



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA

## DISEÑO DE UN PROCESO ENZIMÁTICO DE ELABORACIÓN DE LECHE DE AVENA CON CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
INGENIERA CIVIL EN BIOTECNOLOGÍA

TAMARA ANDREA SEPÚLVEDA PÉREZ

PROFESOR GUÍA  
JOSÉ CRISTIAN SALGADO HERRERA

MIEMBROS DE LA COMISIÓN  
FERNANDO REYES BADILLA  
ORIANA SALAZAR AGUIRRE

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por la empresa Maltexco S.A.

SANTIAGO DE CHILE

2016

**RESUMEN DE LA MEMORIA PARA OPTAR AL  
TÍTULO DE:** Ingeniero Civil en Biotecnología.  
**POR:** Tamara Andrea Sepúlveda Pérez  
**FECHA:** 04/03/2016  
**PROFESOR GUÍA:** José Cristian Salgado H.

## **DISEÑO DE UN PROCESO ENZIMÁTICO DE ELABORACIÓN DE LECHE DE AVENA CON CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES**

---

La alimentación saludable es un tema que ha ido cobrando importancia, tanto para las personas como para el Gobierno y las industrias. El mercado de los alimentos saludables representa actualmente el 19% de la ventas del *retail* nacional (US\$ 3 billones) y se proyecta siga creciendo. En esta línea, Maltexco S.A. considera la posibilidad de elaborar leche de avena, aprovechando su alto contenido de  $\beta$ -glucanos, el cual actúa reduciendo el colesterol en la sangre.

Este trabajo busca diseñar un proceso enzimático para la elaboración de leche de avena que sea compatible con los equipos disponibles en la empresa y permita mantener las características funcionales del grano. Para ello, se definen a escala de laboratorio los parámetros y condiciones de operación que luego se pre-evalúan técnicamente en una planta piloto. Además, se determinan las etapas en las que se medirán  $\beta$ -glucanos para monitorear su proceso de extracción.

El proceso diseñado consta de 5 etapas: molienda, maceración, filtración, tratamiento térmico y decantación. En base a éste, el producto con mejores resultados se obtiene tras utilizar  $\alpha$ -amilasa,  $\beta$ -amilasa y pululanasa en una mezcla de agua con harina de avena pelada y estabilizada en una relación de 8 [l] por cada kilogramo de avena. Las concentraciones de enzimas utilizadas son: 187,5 [FAU/ml], 5.000 [DP°/ml] y 412,5 [PU/ml], respectivamente, mientras que la curva de maceración propuesta considera tres pares de temperaturas y tiempos de incubación: 55 [°C] por 10 [min], 65 [°C] por 40 [min] y 90 [°C] por 50 [min].

El producto elaborado posee textura cremosa y una concentración de  $\beta$ -glucanos que sólo alcanza el 42% de lo que establece la norma chilena para considerar a un producto como saludable. Esto se debe, principalmente, a los bajos rendimientos de extracción originados por problemas de agitación y difusión de las enzimas en la mezcla.

Tras evaluar el proceso, se descarta el uso tanto del tratamiento térmico como la decantación, debido a la pérdida de  $\beta$ -glucanos y el aumento en la duración del proceso total. Finalmente, se propone un proceso con 4 etapas principales: molienda, maceración, centrifugación y pasteurización. Si a esto se suma una optimización en la etapa de maceración se podría aumentar el rendimiento y disminuir la cremosidad.

*A quien más que casada  
quería verme como una  
profesional.*

*Gracias.*

## **AGRADECIMIENTOS**

---

Quiero comenzar por agradecer al profesor Cristian Salgado y a Fernando Reyes como representante de Maltexco S.A., quienes me dieron la oportunidad de desarrollar este trabajo, que trajo consigo un gran aprendizaje a nivel profesional, representando mi primer gran paso hacia el mundo laboral. También agradezco a la profesora Oriana, quien siempre estuvo dispuesta a ayudarme y responder mis dudas.

A Camila Rodríguez, por ser un apoyo fundamental durante mi estadía en la empresa junto a Rodrigo Sánchez, guiando mi trabajo en el laboratorio diariamente. Al personal del laboratorio de calidad, Don Peter, Don Carlos, Vero, Cristofer y Mónica, por su simpatía y buena disposición, haciendo los días de trabajo más gratos.

A mis compañeros tesisistas, Oso y Pancho, con quienes vivimos las frustraciones y alegrías de la tesis.

De manera personal, agradezco a todos quienes acompañaron mi paso por la Universidad. A Cata, José, Pablo y Javier, gracias por seguir estando, a pesar de todo, y a los amigos de siempre, Lisa, JK, Angelo, Mati, Seba y Pablo, por los viernes de descanso y relax, siempre justos y necesarios.

A mi generación de IQBTitos, por ser tan únicos e inigualables todos, porque tuvimos una gira de lujo y muchas anécdotas para el recuerdo. De manera especial agradezco a Fede, Joaco y Lore, por compartir conmigo el valor de cada uno como persona y hacer que las jornadas de arduo trabajo (o quizás no tanto) fueran instancias agradables y me hicieran considerarlos el mejor grupo de trabajo de la vida.

Tanto a quienes fueron mis compañeros del CEIQBT 2014 como de la Comisión de Docencia del DIQBT, por ensañarme a trabajar en equipo confiando en los demás y permitieron que descubriera una nueva faceta que me ha entregado muchos buenos momentos intentando arreglar el mundo.

A Lorena, por estar a mi lado hace ya más de 12 años, soportando mis mañas, entendiendo mis ausencias, dándome ánimo y confianza. A Scarlette por sacarme de vez en cuando del mundo de la Ingeniería al mundo de la Filosofía y hacerme sentir un poco más culta durante esas conversaciones eternas.

Y por último, agradezco a mi familia, que no sólo me ha acompañado durante mi etapa universitaria, sino que durante toda mi vida. Con altos y bajos, pero a nuestra manera, siempre presentes.

## TABLA DE CONTENIDO

---

1	Introducción.....	1
1.1	Antecedentes generales.....	1
1.1.1	Maltexco S.A. ....	1
1.1.2	Mercado de alimentos saludables en Chile .....	2
1.1.3	Mercado y consumo de leche en Chile.....	4
1.2	Motivación .....	5
1.3	Objetivos .....	6
1.3.1	Objetivo general .....	6
1.3.2	Objetivos específicos .....	6
2	Marco Teórico.....	7
2.1	Alimentos Funcionales .....	7
2.2	Leches vegetales .....	7
2.3	Avena y sus propiedades .....	10
2.3.1	Composición química .....	11
2.3.2	$\beta$ -glucanos y salud humana .....	13
2.3.3	Tipos de avena comercializadas .....	14
2.4	Hidrólisis del almidón .....	15
2.5	Proceso de elaboración de extractos de Maltexco S.A. ....	16
2.6	Planta piloto de Maltexco S.A. ....	19
3	Metodología .....	22
3.1	Metodología general.....	22
3.2	Materiales.....	24

3.2.1	Insumos y reactivos .....	24
3.2.2	Equipos.....	24
3.3	Parámetros y propiedades medidas para la evaluación del proceso diseñado y su producto.....	25
3.3.1	Rendimiento del proceso .....	26
3.3.2	Propiedades fisicoquímicas .....	26
3.3.3	Propiedades organolépticas .....	28
3.4	Diseño del proceso de elaboración de leche de avena .....	29
3.5	Trabajo a escala de laboratorio.....	30
3.5.1	Caracterización del producto objetivo .....	30
3.5.2	Determinación de materia prima y parámetros de molienda	30
3.5.3	Determinación de los parámetros de maceración.....	32
3.6	Trabajo a escala piloto .....	35
3.6.1	Proceso de elaboración de leche de avena a evaluar .....	36
3.6.2	Separación de sólidos mayores e insolubles.....	36
3.6.3	Eliminación de patógenos e inocuidad .....	37
3.7	Evaluación del producto final.....	38
4	Resultados y Discusión .....	39
4.1	Diseño del proceso de elaboración de avena.....	39
4.1.1	Diseño de proceso de elaboración de leche de avena adaptado a los equipos disponibles en Maltexco S.A. ....	39
4.1.2	Parámetros y condiciones de operación .....	41
4.2	Trabajo a escala laboratorio .....	42

4.2.1	Caracterización del producto objetivo .....	42
4.2.2	Determinación de materia prima y parámetros de molienda	45
4.2.3	Determinación de parámetros de maceración.....	48
4.3	Trabajo a escala piloto .....	61
4.3.1	Separación de sólidos mayores e insolubles.....	61
4.3.2	Eliminación de patógenos e inocuidad .....	67
4.4	Evaluación del producto final.....	69
5	Conclusiones y recomendaciones .....	73
6	Bibliografía .....	75
Anexos .....		82
Anexo A.Fragmento de Resolución N°764 Secretaría de Salud .....		83
Anexo B.Proceso de elaboración de leche de vaca .....		85
Anexo C.Información complementaria a la metodología .....		86
C.1.	Protocolos y cálculos asociados .....	86
C.2.	Uso de equipos e instrumentos .....	91
C.3.	Detalles experimentos de maceración .....	94
Anexo D.Información complementaria a los resultados .....		101
D.1.	Detalles de la búsqueda bibliográfica .....	101
D.2.	Datos y cálculos asociados a la caracterización del producto objetivo .....	102
D.3.	Cálculos para el dimensionamiento de centrífuga industrial.	104
D.4.	Cuantificación de $\beta$ -glucanos en producto final.....	106

