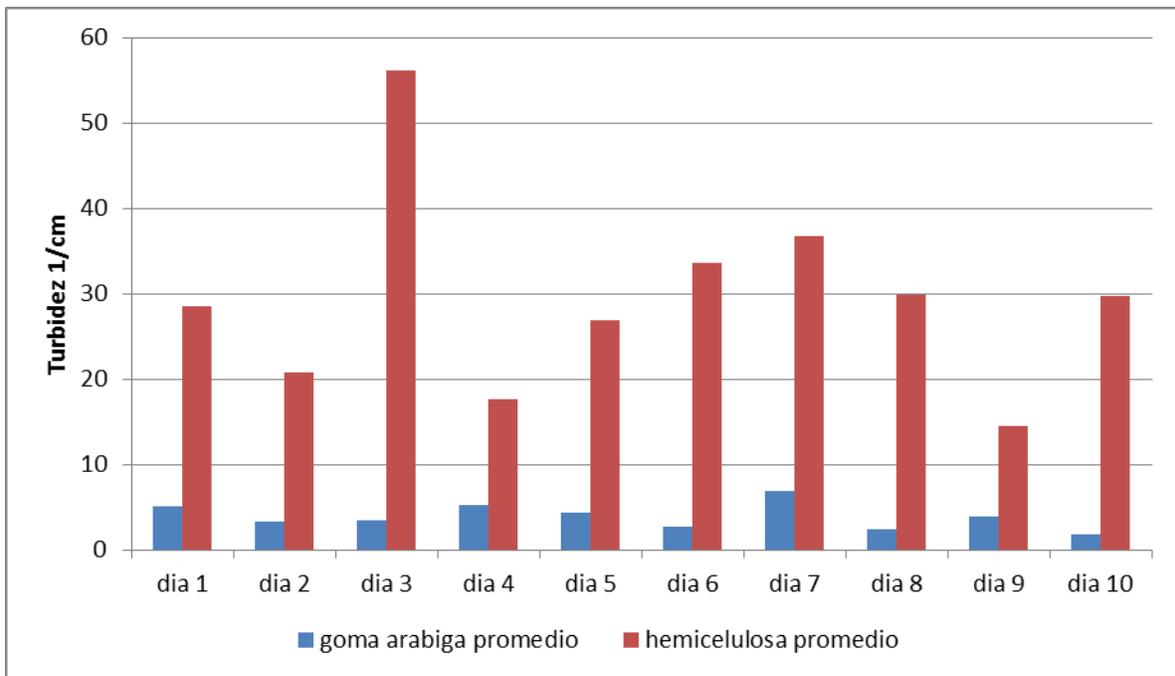


Gráfico 3 - Evolución de la estabilidad de la emulsión a cabo de 10 días usando Hemicelulosa y goma arábica como emulsionante

Fuente: Elaboración propia

Tal como se verifica en la gráfica se puede ver a simple vista que el extracto de hemicelulosa otorga mayor turbidez al medio que la goma arábica. Si tomamos en cuenta que el blanco sería la bebida con la menor turbidez posible y sabiendo que el valor de turbidez se obtiene utilizando el blanco como cero, podemos concluir que el extracto de hemicelulosa obtenido aporta una gran turbidez a la bebida y no así la goma arábica. Por otro lado, la evolución en el tiempo de la turbidez no era la esperada. La evolución del extracto de hemicelulosa, como el de la goma arábica, tuvo la máxima turbidez en un momento distinto al primer día. Teóricamente uno esperaría que el máximo de turbidez sea el primer día porque es cuando la emulsión se encuentra más estabilizada. Además la forma sinusoidal de la gráfica, tanto para la goma arábica como para la hemicelulosa, obtenida tampoco coincide con lo esperado ya que teóricamente no hay una razón para que la estabilidad de la emulsión aumente a lo largo del tiempo. Se evaluaron diferentes causas posibles: entre ellas, lo primero que se vio es que al cargar las cubetas inevitablemente se

agitaba la bebida, lo que generaría error en las mediciones, ya que puede provocar que la turbidez aumente dado a una re-dispersión de la fase discontinua en la continua. Por otro lado, se observó que el vaso de precipitados que contenía la hemicelulosa formó un sedimento, posiblemente a partir de impurezas de la extracción o por hemicelulosa caramelizada por el proceso térmico. Este suceso puso en discusión las capacidades emulsionantes de la hemicelulosa. Con respecto a la goma arábica, se pensó que podía ser de mala calidad. Por lo tanto se decidió repetir la extracción de hemicelulosa, evitar el proceso térmico y probarla directamente en turbidimetría. Para evitar el error de transvasado a las cubetas se decidió almacenar la bebida directamente en la cubeta. Finalmente se cambió la marca de la goma arábica.

La medición de la estabilidad de emulsión para el momento B arrojó los resultados mostrados en la grafica 4. Los valores detallados se muestran en el anexo 1.5.2.

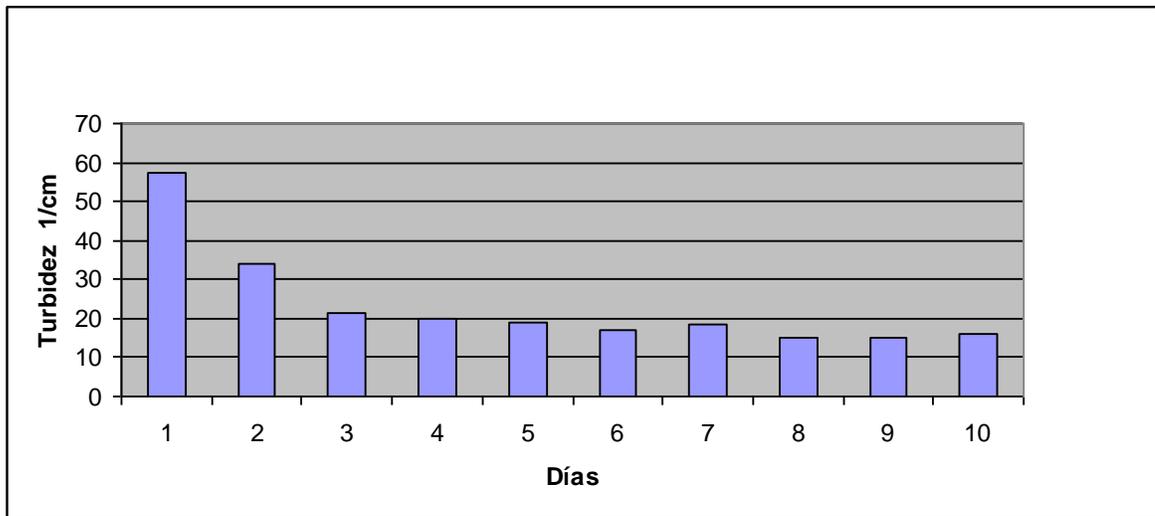


Gráfico 4 - Evolución de la estabilidad de la emulsión a cabo de 10 días usando Hemicelulosa como emulsionante.

Fuente: Elaboración Propia

Como se puede observar en la evolución de la turbidez de la hemicelulosa, la máxima turbidez se da en el primer día. Luego el valor cae abruptamente hasta el tercer día. En el sexto día el valor sigue cayendo, pero de una manera menos marcada. En el 7° día el valor asciende y en el 8vo desciende y se estabiliza hasta el 10° día. Cabe destacar que el valor de turbidez obtenido para el primer instante es bastante alto en relación al obtenido en la goma arábica (ver gráfico 5). Sin embargo, se logró una mejora considerable en los resultados al evitar el proceso térmico.

La evolución de la grafica 4 tiene explicación desde el punto de vista termodinámico y cinético de las emulsiones. Como se mencionó, en los antecedentes, las emulsiones son termodinámicamente inestables quedando justificado por la energía libre de formación, que por simple demostración, está termina quedando en función del incremento del área de contacto entre la fase dispersa y dispersante. Como esta área de contacto se incrementa luego de la homogeneización, el delta de energía libre siempre es positivo en consecuencia el sistema no es espontáneo (ver ecuación f). Por lo que con el transcurso del tiempo el sistema tenderá a la separación de las fases, explicando el descenso de los valores de la gráfica.

Desde el punto de vista de la cinética se puede apreciar cuales son los parámetros que varían y los fenómenos físicos ocurridos para que se efectuó la separación. Por lo que el primer día, cuando la emulsión estaba recién homogenizada, las gotas tenían un menor tamaño que al final distribuyéndose mejor en el medio, y al someter la solución al espectrofotómetro el haz de luz es desviado traduciéndose en una turbidez alta y por ende en una buena emulsión. Luego a medida que el tiempo transcurre ocurren fenómenos ya mencionados de inestabilización de la emulsión. Las emulsiones al ser termodinámicamente inestables con el paso del tiempo tienden a desestabilizarse, produciendo primero la floculación de las partículas, para luego coalescer y producir el cremado hasta la separación de fases. Estos procesos de envejecimiento de la emulsión fueron ocurriendo a medida que se fueron tomando las mediciones de turbidimetría. En el primer día la emulsión se encuentra mejor estabilizada, y a medida que el tiempo trascurre esta va disminuyendo. No era algo deseado que la caída de turbidez descienda tan

marcadamente en los primeros días. Esto, se puede deber a la presencia de impurezas provenientes de la extracción de la hemicelulosa que generaron una aceleración de la inestabilidad de la emulsión. Además pudo deberse a la desnaturalización de las proteínas asociadas y no asociadas a la hemicelulosa. Otra razón factible es la mala homogenización de la emulsión. Como se explicó antes, en los antecedentes, cuanto más chicas sean las gotas de aceite en el agua mayor será la estabilidad de la emulsión. Por lo tanto, si se mejora el proceso de homogenización las gotas serán más pequeñas y en tanto la emulsión perdurará estable más tiempo.

Se demostró que el contenido de proteínas es importante en la capacidad de estabilizar emulsiones con este tipo de gomas, pero estas deben de estar asociadas a otras estructuras (Yadav et al 2008).

La grafica 5 muestra la evolución de la estabilidad de la goma arábica para el momento B:

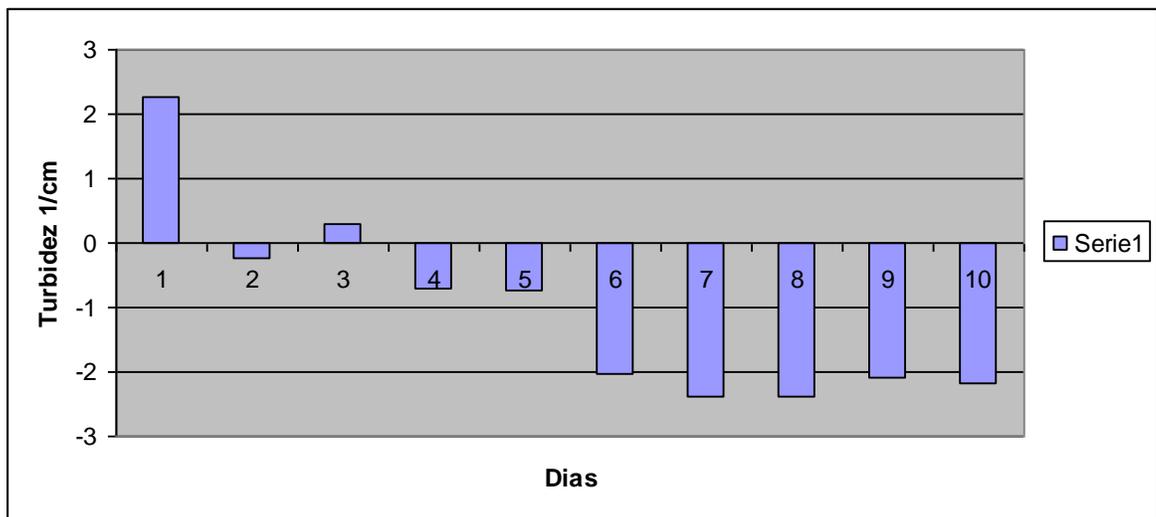


Gráfico 5 - Evolución de la estabilidad de la emulsión a cabo de 10 días usando Goma arábica como emulsionante.