## ÍNDICE DE TABLAS

---

Tabla 2.1: Composición química aproximada de distintos granos.....	13
Tabla 2.2: Composición química de distintos tipos de avena y derivados. .....	14
Tabla 2.3: Enzimas utilizadas en la hidrólisis enzimática del almidón. .	15
Tabla 3.1: Listado de insumos y reactivos utilizados durante la fase experimental.....	24
Tabla 3.2: Listado de equipos utilizados durante la fase experimental a escala de laboratorio.....	25
Tabla 3.3: Listado de equipos utilizados durante la fase experimental a escala piloto. ....	25
Tabla 3.4: Resumen de los experimentos a realizar a escala laboratorio. .....	30
Tabla 3.5: Regímenes de molienda utilizados en molinillo de café. ....	31
Tabla 3.6: Combinaciones enzimáticas propuestas a probar en la elaboración de leche de avena. ....	33
Tabla 3.7: Diseño experimental según método de Taguchi para C1 y C2. .....	34
Tabla 3.8: Resumen de los experimentos a realizar a escala piloto. ....	36
Tabla 4.1: Información técnica de las enzimas seleccionadas.....	41
Tabla 4.2: Resumen de la información extraída de distintos trabajos bibliográficos revisados. ....	42
Tabla 4.3: Rangos de las propiedades organolépticas y fisicoquímicas de referencia definidas tras el análisis de leches comercializadas en Chile. ....	43
Tabla 4.4: Granulometría de los distintos tipos de granos obtenida post-molienda. ....	45
Tabla 4.5: Resultados para el estudio de tipo de grano y granulometría. .....	47
Tabla 4.6: Resultados para definir la relación sólido-líquido a utilizar inicialmente. ....	48

Tabla 4.7: Resultados de los parámetros medidos para C1. ....	50
Tabla 4.8: Resultados de los parámetros medidos para C2. ....	51
Tabla 4.9: Resultados de los parámetros medidos para C3 y C4.....	53
Tabla 4.10: Resultados de los parámetros medidos para nuevas condiciones de concentraciones enzimáticas. ....	55
Tabla 4.11: Resultados asociados a la variación de parámetros de la proporción 1:20:2. ....	56
Tabla 4.12: Resultados asociados a la variación de parámetros de la proporción 1:20:2,2.....	57
Tabla 4.13: Curvas de maceración utilizadas en las pruebas finales....	59
Tabla 4.14: Resultados asociados a las proporciones enzimáticas finales. ....	60
Tabla 4.15: Promedios y desviación estándar para las pruebas realizadas. ....	61
Tabla 4.16: Volúmenes recuperados tras los dos regímenes de filtración y rendimientos asociados. ....	63
Tabla 4.17: Tamaño de las fases y dificultad de resuspensión observadas tras distintas condiciones de centrifugación.....	65
Tabla 4.18: Propiedades organolépticas y fisicoquímicas de los productos elaborados en la planta piloto. ....	69
Tabla 4.19: Propiedades fisicoquímicas de los productos elaborados en la planta piloto. ....	69
Tabla 4.20: Contenido de $\beta$ -glucanos en distintas etapas del proceso. ....	71

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

Figura 1.1: Mercado chileno de alimentos de la categoría salud y bienestar.....	3
Figura 1.2: Leches vegetales comercializadas en Chile por supermercados y negocios menores. ....	5
Figura 2.1: Proceso convencional de producción de leches vegetales. ...	9
Figura 2.2: Esquema de un grano de avena. Traducido y adaptado de Quaker Oats. ....	10
Figura 2.3: Componentes del almidón.....	12
Figura 2.4: Estructura de $\beta$ -glucano. ....	13
Figura 2.5: Hidrólisis enzimática de almidón por algunas enzimas. ....	16
Figura 2.6: Proceso de elaboración de extractos de Maltexco S.A. Adaptado.....	17
Figura 2.7: Macerador (izquierda) y filtro vertical (derecha) de la planta piloto. ....	20
Figura 2.8: Decantador Whirlpool (izquierda) y concentrador marca POPE (derecha) de la planta piloto. ....	20
Figura 2.9: Fermentador (izquierda) y gasificador (derecha) de la planta piloto. ....	21
Figura 3.1: Esquema de la metodología general empleada para el desarrollo del trabajo de memoria. ....	22
Figura 3.2: Esquema detallado de la metodología seguida desde el desarrollo experimental hasta la elección del producto final.. ....	23
Figura 3.3: Pantone utilizado de referencia para determinar color. ....	29
Figura 3.4: Molinillo de café utilizado para moler avena. ....	31
Figura 3.5: Macerador de laboratorio marca LB Electronic, modelo LB 4, utilizado durante la fase experimental. ....	32
Figura 3.6: Ejemplo del proceso utilizado para definir el tamaño de las fases observables tras la centrifugación.....	37

Figura 4.1: Proceso de elaboración de leche de avena a implementar según la adaptación realizada. ....	39
Figura 4.2: Leches analizadas. Leche marca Amandín (izquierda). Leche marca Pacific (derecha).....	44
Figura 4.3: Tipos de grano utilizados y los productos obtenidos. ....	46
Figura 4.4: Producto obtenido al utilizar relación sólido-líquido de 1:4.	48
Figura 4.5: Apariencia del producto filtrado. ....	62
Figura 4.6: Interior del filtro una vez finalizada la filtración. ....	62
Figura 4.7: Vista superior del interior del Whirlpool tras 1 hora de operación. ....	64
Figura 4.8: Comparación entre producto sin tratamiento térmico (izquierda) y sometido a tratamiento térmico (derecho). ....	67
Figura 4.9: Comparación de dos productos: sin pasteurizar (izquierda) y pasteurizado (derecha). ....	68
Figura 4.10: Presencia de aglomeraciones de avena en el producto final. ....	70

# 1 INTRODUCCIÓN

---

## 1.1 ANTECEDENTES GENERALES

### 1.1.1 Maltexco S.A.

Maltexco S.A. es una empresa fundada en 1986 que se destaca por la producción de derivados de la cebada para la industria cervecera y alimentaria. Cuenta con dos subdivisiones: PatagoniaMalt, dedicada a la producción de malta para cerveza, y MaltexcoFood, dedicada a la comercialización de productos alimenticios 100% naturales<sup>[1]</sup>.

La empresa cuenta con 4 plantas distribuidas en el centro-sur de Chile. Éstas se ubican en Talagante, Coronel, Cajón y Temuco. La primera está ubicada en la Región Metropolitana, la segunda en la VIII Región y las últimas dos en la IX Región<sup>[1]</sup>.

MaltexcoFood cuenta con productos que cumplen diferentes propósitos, tales como los productos nutricionales (cebada perlada, harina de cebada perlada, harina tradicional de cebada, harina de cebada integral, Maltexcao), mejoradores (extractos de malta, harina de malta), colorantes naturales (harina especial tostada, harina especial caramelo, Barleycolor, EMOT) y sustitutos (BarleyChoc Light, BarleyChoc, Classic, BarleyChoc Dark y Barley Coffee)<sup>[2]</sup>.

Los productos de tipo nutricionales se caracterizan por su alto contenido de fibras solubles e insolubles, ser bajos en grasas, contar con alto contenido de  $\beta$ -glucanos y ser 100% naturales (sin químicos ni uso de organismos genéticamente modificados). Asimismo, los productos tipo colorantes naturales, además de ser 100% naturales, se caracterizan por mejorar la coloración de los productos en los que se utilizan<sup>[2]</sup>.

Los productos mejoradores cuentan con un alto contenido enzimático, siendo capaces de mejorar la productividad de levaduras y mejorar sabores, aromas y texturas. Por último, los productos sustitutos se caracterizan por poder reemplazar a bajo costo al café, el cacao en polvo, entre otros<sup>[2]</sup>.

En las plantas de Maltexco S.A. se realizan distintos procesos, destacando 5 de ellos: malteo, tostación, molienda, extracto y acopio<sup>[3-5]</sup>.

El malteo corresponde a un proceso en el cual se busca hacer germinar el grano de cebada para lograr transformar sus reservas de energía, principalmente almidón y proteínas, en sustratos extraíbles y solubles en agua. Por otra parte, la tostación busca conseguir variaciones tostadas de malta

mediante la aplicación de un perfil ascendente de temperatura, mientras que la molienda busca producir partículas de distintos tamaños<sup>[3-5]</sup>.

El extracto, por otro lado, consiste en un producto sólido o espeso obtenido por evaporación de un zumo o de una solución de sustancias vegetales o animales<sup>[6]</sup>. El proceso de elaboración de extractos tiene por objetivo otorgar las condiciones necesarias para digerir y extraer proteínas, carbohidratos, enzimas y sustancias fenólicas desde el grano utilizado para obtener azúcares fermentables y compuestos nitrogenados<sup>[3-5]</sup>.

Actualmente, la empresa cuenta con un área de investigación y desarrollo que se encuentra trabajando en la mejora de productos o elaboración de otros nuevos que sigan la línea de lo naturalmente saludable.

### **1.1.2 Mercado de alimentos saludables en Chile**

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la nutrición y el tipo de dieta puede afectar, tanto positiva como negativamente, la salud de las personas a lo largo de su vida. Por esta razón, la nutrición representa un factor de importancia en el desarrollo de enfermedades crónicas, tales como cáncer, enfermedades cardiovasculares y diabetes<sup>[7]</sup>.

De acuerdo a un estudio realizado por distintos organismos, liderado por la Fundación Chile y publicado el año 2013, los alimentos que reportan beneficios para la salud se pueden clasificar en 5 categorías<sup>[8]</sup>:

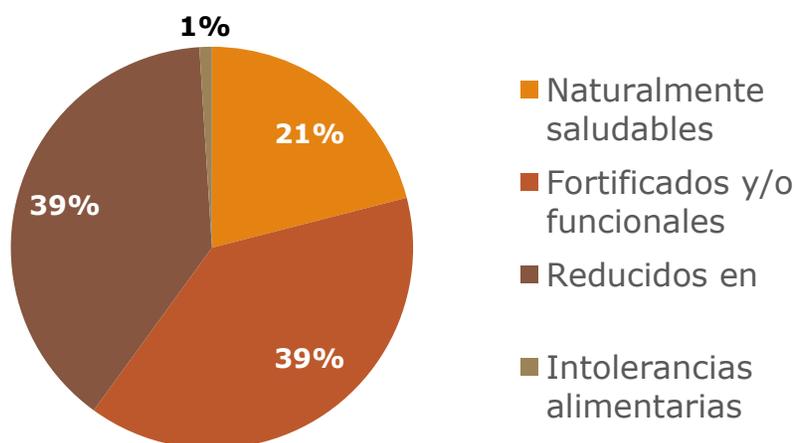
- **Naturalmente saludables:** corresponden a los alimentos que de forma natural contienen sustancias que mejoran la salud y el bienestar, más allá del valor calórico del producto.
- **Fortificadores o funcionales:** son aquellos alimentos que son benéficos para la salud más allá de su valor nutritivo y/o aquellos en los que el nivel de ingredientes adicionados no se encuentra normalmente en tales productos.
- **Reducidos en:** son aquellos en los cuales la cantidad de grasas, azúcares, sal, hidratos de carbono, u otra sustancia considerada poco saludable, se reduce durante su elaboración.
- **Tolerancias alimentarias:** corresponden a aquellos alimentos en donde se remueve su componente que pueda causar alergias o intolerancias.
- **Alimentos orgánicos:** son aquellos alimentos agrícolas que son cultivados sin agregar insumos (fertilizantes, plaguicidas) a las tierras en las que se producen<sup>[9]</sup>.

De estas 5 categorías, las 3 primeras son las que representan un mayor porcentaje del mercado y crecimiento en los últimos años, destacando en los alimentos *Naturalmente Saludables* aquellos con alto contenido de fibra. Por el contrario, las últimas dos categorías no representan gran porcentaje del

mercado, aunque se destaca la concentración de ventas del sector lácteo para el grupo de las *Tolerancias alimentarias*<sup>[8]</sup>.

Se pronostica que entre los años 2012-2017 el crecimiento de los alimentos *Fortificados y/o Funcionales*, será del 6%, mientras que para los alimentos *Reducidos En*, este porcentaje asciende al 15%<sup>[8]</sup>.

En el mismo estudio se declara que durante el 2012, el mercado de los alimentos clasificados en la categoría Salud y Bienestar representaba un 19% de las ventas del *retail* de la industria de alimentos procesados y bebidas en Chile, lo que equivale a USD\$3 billones. Este mercado se distribuye como se observa en la Figura 1.1<sup>[8]</sup>.



**Figura 1.1: Mercado chileno de alimentos de la categoría salud y bienestar. Fuente: Estudio Chile saludable, volumen 2, Fundación Chile<sup>[8]</sup>.**

Para mejorar la salud y bienestar de la población desde su alimentación, la industria representa un rol fundamental, tanto en la producción como en la información que entrega. Dentro de las oportunidades de innovación actuales para la industria alimentaria se encuentra la innovación de productos, procesos y envases y la innovación en modelos de negocios en beneficios de la salud<sup>[8]</sup>.

Sumado a los esfuerzos de la industria, el Estado debe trabajar en la generación de políticas, planes y programas que promuevan un país más saludable. Es en este sentido que existen regulaciones sobre el tema, como el Reglamento Sanitario de los Alimentos<sup>[10]</sup>, la Ley 20.606 sobre la Composición nutricional de los alimentos y su publicidad<sup>[11]</sup> y la Resolución N°764 que aprueba las Normas técnicas sobre directrices nutricionales para la declaración de propiedades saludables de los alimentos<sup>[12]</sup>, además de otros programas en la misma línea<sup>[13]</sup>.

### 1.1.3 Mercado y consumo de leche en Chile

De acuerdo a la Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA), Chile posee una industria láctea con sobre 6.000 productores comerciales formales, concentrados principalmente entre las regiones de Los Lagos y Los Ríos. La producción anual de leche alcanza los 2.650 millones de litros, los que se reparten en quesos, leches en polvo y otros derivados<sup>[14]</sup>. Además, junto a esta producción, existen tanto importaciones como exportaciones<sup>[14-16]</sup>. Durante el 2014, 1.012 millones de los litros producidos correspondieron a lácteos líquidos<sup>1</sup>, de los cuales aproximadamente 860 millones representaban leches blancas o saborizadas en formato líquido y polvo<sup>[17]</sup>.

Por otro lado, se estima que actualmente el consumo de lácteos en el país es de aproximadamente 150 litros per cápita al año<sup>14</sup>, siendo la media de su consumo diario de 330 [ml/día], es decir, una porción y media, la mitad de lo recomendado por el Ministerio de Salud (3 porciones diarias)<sup>[18]</sup>.

Asimismo, la Encuesta Nacional de Consumo Alimentario (ENCA) estableció que durante el año 2010 el 55,8% de la población consumía una o más porciones de lácteos al día, mientras que el 6,6% reconocía no consumir lácteos. Con esto, el 37,6% representa a consumidores ocasionales de estos productos<sup>[19]</sup>.

Si bien el consumo per cápita anual se encuentra dentro del consumo medio según lo que establece la Organización de las Naciones Unidas (FAO - *Food and Agriculture Organization*), aún no alcanza niveles superiores, como los de Europa o América del Norte. Se ha observado en el último tiempo que en países en vías de desarrollo como Chile el consumo de leche ha aumentado, sin embargo, este crecimiento es cada vez más lento<sup>[20]</sup>. Entre los factores que explican este fenómeno se encuentran las preferencias personales de los consumidores, aspectos religiosos, culturales, económicos, de salud, entre otros.

De acuerdo a lo anterior, se puede reconocer dentro del factor de preferencias de los consumidores, el crecimiento de la población vegetariana en el país<sup>[21]</sup>. En aspectos de salud, se encuentran el malestar o enfermedades asociadas al consumo de leche de vaca, como la intolerancia a la lactosa y la alergia a la proteína de vaca<sup>[22-23]</sup>.

Dentro de este último punto, estudios indican que alrededor del 60% de la población chilena presenta dificultades para absorber los azúcares de la

---

<sup>1</sup> Los lácteos líquidos corresponden a la leche blanca líquida y leche blanca en polvo convertida a litros (comercial y social), leches saborizadas, leches infantiles líquidas y leches infantiles en polvo convertidas a litros, yogures y leches cultivadas bebibles, crema líquida, leche condensada y leche evaporada<sup>[17]</sup>.

leche de vaca<sup>[24]</sup>, mientras el 4% de los niños menores de 2 años presenta alergia a la proteína de vaca<sup>[25]</sup>.

Todo lo anterior da a entender cómo las leches vegetales pueden representar un nuevo nicho para quienes no pueden consumir leches animales. Si bien éstas no entregan el mismo tipo de beneficios que la leche de vaca, pues suelen poseer menos proteínas y calcio, poseen otras cualidades que las hacen ser un producto con oportunidad en el mercado nacional, como la ausencia de lactosa y otras proteínas de vaca y efectos benéficos para la salud<sup>[23]</sup>.

Entre las leches vegetales existentes, la más reconocida es la leche de soya, sin embargo, también las hay de almendra, arroz, espelta, avena, entre otras, las que se pueden encontrar en estado natural y/o saborizadas, además de complementadas con vitaminas y sales minerales<sup>[23]</sup>. En la Figura 1.2 se observan algunas marcas y tipos de leches vegetales comercializadas en Chile.



**Figura 1.2: Leches vegetales comercializadas en Chile por supermercados y negocios menores <sup>[26-27]</sup>.**

## 1.2 MOTIVACIÓN

Actualmente la empresa Maltexco S.A. se encuentra interesada en el desarrollo de nuevos productos que sigan su línea característica, es decir, que sean naturalmente saludables y puedan ser elaborados en sus instalaciones. Por esta razón y, considerando el desarrollo de un nuevo nicho de consumidores de leches vegetales, surge la intención de desarrollar un proceso enzimático de elaboración de leche de avena que pueda mantener sus características saludables.

Se selecciona la leche de avena debido a que su proceso de elaboración se puede adaptar a los equipos con los que cuentan en la actualidad. Asimismo, la avena es reconocida por la propiedad de reducir el colesterol en la sangre debido a su alto contenido de  $\beta$ -glucanos, lo que ayuda en la prevención y control de enfermedades cardiovasculares, convirtiéndola en un alimento saludable.

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 Objetivo general**

- Diseñar un proceso enzimático para la elaboración de leche de avena con características funcionales.

### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Adaptar un proceso de producción de leche vegetal para la elaboración de leche de avena, considerando los equipos disponibles en la empresa Maltexco S.A.
- Establecer las condiciones de proceso para la elaboración de leche de avena por métodos enzimáticos manteniendo la funcionalidad del producto.
- Estandarizar un método de cuantificación enzimática de  $\beta$ -glucanos para la cuantificación de éste en el producto obtenido.
- Pre-evaluar técnicamente el proceso de extracción enzimática a escala piloto.

## **2 MARCO TEÓRICO**

---

### **2.1 ALIMENTOS FUNCIONALES**

Varias definiciones se encuentran para lo que es un alimento funcional, pero en resumen, un alimento funcional es aquel que entrega beneficios a la salud más allá de su valor nutritivo, pudiéndose variar los ingredientes en su elaboración a niveles que no se encuentren normalmente en el producto<sup>[8,28]</sup>.

La historia de los alimentos funcionales comienza en Japón durante los años 80, cuando las autoridades correspondientes notaron que los gastos en salud pública para atender a gente mayor habían aumentado debido a la mayor expectativa de vida de la población. Por consiguiente, consideraron necesario proporcionar una mejor calidad de vida, enfocándose en la alimentación, desarrollando alimentos que mejoraran la salud y redujeran el riesgo de contraer enfermedades en ese sector de la población<sup>[28]</sup>.

En el caso de Chile, se sabe que la esperanza de vida<sup>2</sup> de la población va en aumento<sup>[29]</sup> y que en el año 2012 la población adulta que se encontraba en el rango de edad entre 30 y 70 años representaba el 47,4%<sup>[30]</sup>. Además, se reconoce influencia de los hábitos alimentarios en el desarrollo creciente de enfermedades no transmisibles, como diabetes, cánceres, enfermedades cardiovasculares, entre otras<sup>[12]</sup>.

Es en esta línea que desde el Gobierno surgen iniciativas que pretenden promover el desarrollo de alimentos funcionales y el mejoramiento de la calidad de vida de la población<sup>[8,31]</sup>, además de normativas adecuadas para enfrentar los nuevos desafíos del país. Es así como en el año 2009 se aprueba la Resolución N°764 del Ministerio de Salud que sienta las Normas Técnicas sobre Directrices Nutricionales para Declarar Propiedades Saludables de los Alimentos, que es luego modificada durante el año 2011<sup>[12]</sup>. En ella se aprecia que la fibra dietética, como los  $\beta$ -glucanos de avena, tienen incidencia positiva en las enfermedades cardiovasculares. Por ello, se requieren 0,75 [g/porción] para que un alimento en base a fibra dietética se considere benéfico para la salud. El extracto de la Norma relativo a fibra dietética se encuentra en el Anexo A.