Fuente: Elaboración propia

En la gráfica anterior se puede observar que los valores registrados a lo largo de los 10 días tienen una fluctuación manteniéndose entre 2,27, alcanzado en el primer día, a -2,37. Por lo que no existieron cambios significativos a lo largo del periodo

En contraste, la evolución de la grafica 5 no era de esperarse. Ya que la goma arábica al ser un emulsionante ya probado en numerosos ensayos realizados por otros autores, debería haber presentado una gráfica de características similares o mejores que la hemicelulosa. Evidentemente, la goma arábica trabajada presentaba características de deterioro o problemas para emulsionar la bebida. También pudo ser como resultado de una homogenización defectuosa. Esto se hace evidente ya que presenta una turbidez similar a la del blanco, que fue preparado en ausencia de emulsionantes. Cabe aclarar que la medición de absorbancia y en tanto la de turbidez es relativa al blanco. Por lo tanto en el grafico 6 se indica que la goma arábica por momentos emulsiona peor que el blanco. Aquí se plantea una contradicción con muchos de los estudios previos a este trabajo, lo que nos obligó a replantearnos las condiciones de trabajo.

Todo lo evaluado en el momento B nos condujo a implementar un proceso de homogenización más eficaz que garantice una dispersión eficiente de la fase dispersa y garantice una mezcla efectiva del emulsionante con las fases. Por otro lado, al comparar los resultados con otros autores se verificó que ellos realizaban las mediciones con referencia al compartimiento de muestra vacío. Además de esta forma se evita obtener valores negativos para el caso de la goma arábica. Aprovechando la nueva repetición de la extracción de hemicelulosa, se quiso introducir un proceso de secado que aumente la vida útil del producto. Por lo que, se propuso liofilizar parte del extracto y la parte restante utilizarla sin proceso térmico alguno con el fin de comparar los efectos en la turbidez.

La medición de la estabilidad de emulsión para el momento C arrojó los resultados mostrados en la grafica 6. En ella se muestran los datos obtenidos para cada emulsionante en promedio: hemicelulosa sin tratamiento térmico promedio (Hprom), hemicelulosa liofilizada (HLprom), blanco promedio y goma arábica promedio (Aprom). Los valores detallados se muestran en el anexo 1.5.3.

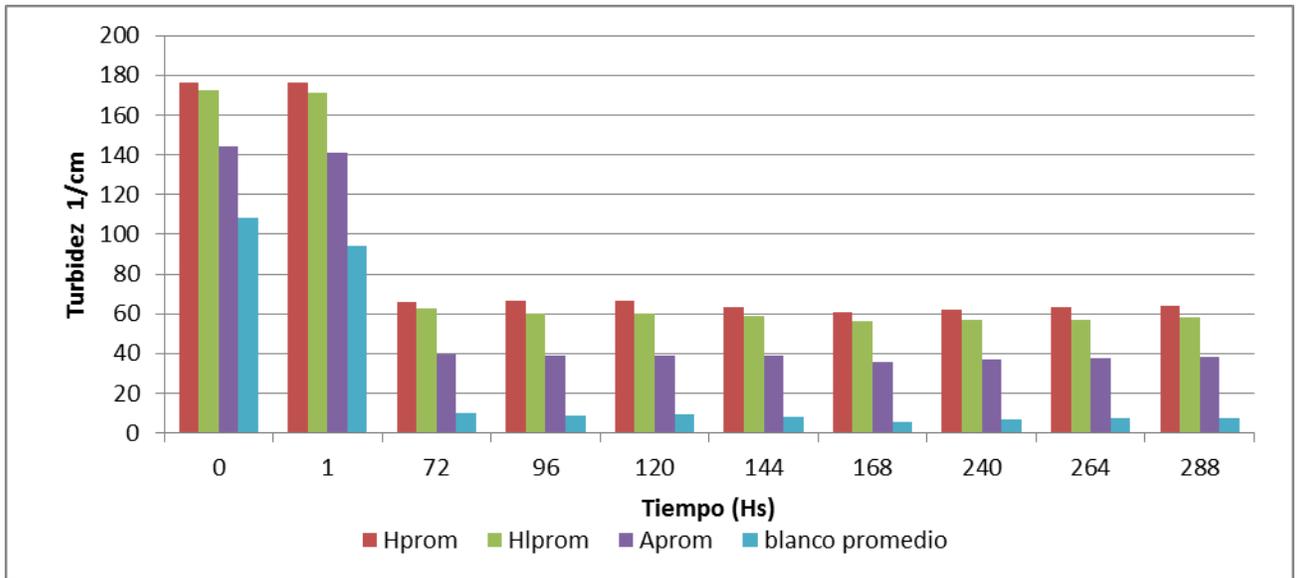


Gráfico 6 - Evolución la turbidez de las emulsiones a lo largo de 288hs del momento C.

Fuente: Elaboración propia en base a datos experimentales.

En esta instancia los datos obtenidos se aproximan mejor a lo que teóricamente se esperaba. A esto nos referimos en que no se observan aumentos considerables. Hay un pequeño aumento a partir de la medición realizada a las 168 Hs. pero se da para todas las emulsiones preparadas por lo que puede ser causa de un error del instrumental de medición, debido a que el cero establecido corresponde al espectrofotómetro sin cargar, lo que puede traer ciertas irregularidades en las mediciones. Aquí también se puede ver una posible causa del aumento en los valores de turbidez en los momentos anteriores. Si restamos los valores de turbidez del blanco a los valores de turbidez del emulsionante obtendremos el siguiente gráfico:

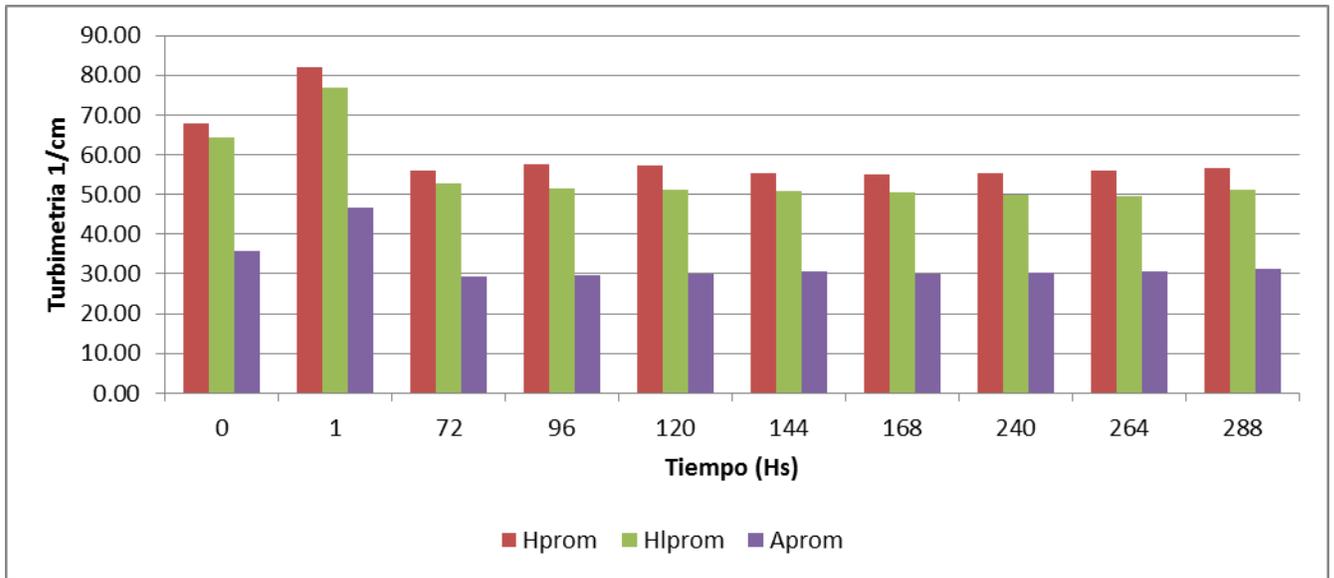


Gráfico 7 - Evolución la turbidez de las emulsiones menos el blanco a lo largo de 288hs del momento C.

Fuente: Elaboración propia en base a datos experimentales.

En el mismo se observa que hay un ascenso considerable para la primera hora. Si no contáramos con el gráfico 6 se llegaría a las mismas conclusiones que en los momentos anteriores. Este fenómeno se debe a que la medición de la absorbancia (en tanto la turbidez) con el blanco como cero está sujeta a variaciones del blanco también. Si observamos la dinámica del blanco en el grafico verificaremos que es el que más rápido descendió. Si el blanco desciende la turbidez y la muestra con emulsionante permanece constante, al medir absorbancia con el blanco como cero obtendremos una mayor absorbancia que la medida anteriormente.

Retomando con el gráfico 7 se puede observar que tanto el extracto de hemicelulosa liofilizado como el no tratado térmicamente le otorgaron al medio mayor turbidez que la goma arábica. También hay que considerar que la goma arábica utilizada en este caso fue comprada 2 días antes de la utilización y de una calidad de excelencia. Si comparamos con los gráficos anteriores veremos que los valores de turbidez obtenidos son claramente superiores al blanco (la diferencia es siempre mayor a 25 /cm unidades de

turbidez) y no como ocurrió en el momento B que dio valores negativos y en el momento A donde la diferencia nunca superó las 5/cm unidades de turbidez. La homogenización con Minipimer se tradujo en valores de turbidez más altos en relación a los momentos anteriores en todos los casos. Además de la calidad y la frescura de la goma arábiga, una buena homogenización puede ser una razón más en la mejora de los resultados de la misma. Finalmente, se verificó que la turbidez obtenida para Hlprom (extracto de hemicelulosa liofilizada promedio) es ligeramente inferior a Hprom (extracto de hemicelulosa promedio) a lo largo del tiempo estudiado. Por lo que la liofilización puede ser una tecnología recomendable para el secado de la muestra. Sin embargo, produce dificultades para disolverlo en agua.

En la tabla XIII se comparan los valores obtenidos de la turbidez de la hemicelulosa y goma arábiga obtenidos por Yadav M. et al 2007, Xinyi E. et al 2010 y los propios. Para ello se tomaron los valores de turbidimetría obtenidos en el séptimo día y se calculó el porcentaje de turbidez tomando como cien por ciento al valor de la turbidez obtenido en el instante cero. Por ejemplo para el caso de Hprom propio la lectura correcta sería: “la turbidez obtenida el séptimo día de comenzadas las mediciones es el 34,54% de la turbidez obtenida en el primer instante”. El grafico 3 sirve para ver resumidamente que tanto varía la turbidez con respecto al tiempo. Cuanto más cercano al 100% sea el valor más estable es la emulsión.

Tabla XIII - Comparación con otros autores de la variación de turbidez entre el primer instante y el día 7.