### **2.2 LECHES VEGETALES**

Las leches vegetales consisten en suspensiones del vegetal o materia prima de interés (leguminosas, semillas, cereales u otros), cuya apariencia es

---

<sup>2</sup>Corresponde a una estimación del promedio de años que viviría un grupo de personas nacidas dentro de un mismo año, si las condiciones de mortalidad del país se mantuvieran constantes<sup>32</sup>

similar a la leche de vaca. La leche de soya representa la leche vegetal más conocida y posee sus orígenes comerciales en 1940 en Asia<sup>[23]</sup>.

Su proceso de fabricación estándar se puede apreciar en la Figura 2.1 y consiste en formar la suspensión o emulsión desde la mezcla de la materia prima (algún tipo de grano, fruto seco u otro) con agua, ya sea, pasando por una molienda húmeda o seca. Una vez realizado esto, sigue una etapa de separación de sólidos, en la cual se remueven partículas de gran tamaño y contaminantes. Luego, ocurre la formulación de producto, en la cual se pueden agregar aditivos y/o estabilizantes. Le sigue la homogeneización y pasteurización o tratamiento térmico, etapas necesarias para mejorar la estabilidad del producto<sup>[23]</sup>.

De manera alternativa, si es que se quiere un producto sólido, luego de la pasteurización se puede secar, y con esto, generar leche en polvo<sup>[23]</sup>, como se observa en líneas discontinuas en la Figura 2.1.

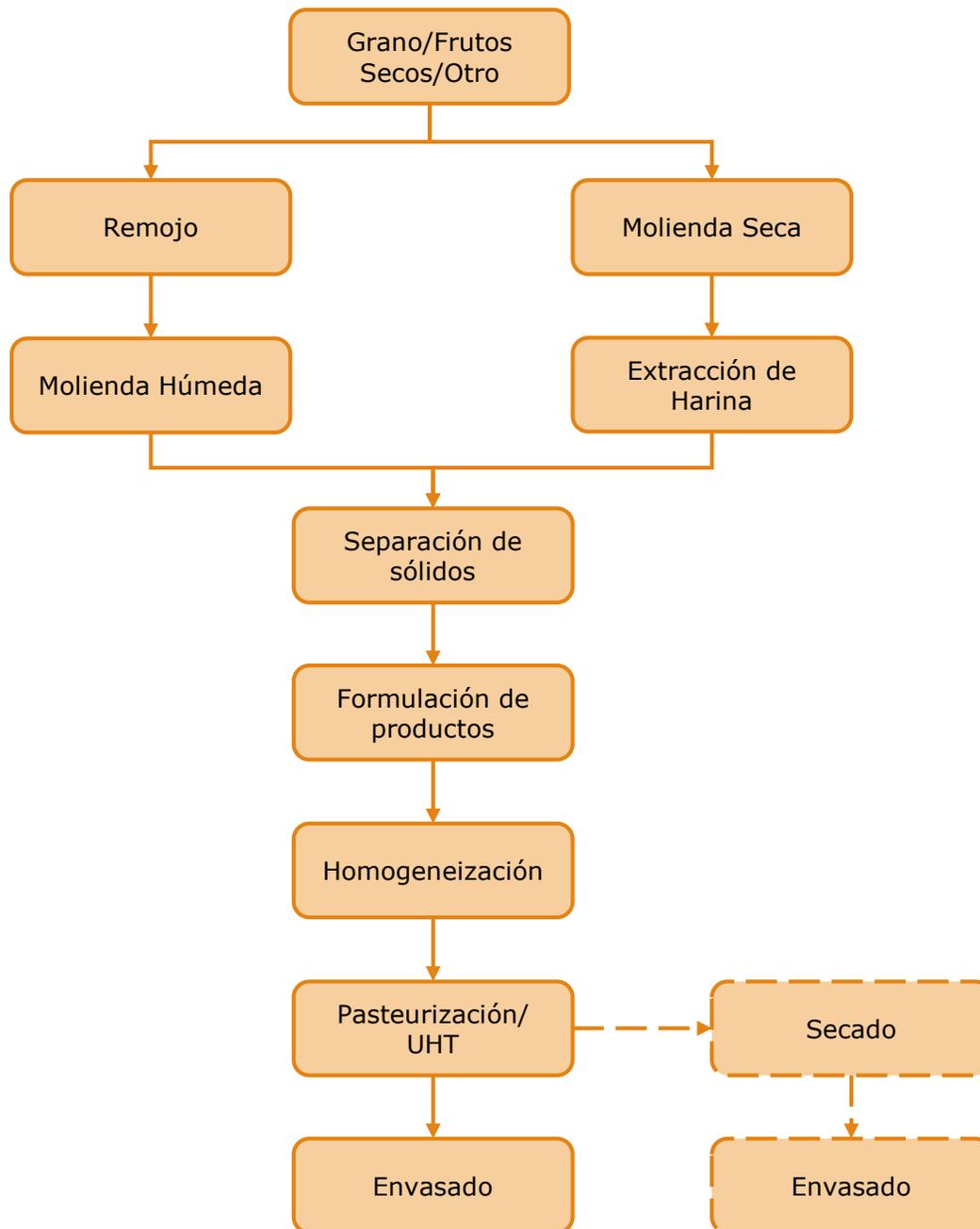
El proceso previamente descrito es similar al de elaboración de leche de vaca (ver Anexo B), cambiando la etapa de molienda que se aprecia en la Figura 2.1 por la recepción y almacenamiento bajo condiciones inocuas de la leche extraída del animal<sup>[33]</sup>.

En cuanto a la etapa de separación, ambos tipos de leche requieren de la eliminación de sólidos mayores que pueden intervenir en la calidad del producto final, generando la presencia de sedimento durante su almacenamiento. Junto a esta separación, es necesario utilizar centrífugas de alta velocidad, que permitan separar una fase liviana de una más pesada, generándose una especie de lodo, que contiene proteínas denaturadas u otros desechos menores que deben ser eliminados<sup>[33]</sup>.

Luego, para ambos casos, leches vegetales y de vaca, la etapa de formulación de producto corresponde a aquella en la que se agregan ingredientes para elaborar el producto final. Para el caso de la leche convencional, esta etapa se conoce como estandarización, y consiste en la mezcla en distintas proporciones (según el producto que se quiera obtener) de leche descremada y crema, más la incorporación de nuevos ingredientes, lo que determina el contenido de grasa y propiedades del producto final<sup>[33]</sup>. En el caso de las leches vegetales, en esta etapa se incorporan aditivos que puedan mejorar las propiedades del producto, como vitaminas, minerales y grasa animal para igualar su contenido graso al de la leche de vaca<sup>[23]</sup>.

A continuación en la Figura 2.1, sigue la etapa de homogeneización o pasteurización, pudiéndose realizar estas en este orden, o al revés. La homogeneización, en ambos casos, corresponde a la reducción del tamaño de las partículas de grasa mediante el bombeo de la leche a alta presión por una válvula de radio pequeño. Este proceso evita la formación de una capa de nata

durante el almacenamiento, favoreciendo las características organolépticas del producto final.



**Figura 2.1: Proceso convencional de producción de leches vegetales. Las líneas continuas representan el proceso para elaborar leche líquida. Las líneas discontinuas representan el proceso alternativo para elaborar leche en polvo. Creación propia.**

Por otro lado, la pasteurización, o tratamiento térmico, tiene por propósito principal eliminar agentes patógenos y aumentar la vida útil del producto eliminando aproximadamente el 95% de los organismos contaminantes. El tratamiento térmico puede alterar las propiedades del producto, afectando el

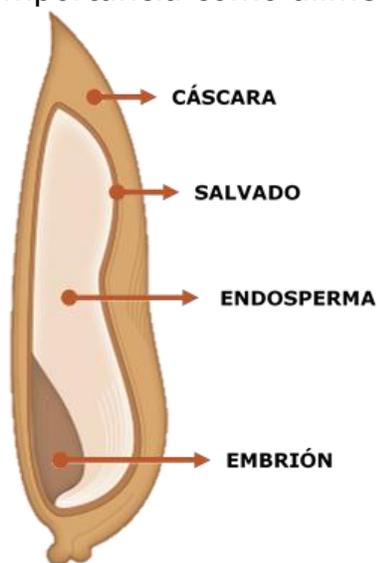
color, el contenido y calidad de las proteínas, entre otros. Debido a esto, la Administración de Alimentos y Medicinas de Estados Unidos (FDA) ha definido temperaturas y tiempos de pasteurización para varios productos. De manera general, se puede decir que si el producto se va a mantener refrigerado, se utiliza una curva en la que se calienta a 125-137,8 [°C] por 2-5 segundos y luego se empaqueta en condiciones estériles; si por el contrario, el producto se mantendrá a temperatura ambiente, se recomienda un tratamiento UHT (*Ultra-High Temperature*), en el cual se calienta el producto a 135-148,9 [°C] por entre 4-15 segundos. En otros casos, se esteriliza el producto, lo cual consiste en elevar la temperatura a 115,6 [°C] por 20 minutos, pero esto conlleva un cambio de color a café y sabor acaramelado<sup>[33]</sup>.

En el caso de querer producir leche en polvo, se utilizan secadores tipo *spray*, en los cuales se ingresa la leche con agentes humectantes y se lleva a un contenido de humedad de un 5% o menor. Finalmente se tiene la etapa de envasado, la cual es llevada a cabo a temperaturas menores que 4,4 [°C] y bajo condiciones inocuas<sup>[33]</sup>.

Cabe destacar que las propiedades nutricionales del producto final de leche vegetal dependerán tanto de la materia prima como del proceso y aditivos utilizados, de acuerdo a la efectividad en la liberación y extracción de proteínas o carbohidratos y estabilización<sup>[23]</sup>.

## 2.3 AVENA Y SUS PROPIEDADES

La avena es una planta herbácea de crecimiento anual que pertenece a la familia de las gramíneas cuyo fruto también se conoce como avena. Históricamente ha sido utilizada como alimento para animales, pero con el tiempo ha ido adquiriendo importancia como alimento para humanos<sup>[34-35]</sup>.



**Figura 2.2: Esquema de un grano de avena. Traducido y adaptado de Quaker Oats<sup>[36]</sup>.**

El grano de avena posee estructura similar a la de otros cereales. A grandes rasgos, cuenta con la carióspside (semilla), la cual está cubierta por la cáscara. La carióspside está compuesta, desde afuera hacia adentro, por el salvado, endosperma y embrión, como se observa en la Figura 2.2<sup>[34-35]</sup>. En proporciones, la cáscara representa entre un 25-35% mientras que la carióspside el 65-75% restante<sup>[34]</sup>.

El grano, durante el proceso de germinación, secreta enzimas hidrolíticas desde las capas internas del salvado y el embrión, degradando el almidón presente principalmente en el endosperma. Por otro lado, en la parte baja del embrión se encuentra la raíz, que es la responsable de la formación del sistema seminal de raíces<sup>[34]</sup>.

### **2.3.1 Composición química**

A diferencia de otros cereales, el grano de avena se caracteriza por poseer bajo contenido de carbohidratos pero alto contenido de proteínas y lípidos<sup>[35]</sup>. En cuanto al contenido de proteínas, éste puede alcanzar entre un 15-20% del grano y se encuentra principalmente en la semilla, y en menor medida en la cáscara<sup>[34]</sup>.

Por otro lado, el nivel de lípidos oscila entre el 3-12%, encontrándose el 90% de éstos en el salvado y endospermo, pero siendo componente principal del escutelo. Los lípidos presentes en la avena son fácilmente extraíbles y están representados en su mayoría por ácidos grasos esenciales y grasas insaturadas. Por lo anterior, si es que se quiere moler la avena, se debe tener en consideración la presencia de lipasas, enzimas que pueden alterar la estructura de los lípidos y modificar las propiedades tanto organolépticas como nutritivas del producto final<sup>[34-35]</sup>. A este fenómeno se le conoce como enranciamiento de lípidos<sup>[37]</sup>.

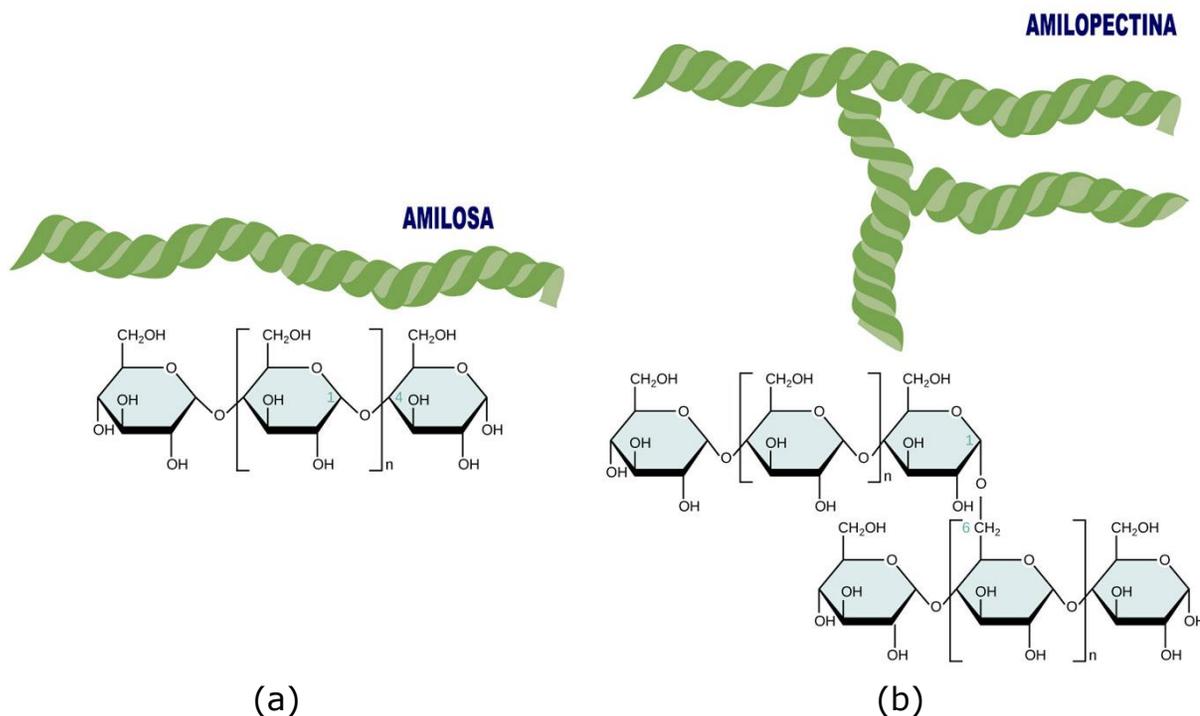
Un 65% del grano corresponden a carbohidratos, siendo el de mayor presencia el almidón, alcanzando el 90%. Asimismo, el almidón de avena se caracteriza por formar gránulos irregulares que se encuentran encapsulados principalmente en el endosperma. Las cápsulas pueden medir entre 20-150 [ $\mu\text{m}$ ], mientras los gránulos pueden alcanzar entre 2-15 [ $\mu\text{m}$ ]<sup>[38]</sup>.

Sobre el proceso de extracción de almidón se debe tener en consideración que, dada su localización en el grano y la estructura de la avena, éste suele encontrarse asociado tanto a lípidos como proteínas, alcanzando rendimientos de entre 43-61% en molienda húmeda<sup>[34-35]</sup>.

El almidón corresponde a un polímero compuesto por moléculas de glucosa unidas mediante enlaces  $\alpha$ -1,4 y  $\alpha$ -1,6, cuya densidad es de alrededor de 1,5 [ $\text{g}/\text{cm}^3$ ]. En su estructura se reconocen dos polímeros principales: amilosa y amilopectina. Por un lado, la amilosa (Figura 2.3 (a)) corresponde a un polímero lineal compuesto por enlaces  $\alpha$ -1,4; por otro lado, la amilopectina

(Figura 2.3 (b)) es un polímero altamente ramificado que cuenta con moléculas unidas por enlaces  $\alpha$ -1,4, unidas a su vez a otras cadenas por enlaces  $\alpha$ -1,6<sup>[38]</sup>.

Ambas estructuras poliméricas poseen distintas propiedades, de modo que, mientras la amilosa tiene una alta tendencia a generar geles resistentes y películas firmes, aumentando la viscosidad, la amilopectina tiende a ser más estable en dispersiones acuosas y producir geles flexibles y películas débiles, disminuyendo la viscosidad<sup>[38]</sup>. En el almidón de avena, la amilosa representa entre el 16-27%, siendo el resto amilopectinas<sup>[34]</sup>.



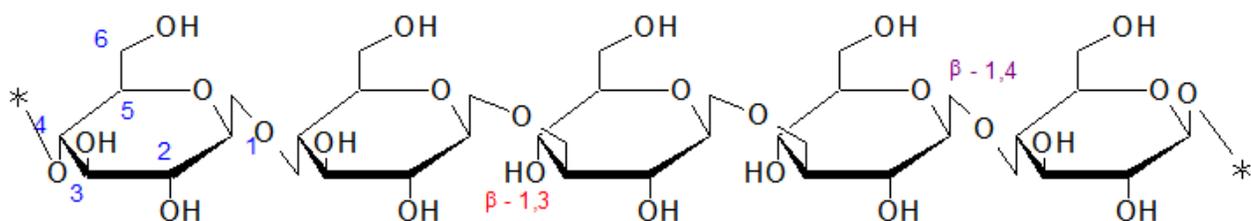
**Figura 2.3: Componentes del almidón. (a) Estructura molecular de la amilosa. (b) Estructura molecular de la amilopectina<sup>[39]</sup>.**

Además de almidón, el grano de avena también posee alto contenido de fibra dietética<sup>3</sup>, entre la cual se encuentran los  $\beta$ -glucanos. Éstos son polisacáridos lineales compuestos por monómeros de  $\beta$ -D-glucopiranosilos unidos por enlaces  $\beta$ -1,3 y  $\beta$ -1,4 en distintas proporciones, como se observa en la Figura 2.4. Los  $\beta$ -glucanos se encuentran tanto en la capa sub-aleurona como en el grano mismo, son solubles en agua y forman una solución altamente viscosa<sup>[34-35,40]</sup>. Su contenido oscila entre los 3,2-6,3% según la variedad de avena<sup>34</sup>.

Al realizar extracciones acuosas de avena, se observa presencia de almidón asociado a  $\beta$ -glucanos, por lo que si se quiere aislar alguno de ellos, se deben utilizar diferentes estrategias<sup>[34-35]</sup>. En particular, para la extracción

<sup>3</sup> La fibra dietética presente en alimentos se considera compuesta por celulosa, hemicelulosa, pécticas, hidrocoloides, almidones y oligosacáridos resistentes<sup>41</sup>.

y cuantificación de  $\beta$ -glucanos se debe trabajar con métodos enzimáticos que ataquen directamente a este compuesto y no otros<sup>[35]</sup>. Por otro lado, se ha observado que la viscosidad de los productos es mayor cuando se utilizan granos de avena pretratados térmicamente, lo que se explica en el hecho de que este tratamiento podría inactivar las enzimas con actividad  $\beta$ -glucanasa, por lo que permite conservar los  $\beta$ -glucanos intactos<sup>[34]</sup>.



**Figura 2.4: Estructura de  $\beta$ -glucano. Creación propia. En azul se encuentran marcados los números de los carbonos en la molécula glucopiranosilo, en rojo uno de los enlaces  $\beta$ -1,3 y en violeta uno de los enlaces  $\beta$ -1,4.**

Finalmente, los minerales del grano se encuentran principalmente en el salvado, mientras que las vitaminas se encuentran en su mayoría en el embrión, destacando la presencia de tiamina (Vitamina B1) y ácido pantoténico (Vitamina B5)<sup>[34-35]</sup>.

Más detalles de la composición del grano de avena y su comparación con otros se observa en la Tabla 2.1.