	Propio	Xinyi E.	Yadav M.
Hprom	34,53728	-	-
Hlprom	32,43018	9,375	4,857143
Aprom	24,66667	20,40816	3,030303
Blanco promedio	5,18617	3	3,125

valores expresados en porcentaje

Fuente: Elaboración propia

En base a lo obtenido en el gráfico anterior, dentro de las experiencias elaboradas en este trabajo, podemos ver que el emulsionante que mejor estabiliza la emulsión a lo largo de 7 días es el extracto de hemicelulosa sin proceso térmico, luego el extracto de hemicelulosa liofilizado y finalmente la goma arábica. En el caso de Xinyi E. et al, 2010. la goma arábica estabilizó mejor la emulsión que el extracto de hemicelulosa. Nuestro proceso de extracción de hemicelulosa se basaba en el método utilizado por él. Sin embargo, nosotros no filtramos la muestra, no lixiviamos el almidón y el secado realizado por Xinyi E. et al, 2010 fue secado en spray. En nuestro caso, la eficacia para estabilizar la emulsión con HLprom fue 3 veces mayor al obtenido por Xinyi E. et al, 2010 y 6 veces mayor al obtenido por Yadav M. et al, 2007. Esta diferencia puede estar dada en parte por las diferencias en los blancos, ver que nuestro blanco (5,19%) estabilizó un poco mejor la emulsión que la de los autores (3% y 3,125%). Otra parte, también pudo deberse al contenido de aceite en el sabor utilizado. Por otro lado en el trabajo de Yadav M. et al, 2007. se partió de fibra de maíz y no de DDGS como en nuestro trabajo y el de Xinyi E. et al, 2010. Los valores obtenidos en la goma arábica son ligeramente superiores a las obtenidas por Xinyi E. et al, 2010. Pero son muy superiores a los resultados obtenidos por Yadav M. et al, 2007. Esto puede deberse a la diferencia en los equipos utilizados, las materias primas y los procedimientos seguidos. Nos gustaría destacar que los valores de turbidez en el instante cero en el caso de Yadav M. et al, 2007 y por Xinyi E. et al, 2010. son muy superiores (alrededor de 350 1/cm y alrededor de 470 1/cm respectivamente) a los obtenidos por nosotros (alrededor de 150 1/cm). Esto pudo deberse a que se utilizó una Minipimer para el proceso de homogenización, en cambio, ellos utilizaron un proceso de homogenización en dos pasos en combinación con altas presiones.

Evaluación Sensorial

La evolución sensorial planteada en un comienzo no fue llevada a cabo. La razón principal fue la dificultad que se tuvo para obtener el producto final (hemicelulosa B), que a pesar de los estudios hechos y las investigaciones realizadas, por razones ya expuestas no se pudo alcanzar un producto que cumpla con la calidad esperada. En el mismo, quedan

expuestos marcados defectos sensoriales y se consideró que no tenía sentido realizar las pruebas hasta alcanzar un producto que al adicionarlo a la bebida: no cambie el color de la misma, no le aporte olor, no genere sedimentos, no genere flóculos y asegurar que es apto para consumo humano. De llevar a cabo las pruebas con los defectos en el producto, se estaría evidenciando qué contiene cada muestra y las pruebas sensoriales se verían seriamente condicionadas. Por ejemplo en la prueba triangular, la bebida en base a hemicelulosa B presentaba una coloración más turbia y quedaba en evidencia cual era la muestra realizada con hemicelulosa y cual con goma arábica. Muchos de los defectos que el producto final posee se pueden enmascarar por ejemplo para el problema de la turbidez se puede utilizar algún colorante color naranja. Sin embargo de aquí surgen 2 inconvenientes importantes: el primero es que el producto que se está produciendo debe ser una solución para la industria de los alimentos y su aplicación en los alimentos no debería traer aparejados otros problemas; el segundo inconveniente es que no todos los defectos se pueden enmascarar como es el caso de la sedimentación y la floculación, sino que se debería filtrar el producto y como se ha mencionado antes, el proceso de filtración no pudo ser efectuado debió a taponaciones. En base a las dificultades que implicaba enmascarar o solucionar los defectos y el tiempo con el que se contaba para realizar el trabajo, se decidió no realizar estas pruebas.

Estudio del Mercado y Costos

El mercado internacional de la goma arábica presenta una producción mundial de 20.000 a 40.000 toneladas al año. Su precio sufre una gran variación anual que oscila entre \$US 3,4 y \$US 8,1 por kg. de goma en polvo y entre \$US 4,2 y \$US 8,8 por kg. de goma seca al spray (Defain Tesoriero M..V. et al, 2005).

Las importaciones de goma arábica en Argentina se vieron incrementadas, observándose un aumento de 1996 de 100 Tn a 2009 a más de 800 Tn anuales. Los precios de importación rondan entre los 4000 y 6000 dólares la tonelada, en el 2009 se registraron importaciones por un total de u\$s 2.353.624. El gran crecimiento de la industria

agroalimentaria que registra nuestro país, hace prever que la demanda de las gomas como aditivos alimentarios va a continuar incrementándose. (Von Muller Axel R. et al, 2007) Esto evidencia una gran posibilidad de mercado para nuevos productos nacionales como lo podría ser la hemicelulosa B.

Por otro lado, actualmente en Argentina existen unas 100 plantas que elaboran, envasan y comercializan bebidas gaseosas y saborizadas (Abilin Amalie et al, 2012). El mercado de bebidas sin alcohol es ampliamente liderado por las gaseosas comunes. En segundo lugar se encuentran las aguas minerales y los jugos listos para beber/concentrados. En tercer lugar están las aguas saborizadas, y luego se encuentran las gaseosas light, las bebidas hidratantes y las energizantes. La variación de crecimiento correspondiente al sector de aguas saborizadas, indican que su consumo se ha incrementado siendo uno de los sectores que mayor crecimiento presente con un crecimiento sostenido, desde su irrupción en el mercado en 2001, pasando del 1% del mercado en 2003 al 10,5% en 2012. Hoy se estima que este mercado mueve 3.000 millones de pesos por año y en el país se consumen 22,4 litros de aguas saborizadas anuales por habitante, superando al consumo de aguas minerales, con 20 litros anuales per cápita (Abilin Amalie et al, 2012).

De la figura 11, que se muestra a continuación, se puede deducir que del mercado total de 10.933.154 litros anuales producidos de bebidas analcohólicas (excluyendo a las bebidas lácteas y jugos exprimidos) el 41% utilizan algún tipo saborizante en su composición y por ende, la gran mayoría de estas contiene un emulsionante en su formulación, principalmente las aguas saborizadas.

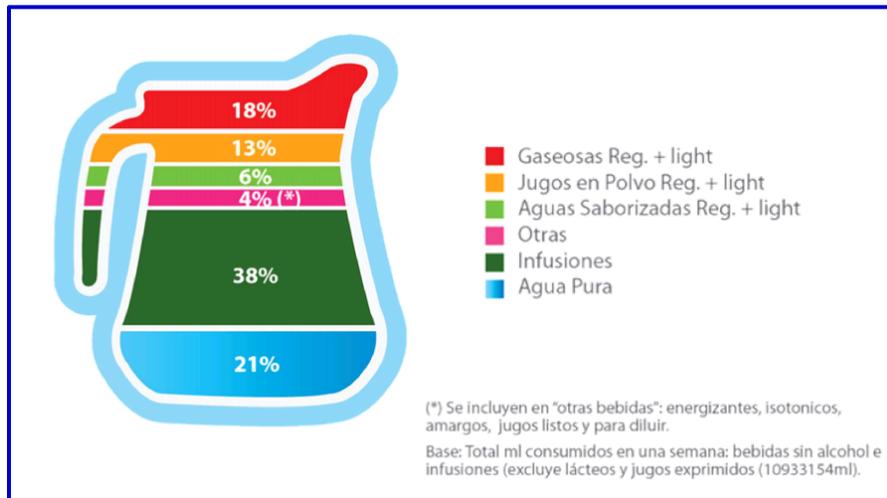


Figura 11 - Composición de la "jarra de consumo de bebidas analcoholicas"

Fuente: CEPEA (Centro de Estudios sobre Políticas y Economía de Alimentación), 2010

Entonces, si se relaciona la situación del mercado de la goma arábica con el de las bebidas, se puede observar que existen posibilidades en el mercado para el uso de la hemicelulosa B, en sus comienzos.

De todas formas, uno de los factores a tener en cuenta para saber si el producto podría ser viable o no, son los costos de producción. El costo unitario, teniendo en cuenta solamente los insumos utilizados, es de \$2, 47, por lo que para producir un kg de esta costaría \$2.476,55 En el **Anexo 1.6** se muestran los cálculos para obtener dichos costos.

Si comparamos el precio de la goma arábica en el mercado (\$200 por kilo) con el precio de producción de la Hemicelulosa (\$2.476,55 por kg) se puede observar que la hemicelulosa B es casi 12 veces más cara que está, lo que hace poco viable el uso hemicelulosa B en la industria de los alimentos. El costo se calculó considerando que la empresa elaboradora no era la misma que producía el DDGS, ya que de esta forma se tendrían los equipos y el espacio físico mínimos requeridos para la producción. De todas formas, si se observan los componentes de los costos variables, se puede observar que el alcohol es el que encarece el proceso, por lo que en una planta elaboradora de bioetanol el

precio de producción podría disminuir utilizando parte del alcohol producido para la extracción. Aunque, en ese caso lo que encarecería al producto sería la inversión inicial. Otra opción para reducir los costos sería destilar el alcohol descartado para su reutilización en el proceso y de esta forma hacer un ciclo cerrado disminuyendo considerablemente los costos en alcohol etílico. Sin embargo, es una propuesta que excede el alcance de esta tesis.

Equipos

En la industria es necesario poder estimar el valor de los equipos a utilizar para poder desarrollar el producto y saber si es viable llevarlo a escala. Así, en los objetivos específicos de este trabajo se tuvo en consideración este hecho. Por lo que se planteo calcular los costos de las maquinarias utilizadas para el proceso del nuevo producto al que se arribara con el aprovechamiento del DDGS, y para su calculo se estimaría el volumen a producir mediante el estudio del mercado, pero no se pudo realizar dicho calculo considerando 3 puntos principales: (1) que no se tiene seguridad de que el producto sea apto para consumo humano, (2) que el proceso presenta dificultades a nivel laboratorio para su desarrollo y (3) se debería de replantear el proceso para poder llevarlo a escala industrial. En el **Anexo I** se muestra como sería un esquema del proceso a nivel industrial, notándose que se requieren reajustes en el proceso, debido a la cantidad de pasos y equipos que se utilizan.

6. CONCLUSIONES

Luego de desarrollado el trabajo se llega a la conclusión de que sería factible poder a aprovechar el DDGS en la industria de los alimentos., ya que se ha demostrado que se puede desarrollar un emulsionante a base de hemicelulosa partiendo de este, y se ha verificado que presenta buenas propiedades emulsionantes, aporta poca viscosidad a la solución, es estable a temperatura ambiente y tienen buena capacidad de disolución en agua. Sin embargo, con la tecnología disponible en la actualidad y los costos de la misma no es conveniente la comercialización de hemicelulosa extraída por los métodos expuestos en esta tesis debido a: Bajo rendimiento de obtención (por cada 100g de DDGS se obtienen 3,67g de Hemicelulosa B), baja pureza en el producto final (de cada 100g de DDGS se obtienen 11,12g de extracto seco de los cuales 3,67g son hemicelulosa B), problemas de calidad en el producto final como: el aporte de turbidez a la solución, sedimentación y alta generación de efluentes (para obtener 3,67 g de hemicelulosa B se utilizan: 8g de Na(OH), 5,5ml H₂SO₄ 35%, 380ml de Alcohol, 558g de Agua y 100g DDGS) y falta de un mercado establecido donde poder comercializar dichos residuos. Además existen mejores alternativas en el mercado: goma arábiga, carboximetilcelulosae, caseína y almidón modificado. De todas formas, si se aumentara la eficiencia de la extracción y los costos bajaran la hemicelulosa tendría futuro en el mercado ya que tanto las importaciones de goma arábiga como el mercado de las bebidas se encuentran en crecimiento.

7. PUNTOS PARA SEGUIR EVALUANDO

Evaluar más de fondo la interacción entre las proteínas/hemicelulosa y realizar una investigación más detallada del mecanismo de emulsión de la hemicelulosa.

Investigar nuevas rutas de extracción donde se pueda obtener mayor rendimiento de obtención de hemicelulosa, como extrayendo el almidón y la grasa que presenta el DDGS.

Desarrollar un método que permita extraer la coloración y el olor característico (otorgado por la fermentación en la producción de bioetanol).

Investigar diferentes alternativas de desarrollos tales como: envases, membrana impermeables al oxígeno para protección de la oxidación de alimentos, hidrólisis enzimáticas del DDGS para degradación de los polisacáridos a azúcar para la producción de bioetanol.

Investigar el mismo proceso pero partiendo de WDGS, lo cual implica un severo ahorro de energía y una notable mejora en las calidades de las materias primas, resultando en superiores posibilidades para los productos obtenidos.

8. BIBLIOGRAFÍA

A guide to Distiller's Dried Grains with Solubles (DDGS) 3rd Edition. *U.S Grain Council*. 2009, Pag. 18 [11-11-2014]

Abilin Amalie, Naso Maria Paula, Mercado de bebidas Anlacoholicas. *Dirección de promoción de la calidad de productos Agrícolas y forestales*, 2012.

Afflec Richard P. Recovery of Xylitol from Fermentation of Model Hemicellulose Hydrolysates Using Membrane Technology. *Thesis. Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University*, 2000. [1 114]

Alvarez–Castillo A., Salgado–Delgado R, García–Hernández E, Domínguez–Domínguez M. M, Granandos–Baeza J.M., Aguirre–Cruz A., Carmona–García R., Morales– Cepeda A., Herrera–Franco P. J., Licea–Clavería A., Mendoza–Martínez A.M., Aprovechamiento integral de los materiales lignocelulosicos. *Revista Iberoamericana de Polimeros*, 2013, Vol. 13.

Anderson J. Timothy, Lamsal P. Buddhi. Zein Extraction from Corn Products, Coproducts and modification for various applications: A Review. *Cereal Chemistry Journal*. 2011. Vol. 88, N° 2: 159-173. [23-08-2013]

Bean Scott. Deffated corn protein produces palatable cluten Free bread. *Revista Issue of Agriculture Research*, 2010 [10-05-2015]

Belyea, R.L., Rausch, K.D., Tumbleson, M.E.,2004. Composition of corn and distillers dired grains with solubles from dry grind ethanol processing. *Bioresourse Technol.* 94, 293 – 298.

Bloom Rachel: Feasibility of using zein gluten-free baking. *Tesis. 2015, Kansas University*.

Bonnardeaux John. Potential Uses for Distillers grains. *Department of Agriculture and Food*, 2007.[21-02-2014]

Brocheleti Denise, Penfield Marjorie P. Sensory characteristics of bakery products containing distillers dried grain from corn bakery and rye. *Journal of Food Quality*. 1989, 12 [413 – 426]

Bruice Y. P. Química Orgánica. *P. ear.son.* 2008. 5^{ta} ed.

C. de Blas, G.G Mateos, P.G. Rebolla. DDGS de Maiz. *Fundación Española para la Alimentación*, 2007 [10-11-2014]

Casillas Barroso Miguel. Pretatamiento de Biomasa Celulosica para la Obtención de Etanol en el Marco de una Biorrefineria. *TesisUniversidad Politecnica de Madrid.* 2010

CEPEA (Centro de Estudios sobre Políticas y Economía de Alimentación), Consumo de bebidas en el contexto de nuevas guías alimentarias. 2010

Choc Tsen C., Eyestone Willa, Weber Jeanette L., Evaluation of the quality of cookies supplemented with Distillers Dried Grain Flours, *Journal of Food Science*, 1987, Vol. 47 (2), 684-685

Corradini Elisangela, Curi S. Priscila, Meniqueti Adriano B, Martins Alessandro F, Rubira Adley F, Curtis Muniz Edvani. Recent advances in food packaging, pharmaceutical and biomedico applications of Zein and zein-based material. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014 [22438 - 22470] [16-05-2015]

Cuervo Laura, Folch Jorge Luis, Quiroz Estela Rosa. Lignocelulosa como fuente de azucares para la producción de etanol. *Centro de Investigación en Biotecnología.* UEM, UNAM, 2009 [10-05-2015]

Defain Tesoriero M.V, Murano M., Hermida L., Goma Brea ¿Una alternativa para la goma árabiga?. *INTI.* 2005

Faye M., Rasco Barbara A.. The Neutral Detergent Fiber, Acid Detergent Fiber, Crude Fiber, and Lignin Contents of Distillers' Dried Grains with Solubles, *Journal of Food Science.* 1987, Vol. 52, 2, 403–405,

Doner, L. W., Hicks, K. B. Isolation of Hemicellulose from Corn Fiber by AlkalineHydrogen Peroxide Extraction. *Cereal Chemistry.*1997, N° 74:176 – 181 [10-05-2014]

Doner, L. W. Sweeney, G. A. Hicks, K. B. Isolation of Hemicellulose from corn fiber.*Patenteestadounidense N° US006147206A.* 14-11-2000. [15-03-2014].

Doner L.W., Johnston D.B. Isolation and characterization of cellulose/arabinoxylan residual mixtures from corn fiber gum processes. *Cereal Chemistry*. 2001, N°78:200-204. [04-05-2014]

E X., Shi Y.C. Hemicellulose fiber gum from distiller's grain: isolation, structure and properties. M.S. *Thesis*. 2010, Kansas State University, Manhattan, KS. [06-06-2013]

Moron Cecilio, Zacarias Isabel, Saturnino de Pablo. Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. *FAO Dirección de Alimentación y Nutrición*. 1997.

Fernandez Artega Alejandro. Preparación, caracterización y estabilidad de emulsiones y microemulsiones O/W. *Tesis Doctoral. Universidad de Granada*. 2006.

Flores I., Cabra V., Quirasco M.C., Farres A., Galvez A. Emulsifying Properties of chemically Deamidated Corn (Zea Mays) Gluten Meal. *Food Science Tech Int*. 2010, 16(3) [241- 250]

Fredon E., Granet R., Zerrouki R., Krausz P., Saulnier L., Thibault J.F., Rosier J., Petit C. Hydrophobic films from maize bran hemicellulose. *Carbohydrate Polymers*. 2002, 1-12 [23-07-2014]

Gaspar Melinda, Kalman Gergely, Reczey Kati. Corn fiber as a raw material for hemicellulose and ethanol production. *Process Biochemistry*. 2007, 42, [1135 – 1139]

Gaspar Melinda. Fractionation of corn fiber, study of the structures of the obtained fractions and their possible applications. *PhD Thesis. Budapest University of Technology and Economic*, 2009 [1-12]

Gennaro Alfonso R. Remington Farmacia. *Editorial Medica Panamericana*. 2003, Vol. 1 20^a [862 – 864]

Gil Hernandez Andres. Tratado de nutrición: base fisiológica y bioquímicas de la nutrición. *Editorial Medica Panamericana*. 2010, 2^a Edición.(1), [964]

Hallac Basem B., Ragauskas Arthur J. Analyzing cellulose degree of polymerization and its relevancy to cellulosic ethanol. *Georgia Institute of technology*, 2011, [215-255]

Heikkiken Susana L., Mikkonen Kirsi S., Koivisto Paula, Heikkila Mari I. Pikkalainen Kari, Lijestrom Ville, Serimaa Ritva and Maija Tankanen, Long –Term physical stability of placticized hemicellulose films. *BioResoruces*. 2014, 9 (1), 906-921.

Hernandez Alicia. Microbiología Industrial. ISBN: 978-9968-31-255, 2003, [0-266]

Hernandez Zarazua Liliana. Estudio de la estabilidad y evolución de emulsiones del tipo O/W mediante calorimetría diferencial de barrido DSC y dispersión dinámica de luz. - *Instituto Politecnico Superior*. 2009

Hitzky Eduardo. Materiales composites basados en bio-hibridos zeina-arcilla, su procedimiento de obtención y usos de materiales. *Consejo Superior de Investigaciones Cientificas*, 2009, [10-05-2015]

Kim Youngmi, Mosier S. Nathan, Hendrickson Rick, Ezeji Thaddeus, Blaschek Hans, Dien Bruce, Cotta Michael, Dale Bruce, Ladisch R. Michael. Composition of Corn Dry-grind ethanol by-products: DDGS, wet cake and thin stillage. *Bioresoursetechnology*. 2008, N°99 5165-5176. [06-06-2013]

Kwiatkowski J. R., McAloon A. J., Taylor F., Johnston D. B. Modeling the process and costs of fuel ethanol production by the corn dry-grind process. *Ind. Crops Prod*. 2006, 23 [288-296]

Li Song. Protein enhancement of DDGS from conventional and enzymatic dry grind processes. *Thesis. University of Illinois*. 2014.

Li Xin, Droescher Haagensen Frank. Improvement of enzymatic hydrolysis of pre-treated lignocellulose-containing material with distillers dried grains. *Novozyme North America Inc*, 2010

Lincoln Taiz, Eduardo Zeiger. Fisiología Vegetal. *Universitar Jaume I*. 2006, 3ª Edicion [530]

McClement David J. Food emulsions principles, practices and tecniches. *CRC PRESS*. 2005 2ª.

Micó Ballester María J. Métodos de análisis de fibra y determinaciones físicos-químicos en cítricos para el modulo de Control Alimentario del Ciclo Formativo de Dietética. *Area de Innovación y Desarrollo, SL*. 2014

Montanti, Justin Matthew. Process development for the fractionation and isolation of corn fiber hemicellulose. *Thesis*. 2010, Clemson University, Clemson, South Carolina. [12-02-2014]

Mendez Ana Maria, Bioconversión de hemicelulosa, *Tesis*. Universidad de Santiago de Chile. 2010.

Narendranath N.V., Power R. Relationship between pH and medium dissolved solids in terms of growth and metabolism of *Lactobacilli* and *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol production. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: [2239-2243]

Nuez-Ortin, Waldo G. Variation and availability of nutrients in co-products from Bio-ethanol production fed to ruminants. *Tesis*. University of Saskatchewan, 2010 [12-05-2015]

Ortega Ramos Maria Victoria. Producción vía fermentación de xilitol a partir de tuza de maíz, *Tesis*. Universidad Nacional de Colombia, 2010. [10-05-2015]

Phillips Lance G. Structure Function properties of food proteins. *Academia Press*. 1994.

Piorowski Daniel T, McClements David Julian. Beverage emulsion: Recent developments in formulation, production and application. *Food Hydrocolloids*. 2014 [5-41]

Pretorius I.S. Tailoring wine yeast for the new millenium: novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yest.* 2000, 16, [675-729]

Puerta Márquez J. J. Desarrollo de una mezcla base para chips de batata (*Ipomea batatas*). *Tesis*. Universidad de Simón Bolívar, 2012.

Rasco B. A., Downey S.E., Dong F. M. Consumer Acceptability of Baked Goods Containing Distillers Dried Grains with Solubles from Soft White Winter Wheat. *American Association of Cereal Chemists. Inc.* 1987, 64(2) [139- 143]

Rasco Barbara A., Hashisaka Ann E., Dong Faye M., Einstein Margery A. Sensory Evaluation of Baked Foods Incorporating Different Levels of Distillers Dried Grain Solubles from Soft White Winter Wheat. *Journal of Food Science*. 1989, 54(2) [337-342]

Rosentrater Kurt A, Verbeek C.J.R. Processibility of corn protein blends and resulting properties of the extrudates. *Iowa University. University of Waikat*. 2012.

Santos de la Alcantara Ana Clecia, Gallego Aranda Pilar, Darder Colom Margarita, Ruiz

Sancho Valls J, Bota Prieto E., De Castro Martin J. J. Introducción al Análisis sensorial de los Alimentos. *Estudi General 4*. 1999 [199-336]

Scaramal L. Bioquímica de los Alimentos. 2003.