**Tabla 2.1: Composición química aproximada de distintos granos<sup>[42]</sup>.**

Componente	Avena	Trigo	Maíz	Arroz	Cebada
Humedad [%]	8,9	14,0	12,0	11,8	11,7
Proteína [%]	12,4	12,7	8,7	6,4	10,6
Lípidos [%]	6,4	2,2	4,3	2,4	1,6
Carbohidratos Totales [%]	60,1	56,9	62,4	74,3	56,1
Fibra total [%]	10,3	12,6	11,0	3,5	17,3
Sustancias minerales [%]	1,9	1,6	1,6	1,6	2,7

### 2.3.2 $\beta$ -glucanos y salud humana

El consumo humano de avena aumentó considerablemente en la década de los 80', en especial en Estados Unidos, ya que, se comenzaron a reconocer sus propiedades benéficas para la salud, como por ejemplo la reducción de enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, no fue hasta 1997 cuando la FDA reconoce formalmente su valor nutritivo<sup>[43-45]</sup>.

Actualmente se ha demostrado que los  $\beta$ -glucanos poseen efectos benéficos en la reducción de colesterol en la sangre<sup>[44-46]</sup> y en la regulación del

metabolismo de glucosa en diabéticos. Si bien este último beneficio no ha sido reconocido por la FDA, variados estudios lo confirman<sup>[47-49]</sup>.

La FDA, al reconocer los beneficios de la fibra soluble en general, y de los  $\beta$ -glucanos en particular, establece que es recomendable el consumo de 3 [g/día] de éstos para asegurar la reducción del riesgo de enfermedades cardíacas<sup>[44]</sup>. Por otro lado, según la normativa chilena, para considerar que un alimento es alto en fibra debe poseer 0,75 [g/porción diaria] de fibra soluble ( $\beta$ -glucanos de avena, cebada y psyllium)<sup>[12]</sup>, condición tras la cual se puede denominar alimento saludable (para más detalles, ver el Anexo A).

### 2.3.3 Tipos de avena comercializadas

En el comercio se pueden encontrar distintos formatos de avena y derivados, entre los que destacan el grano entero, el grano pelado y estabilizado, el salvado, harinas de distintos tipos, entre otros. A continuación se describen los 3 primeros mientras que en la Tabla 2.2 se encuentra el detalle de su composición química aproximada.

- **Avena entera:** Corresponde al grano de avena completo, con cariósido y cáscara, en su estado natural, sin ningún tipo de tratamiento más que la limpieza y separación de contaminantes mayores<sup>[50]</sup>.
- **Avena pelada y estabilizada:** Avena sin cáscara a la que se le realiza un procedimiento hidrotérmico que consiste en someter al grano a temperaturas iguales o superiores a 105[°C]. Este tratamiento se realiza para inactivar principalmente peroxidases y lipasas, y así evitar la descomposición de los granos y el enranciamiento del producto<sup>[51]</sup>.
- **Salvado de avena:** Corresponde a las capas externas del grano propiamente tal, sin considerar la cáscara, compuesto por el pericarpio. Este producto se obtiene luego de un exhaustivo tamizado, que permite separar esta sección del resto del grano<sup>[52]</sup>.

**Tabla 2.2: Composición química de distintos tipos de avena y derivados.**

	Humedad [%]	MG [%]	Proteínas [%]	HC [%]	Fibra [%]	Cenizas [%]	Ref.
<b>Avena entera</b>	8-12	5,9	12 -17	66,3	11,4	1,7-2,4	Matz, 1991 <sup>[35]</sup> Labbe exportaciones Ltda., 2015 <sup>[50]</sup>
<b>Avena pelada y estabilizada</b>	9,0	9,3	13,5	66,0	1,6	1,5	Labbe exportaciones Ltda., 2015 <sup>[51]</sup>
<b>Salvado de avena</b>	7,5-11,5	6,0-7,0	12,0-17,5	66,0	2,5	2,0	Austral granos, 2015 <sup>[52]</sup> SELF Nutrition Data, 2015 <sup>[53]</sup>

**MG** : materia grasa. **HC**: hidratos de carbono.

## 2.4 HIDRÓLISIS DEL ALMIDÓN

La hidrólisis del almidón consiste en un proceso mediante el cual el almidón se degrada en dextrinas y/o glucosa, perdiendo su formación molecular de amilosas y amilopectinas<sup>[54]</sup>.

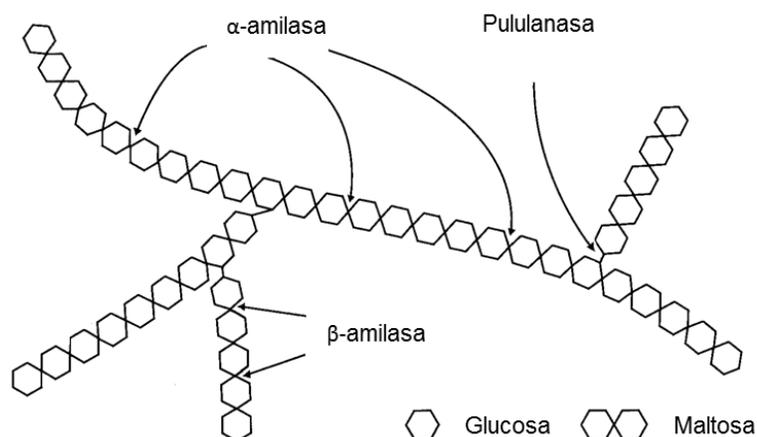
Para que esta degradación se lleve a cabo es necesaria la presencia de agua<sup>[38,54]</sup>. Para aumentar el rendimiento de la reacción se pueden controlar las condiciones de pH y temperatura<sup>[38]</sup>, junto con incorporar enzimas como las que se presentan en la Tabla 2.3<sup>[38,54-55]</sup>, y cuyos efectos de algunas de ellas se puede apreciar en la Figura 2.5<sup>[56]</sup>. Por esto, tanto el grado de hidrólisis y como las características del producto final, dependerán del tipo y proporción de enzimas utilizadas<sup>38</sup>.

**Tabla 2.3: Enzimas utilizadas en la hidrólisis enzimática del almidón.**

Enzima	Descripción	Referencias
<b><math>\alpha</math>-amilasa</b>	Endoenzima que hidroliza los enlaces $\alpha$ -1,4 en diferentes puntos internos del polímero, generando como producto dextrinas y, en menor proporción, oligosacáridos como maltotriosas, maltosas y glucosa.	García Garibay et al., 2004 <sup>[55]</sup>
<b><math>\beta</math>-amilasa</b>	Exoenzima que hidroliza los enlaces $\alpha$ -1,4 que se encuentran en los extremos no reductores del polímero, liberando en cada corte una molécula de maltosa (dímero de glucosas). De acuerdo a este mecanismo, los productos de esta enzima son maltosa y dextrinas.	
<b>Pululanasa</b>	Enzima desramificante, es decir, actúa sobre los enlaces $\alpha$ -1,6 del polímero.	
<b>Glucoamilasa</b>	Exoenzima que hidroliza tanto enlaces $\alpha$ -1,4 como $\alpha$ -1,6, teniendo mayor afinidad por el primero. De este modo, libera moléculas de glucosa a partir de los extremos no reductores del polímero.	
<b>Glucosa isomerasa</b>	Enzima capaz de producir fructosa a partir de jarabes de glucosa.	

El proceso de hidrólisis enzimática del almidón está compuesto por 3 etapas, la licuefacción, la sacarificación y la isomerización. No obstante, para facilitar estas etapas, es necesario realizar un acondicionamiento del grano, conocido como gelatinización<sup>[54]</sup>.

La gelatinización consiste en un procedimiento térmico realizado en presencia de agua, durante el cual se produce la hidratación del grano, ingresando agua al interior de los gránulos de almidón, los cuales reaccionan aumentando su tamaño y exponiendo su estructura hacia el exterior, favoreciendo la digestibilidad enzimática. La temperatura de gelatinización difiere entre cada tipo de grano<sup>[38,54]</sup>.



**Figura 2.5: Hidrólisis enzimática de almidón por algunas enzimas<sup>[56]</sup>.**

La licuefacción consiste en una hidrólisis parcial del almidón a dextrinas. Durante esta etapa actúan primordialmente enzimas del tipo amilasas, como  $\alpha$ -amilasa y  $\beta$ -amilasa, aunque también se puede utilizar pululanasa<sup>[38,42,55]</sup>.

La sacarificación consiste en la conversión de las dextrinas obtenidas previamente en glucosa, para lo cual se usan glucoamilasas<sup>[38,42,55]</sup>.

Por último, la isomerización es un proceso en el cual la glucosa es transformada en fructosa mediante una enzima isomerasa, aumentando el poder edulcorante del producto. Por este motivo, se suele utilizar para la generación de jarabes de alto dulzor<sup>[54]</sup>.

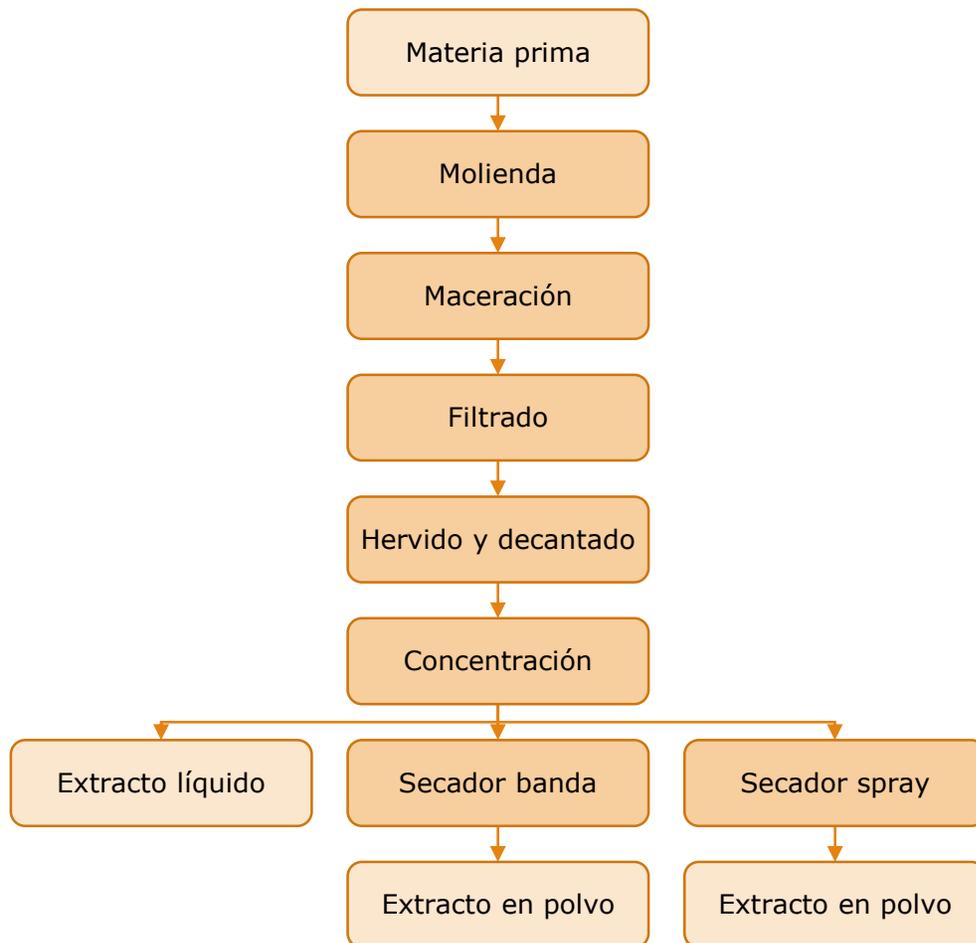
El poder edulcorante (PE) es un factor utilizado como medida de dulzor, tomando como referencia la sacarosa, que tiene un poder edulcorante de 1. En base a esto, el PE de la glucosa es 0,7, mientras que para maltosa se encuentra entre 0,5 y 0,6. Asimismo, se puede utilizar el grado de dextrosa equivalente, el cual, a mayor valor indica mayor PE. El grado de dextrosa equivalente de la glucosa se encuentra entre 42 y 95, mientras que para las maltodextrinas está entre 15 y 30<sup>[42]</sup>.

El proceso de hidrólisis en granos de avena posee ciertas particularidades, tal como el hecho de que al ingresar agua al grano, éste aumenta su tamaño en sus 3 dimensiones. Además, entre los 90-100[°C], tanto amilosa como amilopectina rompen su red y se solubilizan, facilitando la co-lixiviación de éstos. Por último, destaca porque la solución resultante alcanza *peaks* de viscosidad en poco tiempo y a menores temperaturas que otros granos<sup>[38]</sup>.

## **2.5 PROCESO DE ELABORACIÓN DE EXTRACTOS DE MALTEXCO S.A.**

La planta de extractos de la empresa se encuentra ubicada en Temuco y en ella se elaboran distintos productos según especificaciones propias de la empresa o según requerimiento de sus clientes. El proceso consta de 6 etapas,

las que se observan en la Figura 2.6 y se monitorea según la concentración de sólidos solubles en cada etapa, medidos en grados Brix ( $^{\circ}\text{Bx}$ )<sup>[57]</sup>.



**Figura 2.6: Proceso de elaboración de extractos de Maltexco S.A. Adaptado<sup>[57]</sup>**

Las materias primas más utilizadas corresponden a cebada y malta, y de manera alternativa se pueden utilizar variaciones de las anteriores, como malta caramelo o cebada tostada, entre otras, o combinaciones de ellas<sup>[57]</sup>.

Una vez que se define la materia prima a utilizar, esta es almacenada, clasificada y seleccionada en un silo, para luego ingresar a la etapa de molienda. La molienda se realiza con un molino tipo martillo, el cual, mediante golpes sucesivos muele el producto en seco. Este molido es luego tamizado a través de una malla de 2,5 [mm], la que resulta ser la granulometría establecida por la empresa y la idónea para no entorpecer el proceso en etapas posteriores<sup>[57]</sup>.

Luego, durante la etapa de maceración, se realiza la mezcla de la materia prima en distintas proporciones, según si es que el extracto a producir es de un grano único o de más de una materia prima. A esta mezcla se le agrega agua de pozo, de modo de favorecer la hidrólisis del almidón. La maceración

se trabaja con una curva de temperaturas y tiempos, la que busca potenciar el proceso de extracción de azúcares, contando con 3 descansos, en los cuales se busca exponer por más tiempo a las enzimas, tanto propias del grano como las que se agregan ( $\alpha$ -amilasa y  $\beta$ -glucanasa), a la temperatura en la que cuentan con mayor actividad enzimática. Una vez finalizada esta etapa se obtiene lo que se conoce como macerado, el cual ingresa a la siguiente etapa, la filtración<sup>[57]</sup>.

La filtración es llevada a cabo por un filtro de prensa marca Meura, el cual contiene 72 placas. Cada una de estas placas cuenta, por un lado, con una tela, y por el otro, con una membrana, las que en conjunto permiten retener sólidos mayores, como cáscaras del grano, y sólidos insolubles, formando lo que se conoce como torta o bagazo. Este proceso es realizado a 78[°C] y a presiones bajas <sup>[57]</sup>.

De la filtración se obtiene un producto líquido, denominado mosto, de concentración entre 22-23 [°Bx]. Para retirar el máximo de producto que pueda contener la torta, a esta se le realiza un lavado y posterior compresión, obteniendo un producto denominado mosto débil, que posee una concentración de entre 15-18 [°Bx]. Finalmente se continúa lavando la torta hasta alcanzar una concentración de 1-3 [°Bx], tras lo cual se procede a retirar la torta contenida en el filtro para descartarla. Tras este proceso, el mosto obtenido es ingresado al equipo de hervido y decantación<sup>[57]</sup>.

La operación de hervido y decantación pretende esterilizar el producto y provocar la sedimentación de proteínas, por lo que se realiza a 98-99 [°C]. Si bien este sedimento se podría extraer, actualmente se mantiene, para evitar la pérdida de producto. Tras esta etapa se obtiene un producto con una concentración entre 15-20 [°Bx], el cual es almacenado en tanques acondicionados (conocidos como pulmones), previo a su ingreso a la etapa de concentración<sup>[57]</sup>.

La etapa de concentración tiene por objetivo retirar contenido de agua del producto hasta alcanzar la concentración deseada (80 [°Bx] usualmente). Para ello se cuenta con un evaporador de placas automatizado y uno tipo calandria, que trabaja al vacío y con vapor sobresaturado. Se deja evaporar el agua hasta que se cumple cualquiera de las siguientes condiciones<sup>[57]</sup>:

- Se alcanza la densidad requerida (1,38 [g/cm<sup>3</sup>]).
- Se alcanzan 80 [°Bx] (condición más utilizada).

Para las siguientes etapas, se debe tener en cuenta el tipo de producto final que se quiere obtener, pues de ello dependerá el proceso final. Si se quiere un producto de granulometría fina, tipo harina, la concentración del producto debe alcanzar sólo los 45 [°Bx], ya que es la concentración a la que puede actuar el secador *spray*, si en caso contrario, se quiere un producto

líquido o de granulometría más gruesa, como la del azúcar de mesa, es necesario llegar a los 80 [°Bx], pudiéndose utilizar el secador de bandas para el último caso<sup>[57]</sup>.

El secador *spray* entrega resultados óptimos cuando trabaja con productos cuyas concentraciones son de 45 [°Bx]. Este equipo opera con aire a 170 [°C], formándose un ciclón en su interior. El mosto ingresa por una entrada superior central, y de este modo, recorre el equipo y se seca a medida que va bajando y atravesando el ciclón interno. Los sólidos recuperados son tamizados, y aquellos de tamaño mayor son recirculados al secador<sup>[57]</sup>.

El secador de bandas, en cambio, puede operar a concentraciones mayores a 45 [°Bx] y funciona en vacío a temperaturas de 130 [°C]. El producto que se obtiene de este tipo de secado es un sólido compacto que requiere ser posteriormente molido<sup>[57]</sup>.

Ya sea que el producto se vaya a envasar en formato líquido o requiera ser secado, debe ser sometido previamente a un proceso de pasteurización. Este proceso busca eliminar microorganismos presentes y se realiza en un equipo especial que opera de manera continua, exponiendo el producto a 99 [°C] por 3 minutos<sup>[57]</sup>.

Finalmente, el producto es envasado en sus distintos formatos bajo condiciones asépticas, para evitar su contaminación. En el caso de la versión líquida, además se agrega sorbato de potasio como preservante<sup>[57]</sup>.

## **2.6 PLANTA PILOTO DE MALTEXCO S.A.**

Ya hace algunos años, Maltexco S.A. se encuentra desarrollando nuevos productos, para lo cual desde el año 2015 cuenta con una planta piloto para extractos y cerveza ubicada en las dependencias de Temuco.

La planta piloto cuenta con 5 etapas de proceso: maceración, filtración, decantación, evaporación y fermentación.

El reactor de maceración posee capacidad para 50 [l] y es capaz de desarrollar curvas ascendentes de temperatura, gracias a la existencia de control automático, alcanzando temperaturas sobre los 100 [°C].

El filtro corresponde a un filtro vertical capaz de funcionar manteniendo la presión interna hasta 0,6 [bar]. La malla de este equipo posee las mismas características que la malla utilizada a nivel industrial por la empresa en el filtro de marca Meura. Ambos equipos se pueden apreciar en la Figura 2.7.



**Figura 2.7: Macerador (izquierda) y filtro vertical (derecha) de la planta piloto.**

En la Figura 2.8 se observan los equipos de decantación y concentración.



**Figura 2.8: Decantador Whirlpool (izquierda) y concentrador marca POPE (derecha) de la planta piloto.**

El equipo de la decantación se conoce como Whirlpool y consiste en un tanque con base cónica, en el cual ingresa el producto una vez que ha sido hervido, y debido al efecto de la temperatura y la geometría, se separan proteínas y otras sustancias que no son deseadas en el producto final.

El evaporador consiste en un equipo de marca POPE que cuenta con un intercambiador que permite concentrar el producto una vez que ha pasado por el proceso de decantación, alcanzando valores de 80 [°Bx].

Finalmente, dado que la planta además está pensada para la elaboración de cerveza, se cuenta con 4 fermentadores y un equipo gasificador hacia el final de la línea. Cada fermentador posee control de temperatura por separado, lo que permite mantener las condiciones idóneas para la fermentación de distintos microorganismos. Por su lado, el gasificador corresponde a un tanque en donde se almacena el producto con  $\text{CO}_2$  previo a su envasado. Este proceso se realiza a bajas temperaturas a modo de favorecer la solubilidad del gas en el producto. Ambos equipos se observan en la Figura 2.9.