Saunders J.A. Rosentrater Kurt A., Krishnan P.G. Analysis of Corn Distillers Dried Grains With Solubles (DDGS)/ Flour Mixtures, and Subsequent Bread Baking Trials. *Journal of Food Research*. 2014, [78-104]

Shukla Rishi, Chryan Munir, Zein: the industrial protein from corn. *Industrial Crops and Products*. 2001, 13 [12-05-2015]

Sphies, M.J., Whitney, M.H., Shurson, G.C., 2002. Nutrient database for distillers dried grains with solubles produced from new ethanol plants in Minnesota and South Dakota. *J. Anim. Sci.* 80, 2693 – 2645.

Timothy J. Anderson y Buddhi P. Lamsal. Zein extraction from corn, corn products, and coproducts and modifications for various application: A review, 2011 159-173

Ustarroz Fernando, Saavedra Alejandro, Errasquin Lisandro, Bragachini Mario, Casini Cristino, Méndez José. Maíz Cadena de valor agregado: Alternativas de transformación e industrialización. *INTA: Actualización técnica N°54*. 2010. [23-07-2014]

Vergagni Gustavo: Granos de destilería: Subproductos del etanol. *Maizar*. 2006 [11-11-2014]

Von Muller Axel R., Corini R.O., Karlin U.O., Evaluación socioeconómica de la producción de goma de brea en chaco Árido. *Multequina*. 2007, Vol 1.

Wang Wei, Ji Shaowen, Lee Ilsoon. Fast and efficient nanshear hhybrid alkaline pretreatment of corn stover for biofuel and material production. *Biomass and Bioenergy*. 2013, 51 35-41.

Witting de Penna Emma. Evaluación sensorial, Una metodología actual para tecnología de alimentos. *Biblioteca Digital de la Universidad de Chile*. 2001.

Wu Shaowen. Determinast for yield and queality of zein extrcted from corn gluten meal. *Restrospective Thesis*. Iowa State University, 1996.

Xinyi E. Hemicellulose fiber gum from distillers grain: Isolation, structure and properties. *Thesis.B.S China University*. 2010.

Xu Weijie, Reddy Nerendra, Yiqi Yang. Extraction, characterization and potential applications of cellulose in corn kernels and Distillers' dried grains with solubles (DDGS). *Carbohydrate Polymer*. 2008, 76 (4) [521-527]

Y. V. Wu, V.L.Youngs, K. Warner and G.N. Bookwalter. Evaluation of spaghetti supplemented with Destillers' Dried Grains. *Food Science and Tecnology*.1987, 434-436. [25-05-2014]

Yadav P. Madhav, Johnston B. David, Hotchkiss Jr. T.Arland, Hicks B. Kevin. Corn Fiber Gum: A potential gum Arabic replacer for beverage flavor emulsification. *Food Hydrocolloids* 21.2007.[25-05-2014].

Yadav P. Madhav, Moreau A. Robert, Hotchkiss T. Arland, Hicks B. Kevin. A new corn fiber gum polysaccharide isolation process that preserves functional components. *Carbohydrates Polymers*.2012, N°87: 1169-1175.[25-05-2014]

Yadav P. Madhav, Johnston B. David, Hicks B. Kevin. Corn Fiber Gum.. New structure/function relationship for this potential beverage flavor stabilizers. *Food hydrocolloids*.2009, N° 23: 1488- 1493.[25-05-2014]

Zhang Jian. Novel Emulsion –Bsed Delivery Systems. *PD, University of Minnesota*, 2011, [1-269]

Zhuang Junping, Liu Ying, Wu Zhen, Sun Young, Lin Lu. Hydrolysis of wheat straw hemicellulose and detoxification of the hydrolysate for xylitol production. *Bioresources*. 2009, 4(2) [674 – 686].

ANEXO

ANEXO 1

Anexo 1.1 : CALCULO DE RENDIMIENTO:

Partiendo de una solución de 558ml de Agua, 100g DDGS y 2meq de NaOH/g DDGS = 666gramos

Según los datos extraídos de Xinyi E. et al, 2010 por cada 100g de extracto de hemicelulosa hay 33g de hemicelulosa B:

$33g * 9,48gr/100 = 3,13g$ de Hemicelulosa B en el secado por estufa del Momento A

$33 * 5,29gr/100 = 1,75gr$ de Hemicelulosa B en la fracción liofilizada del Momento C

De la tabla VII se obtiene que el valor de la fibra detergente neutro en 100gr de DDGs es igual a 27,17gr y la fibra ácido detergente en 100gr de DDGs es igual a 14,76gr. La resta de ambos nos da la cantidad de hemicelulosa presente en 100gr de DDGS:

$$27,17gr - 14,76gr = 12,41 \text{ gr de hemicelulosa / 100gr de DDGs}$$

Conociendo el peso inicial de hemicelulosa (12,41gr) y el peso final de hemicelulosa (3,13gr para el momento A y 3,64 para el momento C), se calculó el rendimiento en base a la siguiente fórmula:

$$\text{Peso final / peso inicial} * 100 = \text{rendimiento}$$

De aquí obtenemos que el rendimiento para el Momento A es de 25,22% y para el Momento C es de 29,33%.

Anexo 1.2 : Cálculos para el momento B

Sabiendo la concentración de hemicelulosa B en el extracto final del momento A se pesó el extracto previo al secado obtenido en el momento B y se supuso que si eso se secaba debería dar lo mismo que en el momento A, por lo tanto tendría la

misma cantidad de hemicelulosa B. Sabiendo que el extracto previo al secado del momento B tiene un volumen de: 64ml entonces sabemos que la concentración de hemicelulosa en la solución es 0,05 gr hem B/ml Sol. en base a la ecuación de más abajo:

$$3,13\text{gr de Hemicelulosa B} / 64 \text{ ml de Sol.} = 0,05 \text{ gr de Hemicelulosa B/ml Sol}$$

Anexo 1.3 : Cálculos para la fracción no liofilizada del Momento C

Sabiendo que la muestra F1 liofilizada pesa 5,29 gr y se obtuvieron a partir de 13,214gr, se supuso que a partir de 14,573 gr se obtendrían 5,83gr de muestra F2 liofilizada. Luego, aplicando la misma lógica que en el anexo 1.1 podemos inferir que en 14,573 gr de F2 tendríamos 1,92gr de hemicelulosa B en base al siguiente calculo:

$$33 * 5,83\text{gr} / 100 = 1,92\text{gr de Hemicelulosa B en la fracción no liofilizada del Momento C}$$

Anexo 1.4 : Cálculos de totalidad del Momento C

Si sumamos las cantidades de extracto seco presentes en F1 y en F2 obtendremos 11,12gr de extracto seco:

$$\text{Total de extracto Seco en el momento C} = 5,29\text{gr} + 5,83\text{gr} = 11,12\text{gr}$$

Entonces, cada 100 gr de DDGS obtendríamos un estimativo de 11.12 gr de extracto seco.

Por otro lado, Si sumamos las cantidades de hemicelulosa presentes en F1 y en F2 obtenemos 3,67 gr de hemicelulosa:

$$\text{Hemicelulosa Total del Momento C} = 1,75\text{gr} + 1,92\text{gr} = \mathbf{3,67 \text{ gr}}$$

Entonces, cada 100 gr de DDGS obtendríamos un estimativo de 3,67 gr de hemicelulosa.

Anexo1.5 Datos de las mediciones por Espectrofotometría

Anexo 1.5.1 : Datos obtenidos de las mediciones por espectrofotometría para el momento A

Tabla XIV - Registro de absorbancias del Momento A

	Goma Arábica 1	Hemicelulosa 1	Goma Arábica 2	Hemicelulosa 2
día 1	0,055	0,298	0,051	0,297
día 2	0,033	0,198	0,036	0,235
día 3	0,048	0,214	0,02	0,311
día 4	0,054	0,184	0,056	0,184
día 5	0,047	0,28	0,043	0,28
día 6	0,024	0,146	0,032	0,203
día 7	0,034	0,22	0,043	0,16
día 8	0,031	0,154	0,02	0,158
día 9	0,062	0,155	0,02	0,142
día 10	0,021	0,137	0,015	0,171

Tabla XV - Cálculo de Turbidez para el Momento A

	Goma arábica promedio	Hemicelulosa promedio
día 1	5,085790853	28,5475996
día 2	3,31056197	20,77497584
día 3	3,430509868	56,18359518
día 4	5,277707489	17,65633051
día 5	4,318124309	26,86832903
día 6	2,662843324	33,58541129
día 7	6,956978054	36,75203579
día 8	2,446937108	29,89101605

día 9	3,838332719	14,44172686
día 10	1,775228883	29,65112026

Anexo 1.5.2 : Datos obtenidos de las mediciones por espectrofotometría para el momento B

Tabla XVI – Registro de absorbencias del momento B

Día	Goma arábica 1	Hemicelulosa 1		Goma arábica 2	Hemicelulosa 2		Promedio Goma Arabiga	Hemicelulos a Promedio
1	0,029	0,574		0,017	0,587		0,023	0,5805
2	0,007	0,346		-0,012	0,337		-0,0025	0,3415
3	0,006	0,222		0	0,212		0,003	0,217
4	0,007	0,208		-0,021	0,197		-0,007	0,2025
5	0,007	0,201		-0,022	0,186		-0,0075	0,1935
6	-0,015	0,17		-0,026	0,174		-0,0205	0,172
7	-0,01	0,201		-0,038	0,175		-0,024	0,188
8	0,003	0,167		-0,051	0,14		-0,024	0,1535
9	0,007	0,157		-0,049	0,15		-0,021	0,1535
10	0,011	0,183		-0,055	0,138		-0,022	0,1605

Tabla XVII – Cálculo de Turbidez del Momento B

Día	Promedio Goma Árabiga	Promedio hemicelulosa
1	2,277667	57,4863345
2	-0,2475725	33,8184035
3	0,297087	21,489293
4	-0,693203	20,0533725
5	-0,7427175	19,1621115
6	-2,0300945	17,032988
7	-2,376696	18,617452
8	-2,376696	15,2009515
9	-2,079609	15,2009515
10	-2,178638	15,8941545

Anexo 1.5.3: Datos obtenidos de las mediciones por espectrofotometría para el momento C.

Tabla XVIII - Registro de absorbancias del Momento C

Hs	Vier.	Vier.	Lun.	Mart.	Mierc,	Jue.	Vie,	Lun.	Mart.	Mierc.
Muestra	0	1	72	96	120	144	168	240	264	288
B	1,126	0,955	0,116	0,095	0,087	0,075	0,049	0,066	0,065	0,065
h1	1,846	1,836	0,681	0,75	0,739	0,693	0,67	0,72	0,709	0,71
h2	1,813	1,815	0,696	0,667	0,665	0,64	0,612	0,622	0,62	0,626
h11	1,784	1,795	0,616	0,595	0,599	0,589	0,553	0,563	0,559	0,566
h12	1,804	1,788	0,694	0,672	0,666	0,646	0,624	0,653	0,652	0,652
a1	1,415	1,362	0,336	0,348	0,338	0,331	0,3	0,322	0,323	0,33
a2	1,58	1,619	0,48	0,465	0,484	0,479	0,44	0,475	0,478	0,482

Tabla XIX- Cálculo de Turbidez del Momento C

Hs	Vier.	Vier.	Lun.	Mart.	Mier.	Jue.	Vier.	Lun.	Mart.	Mier.
Muestra	0	1	72	96	120	144	168	240	264	288
Hprom	176,01	176,30	66,16	66,55	66,52	63,60	60,79	62,23	63,07	63,72
Hlprom	172,65	171,31	62,71	60,43	60,43	59,11	55,99	56,86	56,86	58,20
Aprom	143,94	140,99	39,27	38,82	39,10	38,74	35,50	37,26	37,64	38,53
Blanco prom	108,24	94,28	10,03	9,07	9,21	8,16	5,61	6,91	7,15	7,15

Anexo 1.6 Calculo de Costos

Tabla XX - Costos Variables de Producción

Cada	100 g DDGS	Producto	1000 g hemicelulosa					
Producto Final	3,67 g Hemicelulosa							
FACTORES VARIABLES	C. MONETARIO	unidades	C. FISICO (g)	unidades	Cs. Unitario	unidades	Costos	Unidades
DDGS	1,26	\$/kg	0,027247956	kg/g hemicelulos	0,034332425	\$/g hemicelulosa	34,33242507	\$/1kg hemicelulosa
AGUA	0,002	\$/kg	2,1286	kg/g hemicelulos	0,0042572	\$/g hemicelulosa	4,2572	\$/1kg hemicelulosa
HIDROXIDO DE SODIO	30	\$/kg	0,002179837	kg/g hemicelulos	0,065395095	\$/g hemicelulosa	65,39509537	\$/1kg hemicelulosa
ACIDO SULFURICO (25%)	2,71	\$/kg	0,00073842	kg/g hemicelulos	0,002001117	\$/g hemicelulosa	2,001117166	\$/1kg hemicelulosa
ALCOHOL ETILICO (97%)	\$ 17	\$/kg	0,136239782	kg/g hemicelulos	2,370572207	\$/g hemicelulosa	2370,572207	\$/1kg hemicelulosa
TOTAL					2,476558045	\$/g hemicelulosa	2476,558045	\$/1kg hemicelulosa

Para el cálculo de los costos se tuvieron en cuenta:

- El precio de del Dólar se considero: \$8,64
- La producción si la planta no fuera la misma que produce Bioetanol.
- Proceso Batch

Anexo 1.7 Esquema del proceso de obtención de hemicelulosa b a escala industrial

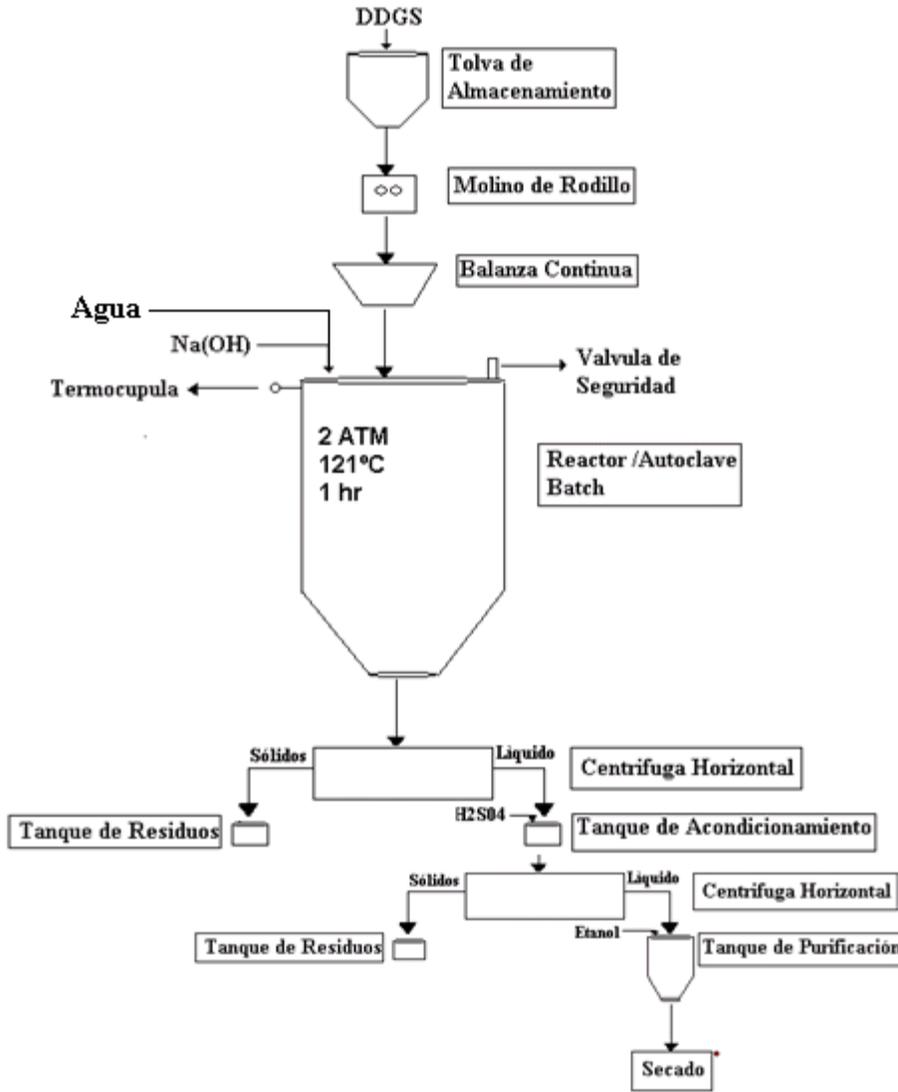


Figura 12 - Proceso de producción de Hemicelulosa B a nivel industrial

Fuente: Elaboración propia.

(*)**Reactor/Autoclave:** Puede inyectarse a temperatura para generar la presión necesaria debiéndose considerar el contenido de agua que requiere el proceso.

(**) **Secado,** puede realizarse por diferentes opciones: por liofilizado, por secadora rotativa o centrifuga y secadora. Considerando esta etapa como una de las mas criticas, por lo problemas solubilidad que puede traer acoplados por exceso de calor durante el proceso.

ANEXO 2

IMAGEN ANEXO 2.1



**Imagen Anexo2.1 –DDGS en solución con NaOH luego del autoclave –
Elaboración propia**

IMAGEN ANEXO 2.2

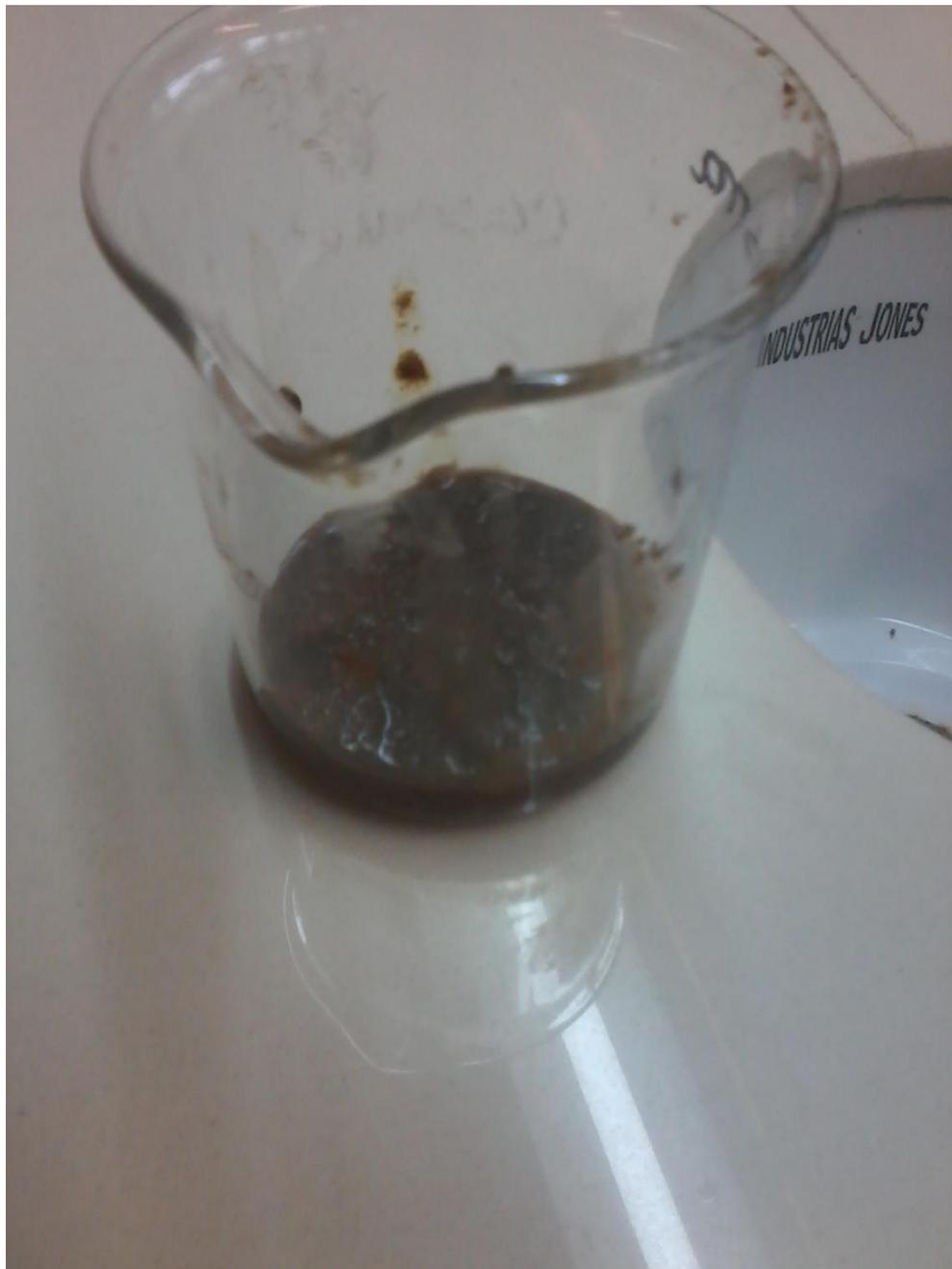


Imagen Anexo2.2 –Capa 1 luego de centrifugar la solución de DDGS y NaOH – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.3



Imagen Anexo2.3 –Capa 2 luego de centrifugar la solución de DDGS y NaOH – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.4



Imagen Anexo2.4 –Capa 2 luego de centrifugar la solución de DDGS y NaOH – Elaboración propia.

IMAGEN ANEXO 2.5



Imagen Anexo2.5 –Capa 3 luego de centrifugar la solución de DDGS y NaOH – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.6



Imagen Anexo2.6 –Capa 3 luego de centrifugar la solución de DDGS y NaOH – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.7



Imagen Anexo2.7 –Capa 4 luego de centrifugar la solución de DDGS y NaOH – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.8



Imagen Anexo2.8 –Capa 4 luego de centrifugar la solución de DDGS y NaOH – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.9



Imagen Anexo2.9 –Capa 2 durante la titulación con ácido – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.10

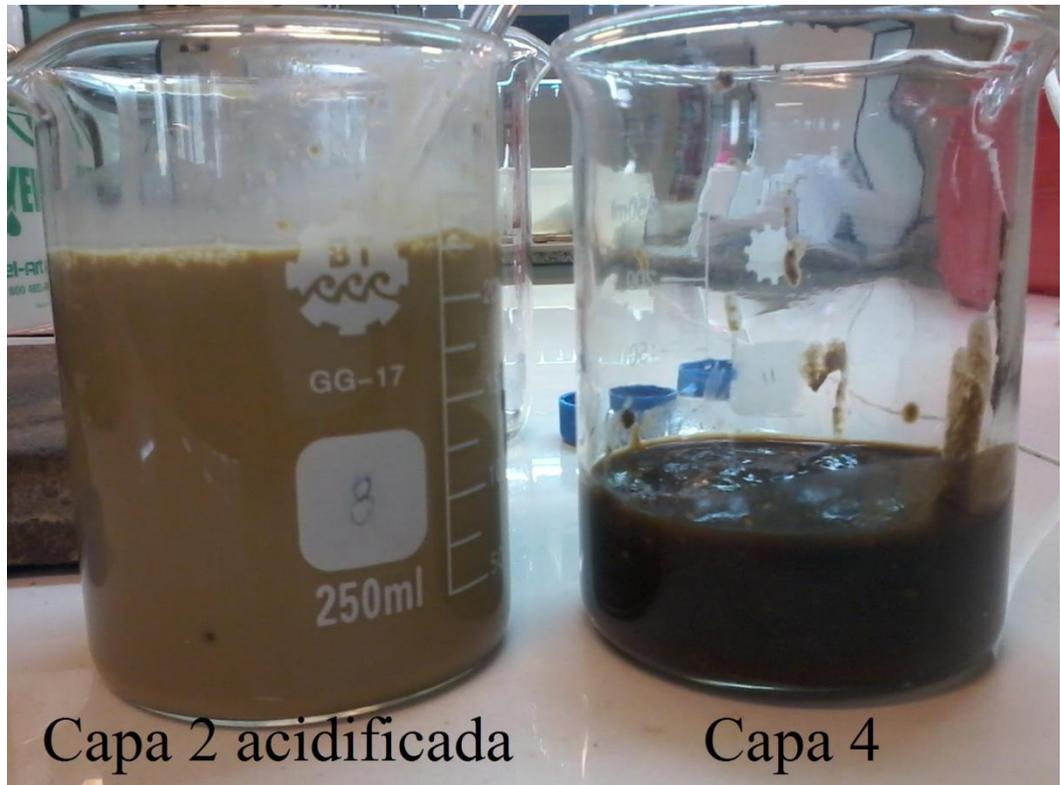
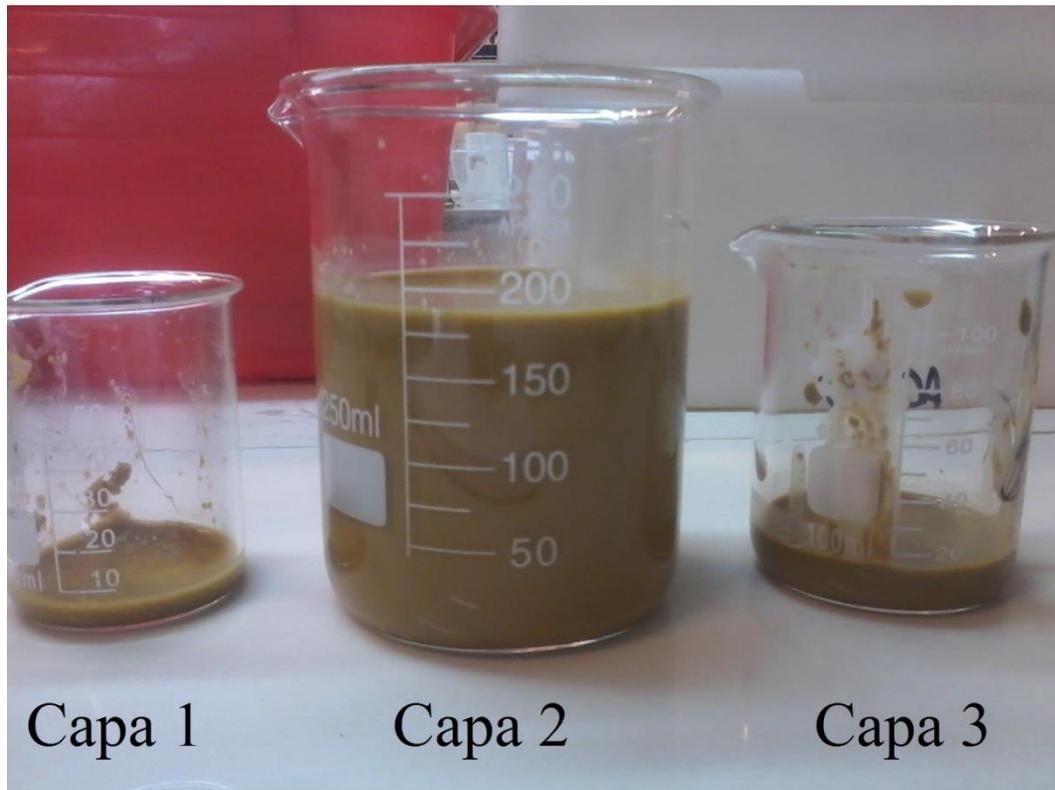


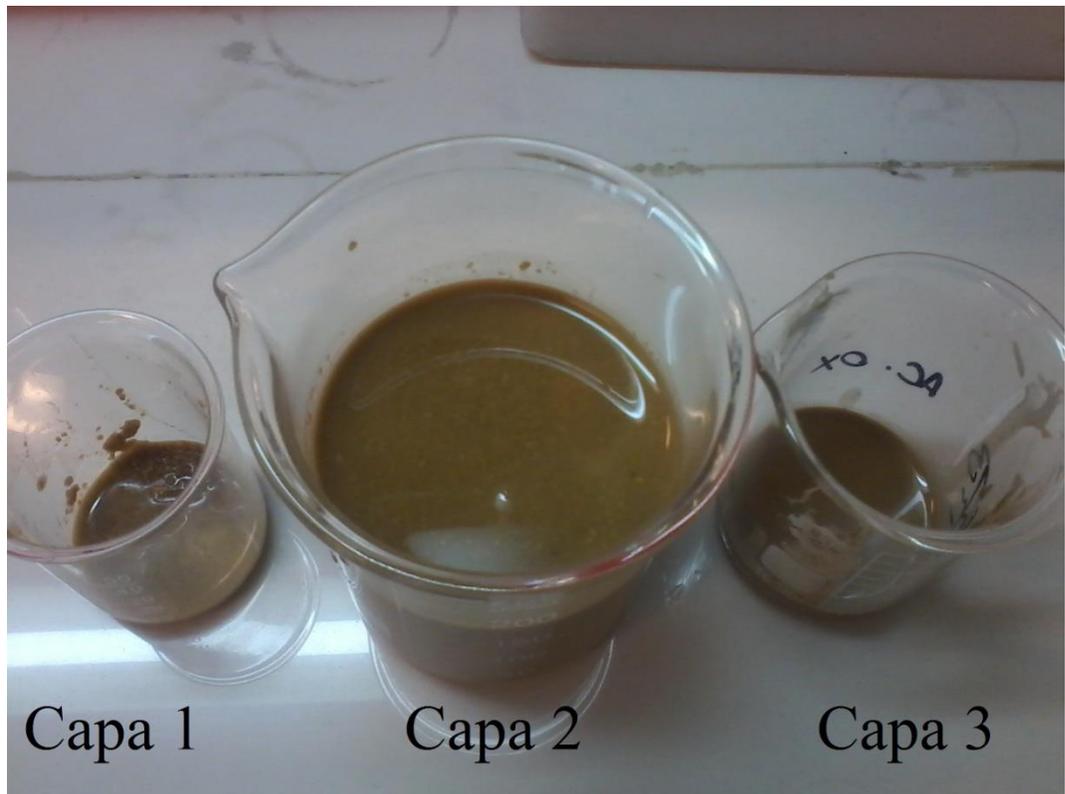
Imagen Anexo2.10 –Capa 2 luego de la titulación en contraste con la capa 3 no titulada – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.11



**Imagen Anexo2.11 –Distintas capas luego de la segunda centrifugación –
Elaboración propia**

IMAGEN ANEXO 2.12



**Imagen Anexo2.12 – Distintas capas luego de la segunda centrifugación
– Elaboración propia**

IMAGEN ANEXO 2.13

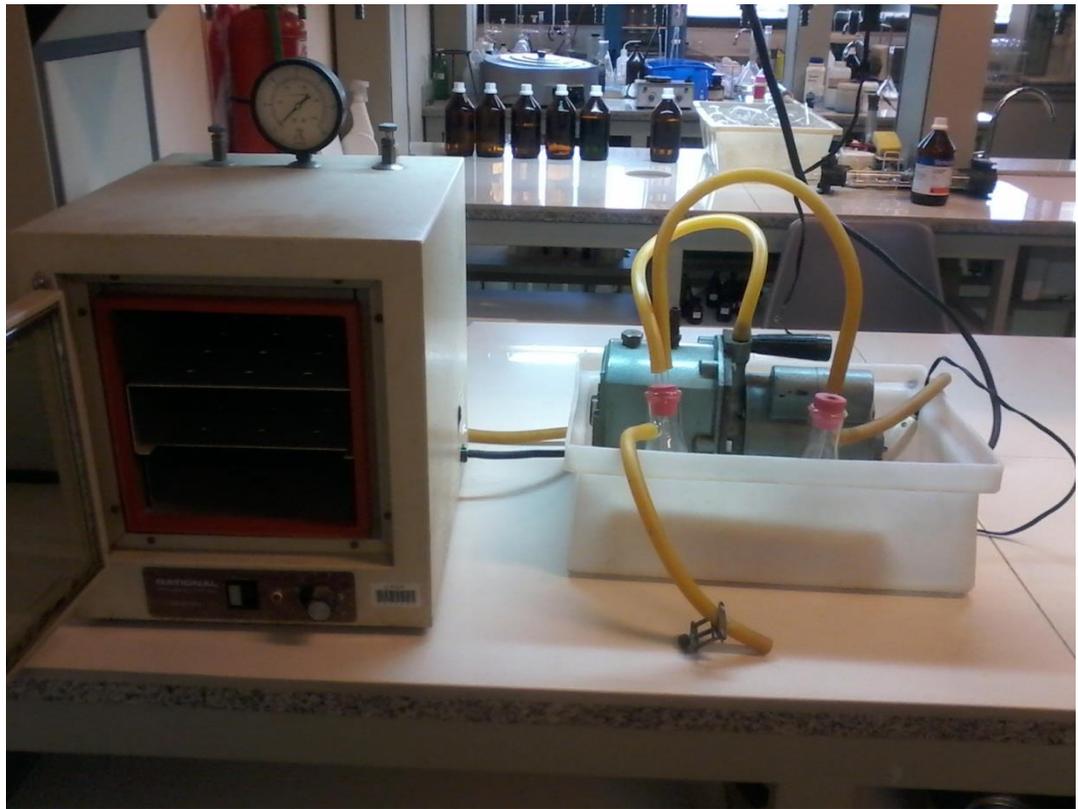


Imagen Anexo2.13 – Estufa acoplada a la bomba de vacío– Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.14



Imagen Anexo2.14 – Muestra obtenida luego de separar del alcohol y centrifugar (F2) – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.15



Imagen Anexo2.15 –Comparación de colores entre las soluciones base armadas con goma arábica(A1 y A2), extracto de hemicelulosa sin tratamiento térmico(H1 y H2) y extracto de hemicelulosa liofilizada (HL1 y HL2) – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.16



Imagen Anexo2.16 – Comparación del cremado en el instante cero entre la Sol. emulsionante goma arábica 1 y el blanco – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.17



Imagen Anexo2.17 – Comparación del cremado en el instante cero entre la Sol. emulsionante goma arábica 2 y el blanco – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.18



Imagen Anexo2.18 – Comparación del cremado en el instante cero entre la Sol. emulsionante extracto de hemicelulosa liofilizado 1 y el blanco – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.19



Imagen Anexo2.19 – Comparación del cremado en el instante cero entre la Sol. emulsionante extracto de hemicelulosa liofilizado 2 y el blanco – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.20



Imagen Anexo2.20 – Comparación del cremado en el instante cero entre la Sol. emulsionante extracto de hemicelulosa sin tratamiento térmico 1 y el blanco – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.21



Imagen Anexo2.21 – Comparación del cremado en el instante cero entre la Sol. emulsionante extracto de hemicelulosa sin tratamiento térmico 2 y el blanco – Elaboración propia

IMAGEN ANEXO 2.22



Imagen Anexo2.22 – Proceso de homogenización de la solución emulsionante – Elaboración propia

ANEXO 3 – Protocolos de Analisis

VERILAB
SOCIEDAD ANONIMA
Fecha: 27/08/2012

SISTEMA DE GESTION CERTIFICADO POR
NORMA ISO 9001-2000 Reg. N° 416333 QM
NORMA ISO 14001-2004 Reg. N° 416334 UM
N° interno: CR261

Informe Técnico

Cliente: Arcor SAIC
Establecimiento: San Pedro
Muestra remitida: Burlanda de maiz
Marca: ---
N° lote/ identificación: ---
Cantidad: 1 unidad
Fecha de recepción: 08/08/2012

Análisis	Resultados	Método
Humedad	61,97 %	Desecación a 105°C
Cenizas	2,35 %	Calcinación a 550°C
Proteínas (N x 6,25)	12,98 %	Kjeldahl
Materia grasa total	7,69 %	Extracción con éter (Soxhlet)
Hidratos de carbono	12,59 %	Cálculo
Fibra Bruta	2,42 %	AOAC 962.09
Fibra detergente ácido	7,20 %	AOAC 973.18
Fibra detergente neutro	13,25 %	Van Soest (1970/1991)
Almidón	0,40 %	Hidrólisis enzimática – Fehling
Calcio	18,0 mg/100 g	Absorción atómica
Fósforo	0,40 %	AOAC 958.01
Vitamina B1 (Tiamina)	1,90 ppm	HPLC
Vitamina B2 (Riboflavina)	1,90 ppm	HPLC
Energía bruta	5,40 Mcal/kg mat.seca	Cálculo
Energía digestible	5,24 Mcal/kg mat.seca	Cálculo
Energía metabolizable (rumiantes)	4,30 Mcal/kg mat.seca	Cálculo
Energía neta lactación	2,66 Mcal/kg mat.seca	Cálculo
Energía neta de engorde	4,29 Mcal/kg mat.seca	Cálculo

Camargo 468 - C1414AHJ - Buenos Aires - Tel./Fax: 4856-8414 - 4854-9949 / 7898
E-mail: info@verilabsa.com.ar - www.verilabsa.com.ar

VERILAB
SOCIEDAD ANONIMA
Fecha: 27/08/2012

SISTEMA DE GESTION CERTIFICADO POR
NORMA ISO 9001-2000 Reg. N° 416333 OM
NORMA ISO 14001-2004 Reg. N° 416334 UM
N° interno: CR261

Informe Técnico

Cliente: Arcor SAIC
Establecimiento: San Pedro
Muestra remitida: Burlanda de maiz
Marca: ---
N° lote/ identificación: ---
Cantidad: 1 unidad
Fecha de recepción: 08/08/2012

Análisis	Resultados	Método
Humedad	61,97 %	Desecación a 105°C
Cenizas	2,35 %	Calcificación a 550°C
Proteínas (N x 6,25)	12,98 %	Kjeldahl
Materia grasa total	7,69 %	Extracción con éter (Soxhlet)
Hidratos de carbono	12,59 %	Cálculo
Fibra Bruta	2,42 %	AOAC 962.09
Fibra detergente ácido	7,20 %	AOAC 973.18
Fibra detergente neutro	13,25 %	Van Soest (1970/1991)
Almidón	0,40 %	Hidrólisis enzimática - Fehling
Calcio	18,0 mg/100 g	Absorción atómica
Fósforo	0,40 %	AOAC 958.01
Vitamina B1 (Tiamina)	1,90 ppm	HPLC
Vitamina B2 (Riboflavina)	1,90 ppm	HPLC
Energía bruta	5,40 Mcal/kg mat.seca	Cálculo
Energía digestible	5,24 Mcal/kg mat.seca	Cálculo
Energía metabolizable (rumiantes)	4,30 Mcal/kg mat.seca	Cálculo
Energía neta lactación	2,66 Mcal/kg mat.seca	Cálculo
Energía neta de engorde	4,29 Mcal/kg mat.seca	Cálculo

Camargo 468 - C1414AHJ - Buenos Aires - Tel./Fax: 4856-8414 - 4854-9949 / 7898
E-mail: info@verilabsa.com.ar - www.verilabsa.com.ar

Protocolo de análisis de composición química de los DDGS. Cortesía de Arcor San Pedro

VERILAB
SOCIEDAD ANONIMA

Fecha: 27/08/2012

SISTEMA DE GESTION CERTIFICADO POR
NORMA ISO 9001-2000 Reg. N° 416333 QM
NORMA ISO 14001-2004 Reg. N° 416334 UM
N° interno: CR261

Ácido aspártico + asparagina	0,8 g/100 g	HPLC
Ácido glutámico + glutamina	1,9 g/100 g	HPLC
Alanina	0,8 g/100 g	HPLC
Arginina	0,6 g/100 g	HPLC
Cistina + Cisteína (como ácido cisteico)	0,24 g/100 g	HPLC
Fenilalanina	0,5 g/100 g	HPLC
Glicina	0,5 g/100 g	HPLC
Hidroxiprolina	Menor a 20 ppm g/100 g	HPLC
Histidina	0,3 g/100 g	HPLC
Isoleucina	0,4 g/100 g	HPLC
Leucina	1,2 g/100 g	HPLC
Lisina	0,6 g/100 g	HPLC
Metionina	0,3 g/100 g	HPLC
Ornitina	0,1 g/100 g	HPLC
Prolina	0,9 g/100 g	HPLC
Serina	0,4 g/100 g	HPLC
Taurina	Menor a 20 ppm g/100 g	HPLC
Tirosina	0,5 g/100 g	HPLC
Treonina	0,5 g/100 g	HPLC
Triptofano	0,1 g/100 g	HPLC
Valina	0,5 g/100 g	HPLC

Observaciones: Ecuaciones para los cálculos : (1)EB= Proteínas (b.s.)x 5,65 + Lípidos (b.s.)x 9,35 + Carbohidratos (b.s.)x 4 Carbohidratos (b.s.) = 100 - (Proteínas b.s. + Lípidos b.s. + Cenizas b.s.) (2)Energía Digestible ~ Nutrientes Digestibles Totales(NDT)x 4,4 Mcal/kg mat. seca. NDT= Proteínas (b.s.) + Fibra bruta (b.s.) + Extracto libre Nitrógeno (ELN) (b.s.) + Lípidos (b.s.) x 2,25. ELN= 100 - (Proteínas b.s. + Lípidos b.s. + Fibra bruta b.s. + Cenizas b.s.) (3)Energía metabolizable (rumiantes) = Energía digestible x 0,82 (4)Energía neta para lactación = Energía metabolizable x KI , donde KI : 0,62. Energía neta para engorde= 1,42 X Em - 0,174 X Em + 0,0122 x Em - 1,12

Conclusiones: No se cuenta con especificaciones para este producto.

Camargo 468 - C1414AHJ - Buenos Aires - Tel./Fax: 4856-8414 - 4854-9949 / 7898
E-mail: info@verilabsa.com.ar - www.verilabsa.com.ar

Protocolo de análisis de composición química de los DDGS. Cortesía de Arcor San Pedro

ANEXO 4 – FORMULARIOS DE EVALUACIÓN SENSORIAL

Pruebas Afectiva de Preferencia

<p>Nombre: _____ Fecha: _____</p> <p>Producto: _____</p> <p>Pruebe las dos muestras que se le presentan. Primero pruebe la muestra: _____ y luego pruebe la muestra: _____.</p> <p>Indique cual de las dos muestras prefiere usted. Prefiero la muestra N°: _____</p> <p>¿Por qué eligió esa muestra?</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Comentarios:</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>¡Muchas Gracias!</p>
--

Formulario 1 - Modelo de prueba de preferencia

Fuente: Anzaldúa- Morales A, 1994

Nombre: _____ **Fecha:** _____

Producto: _____

Pruebe la muestra que se presenta a continuación.

Marque con una X, en el cuadrado que esta junto a la frase que mejor describa su opinión sobre el producto que acaba de probar.

EXCELENTE	<input type="checkbox"/>
MUY BUENO	<input type="checkbox"/>
BUENO	<input type="checkbox"/>
REGULAR	<input type="checkbox"/>
MALO	<input type="checkbox"/>

Comentarios:

¡Muchas Gracias!

Formulario 2 – Escala Hedonica de preferencia

Fuente: Hernandez Elizabeth. A, 2005

Pruebas de Diferenciación

Nombre: _____ **Fecha:** _____

Producto: _____

Frente a Ud. hay tres muestras, de bebidas emulsionadas sabor naranja, dos son iguales y una es diferente saboree cada una con cuidado y marque con una X la muestra diferente

MUESTRA N° _____	<input type="checkbox"/>
MUESTRA N° _____	<input type="checkbox"/>
MUESTRA N° _____	<input type="checkbox"/>

Comentarios:

¡Muchas Gracias!

Formulario 3 - Prueba Triangular

Fuente: Hernandez Elizabeth. A, 2005

Tabla XXI - Interpretación de los resultados obtenidos

Número de juicios	Pruebas bilaterales* Nivel de probabilidad			Pruebas unilaterales** Nivel de probabilidad		
	5%	1%	0.1%	5%	1%	0.1%
5	-	-	-	5	-	-
6	-	-	-	6	-	-
7	7	-	-	7	7	-
8	8	8	-	7	8	-
9	8	9	-	8	9	-
10	9	10	-	9	10	10
11	10	11	11	9	10	11
12	10	11	12	10	11	12
13	11	12	13	10	12	13
14	12	13	14	11	12	13
15	12	13	14	12	13	14
16	13	14	15	12	14	15
17	13	15	16	13	14	16
18	14	15	17	13	15	16
19	15	16	17	14	15	17
20	15	17	18	15	16	18
21	16	17	19	15	17	18
22	17	18	19	16	17	19
23	17	19	20	16	18	20
24	18	19	21	17	19	20
25	18	20	21	18	19	21
26	19	20	22	18	20	22
27	20	21	23	19	20	22
28	20	22	23	19	21	23
29	21	22	24	20	22	24
30	21	23	25	20	22	24
31	22	24	25	21	23	25
32	23	24	26	22	24	26
33	23	25	27	22	24	26
34	24	25	27	23	25	27
35	24	26	28	23	25	27
36	25	27	29	24	26	28
37	25	27	29	24	27	29
38	26	28	30	25	27	29
39	27	28	31	26	28	30
40	27	29	31	26	28	31
41	28	30	32	27	29	31
42	28	30	32	27	29	32
43	29	31	33	28	30	32
44	29	31	34	28	31	33
45	30	32	34	29	31	34
46	31	33	35	30	32	34
47	31	33	36	30	32	35
48	32	34	36	31	33	36
49	32	34	37	31	34	36
50	33	35	37	32	34	37
60	39	41	44	37	40	43
70	44	47	50	43	46	49
80	50	52	56	48	51	55

* Número mínimo de juicios coincidentes necesario para establecer diferencia significativa
 ** Número mínimo de respuestas correctas necesario para establecer diferencia significativa

Fuente: Hernandez Elizabeth. A, 2005

Tabla XXII- Interpretación de los resultados de la prueba triangular

TABLA PARA INTERPRETACION DE RESULTADOS DE LA PRUEBA TRIANGULAR

Número de jueces	Número de respuestas correctas necesario para establecer diferencia significativa		
	NIVEL DE SIGNIFICANCIA		
	5%	1%	0,1%
7	5	6	7
8	6	7	8
9	6	7	8
10	7	8	9
11	7	8	9
12	8	9	10
13	8	9	10
14	9	10	11
15	9	10	12
16	10	11	12
17	10	11	13
18	10	12	13
19	11	12	14
20	11	13	14
21	12	13	15
22	12	14	15
23	13	14	16
24	13	14	16
25	13	15	17

Fuente: Anzaldúa- Morales A, 1994