**Figura 2.9: Fermentador (izquierda) y gasificador (derecha) de la planta piloto.**

### 3 METODOLOGÍA

---

#### 3.1 METODOLOGÍA GENERAL

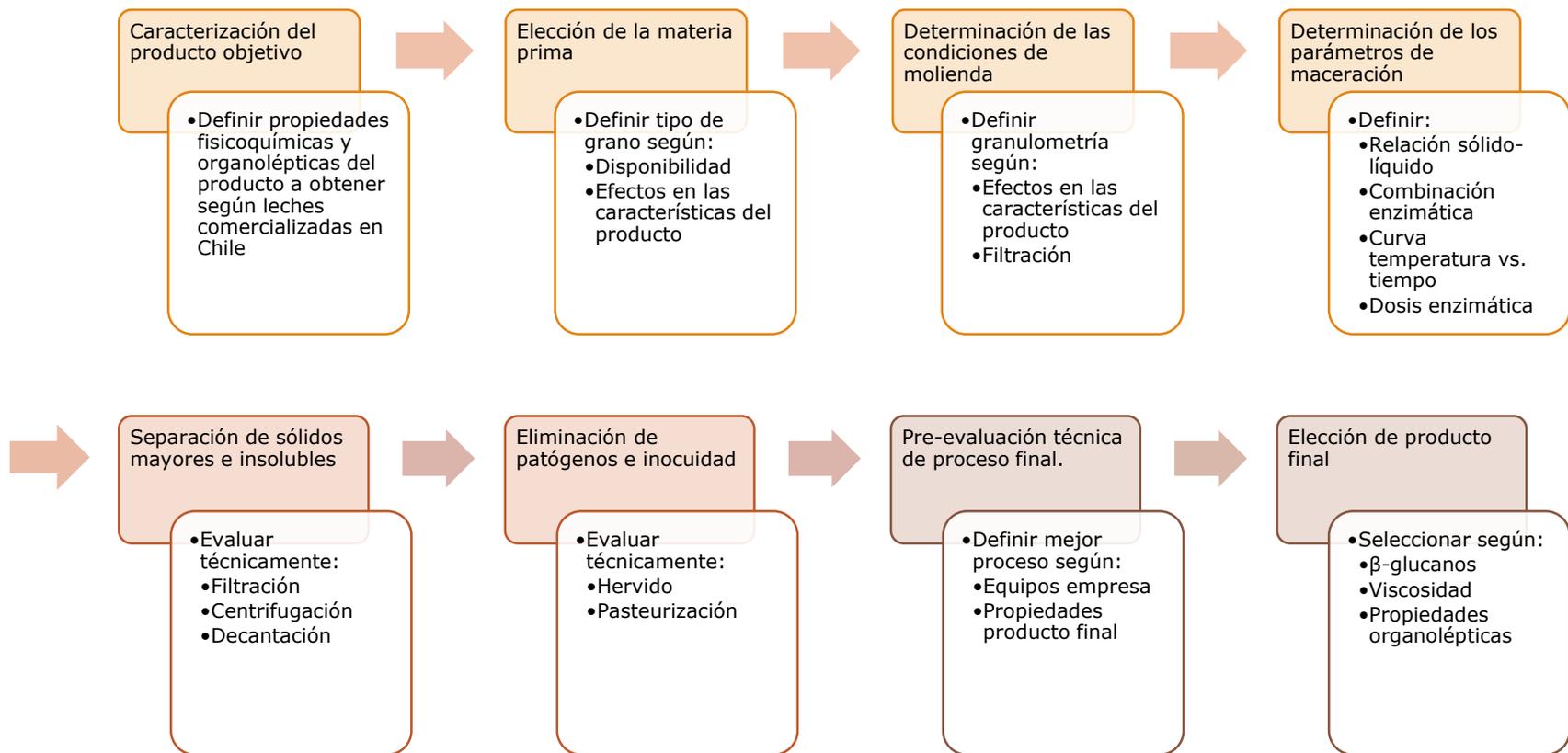
En la Figura 3.1 se observa la metodología general empleada para cumplir con los objetivos del trabajo. Se realiza una búsqueda bibliográfica orientada a adquirir conocimiento sobre leches vegetales, avena y afines. Una vez trabajando en la empresa, se reconocen sus procesos y equipos disponibles, tras lo cual se logra definir el proceso de elaboración de leche de avena.

A la definición del proceso le sigue la determinación de las variables del proceso y las condiciones de operación. Para desarrollar esta etapa se realizaron una serie de experimentos que permitían definir aquellos parámetros que no se podían determinar según lo encontrado en literatura. El detalle de estos se observa en la Figura 3.2.

Una vez que el proceso y sus condiciones se determinan para la escala de laboratorio, se procede con el trabajo en planta piloto, en donde se prueban distintas alternativas de separación de sólidos y procesos de inocuidad y eliminación de patógenos, para finalmente pre-evaluar la posibilidad de elaborar leche de avena en las instalaciones de Maltexco S.A. y definir el proceso final.



**Figura 3.1: Esquema de la metodología general empleada para el desarrollo del trabajo de memoria.**



**Figura 3.2: Esquema detallado de la metodología seguida desde el desarrollo experimental hasta la elección del producto final. El color anaranjado representa la etapa experimental desarrollada a escala de laboratorio, el color rojizo la etapa experimental desarrollada a escala piloto y café las etapas de análisis del trabajo y elección del producto final.**

## 3.2 MATERIALES

### 3.2.1 Insumos y reactivos

En la Tabla 3.1 se puede observar el listado de insumos y reactivos utilizados a lo largo del trabajo y sus respectivos proveedores.

**Tabla 3.1: Listado de insumos y reactivos utilizados durante la fase experimental.**

Proveedor	Insumo o reactivo
Avensur	Grano de avena entero
Avensur	Grano de avena pelado y estabilizado
Veco S.A.	$\alpha$ -amilasa
Veco S.A.	$\beta$ -amilasa
Veco S.A.	Pululanasa
Winkler	Cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )
Portland S.A.	Sorbato de potasio
Megazyme	Kit de $\beta$ -glucanos
Winkler	Hidróxido de sodio (NaOH)
Merck	Fosfato monosódico ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )
Merck	Ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )
Merck	Azida de sodio ( $\text{NaN}_3$ )
Merck	Etanol absoluto

Junto con todo lo anterior, se hizo uso de distintos instrumentos de medición de volumen, como pipetas y micropipetas, así como de contenedores de plástico y de vidrio, como tubos *ependorf* de distintos tamaños, vasos de precipitado, tubos de centrifuga de vidrio de 11,5 [cm] de largo, matraces, vasos de precipitado, entre otros.

### 3.2.2 Equipos

En la Tabla 3.2 se aprecia el listado de los equipos utilizados durante la etapa desarrollada a escala de laboratorio con sus respectivos fabricantes y modelos; mientras que en la Tabla 3.3 se observan los equipos complementarios utilizados durante el trabajo a escala piloto, a parte de los equipos propios de la planta.

**Tabla 3.2: Listado de equipos utilizados durante la fase experimental a escala de laboratorio.**

<b>Equipo</b>	<b>Fabricante y modelo</b>
<b>Tamiz eléctrico</b>	Retsch As 200
<b>Refractómetro 0-32 [°Bx]</b>	Milwaukee MR32ATC
<b>Medidor de pH</b>	Hanna Instruments HI 2550
<b>Picnómetro</b>	Isolab 25 [ml]
<b>Densímetro</b>	Antón Parr DMA 58
<b>Viscosímetro Haake</b>	Haake B/BH 68387
<b>Balanza de precisión</b>	Sartorius 2403
<b>Espectrofotómetro</b>	Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis
<b>Baño termostático</b>	Labtech LWB-111D
<b>Molinillo</b>	Fagor ML2006X
<b>Macerador</b>	LB Electronic LB-4
<b>Bomba</b>	Thomas 1636
<b>Centrífuga</b>	Hettich Zentrifugen Universal 16

**Tabla 3.3: Listado de equipos utilizados durante la fase experimental a escala piloto.**

<b>Equipo</b>	<b>Fabricante y modelo</b>
<b>Molino</b>	Bühler DLFU
<b>Autoclave</b>	JSR JSAC-80

### **3.3 PARÁMETROS Y PROPIEDADES MEDIDAS PARA LA EVALUACIÓN DEL PROCESO DISEÑADO Y SU PRODUCTO**

En esta sección se describen los métodos empleados para evaluar el proceso diseñado mediante las propiedades de la materia prima utilizada y del producto obtenido. Para esto se miden las propiedades fisicoquímicas y organolépticas del producto final, la granulometría de la materia prima y el rendimiento del proceso de maceración.

Para el caso del producto final, las propiedades fisicoquímicas determinadas corresponden a sólidos solubles, pH, densidad, viscosidad y

concentración de  $\beta$ -glucanos. Mientras que las propiedades organolépticas medidas corresponden a color, sabor y textura.

Cabe destacar que tanto viscosidad como concentración de  $\beta$ -glucano se medirán sólo para los productos obtenidos en las pruebas en la planta piloto.

### **3.3.1 Rendimiento del proceso**

Para determinar la efectividad del proceso de extracción de los componentes del grano hacia el producto final, se utiliza el concepto de rendimiento, el cual permite determinar de manera aproximada el porcentaje de sólidos extraídos desde la materia prima hasta el producto final. Para esto se puede utilizar tanto el concepto de rendimiento en base húmeda ( $\%Y_{BH}$ ), como rendimiento en base seca ( $\%Y_{BS}$ ).

El rendimiento en base húmeda toma como referencia el contenido total de materia prima, mientras que el rendimiento en base seca sólo considera el contenido sólido. Es el primero el índice que se utiliza para realizar evaluaciones económicas mientras que el segundo se utiliza para evaluaciones internas de los procesos. Por este motivo, y considerando que este trabajo corresponde a la primera parte de un posible análisis económico, el rendimiento que se reporta corresponderá al rendimiento en base húmeda, a no ser que se declare lo contrario. Detalles de los aspectos considerados para calcular este parámetro se encuentran en el Anexo C, sección C.1.

Según la bibliografía, el rendimiento de extracción de almidón en molienda húmeda se encuentra entre 43-61%<sup>[34]</sup>, por lo que en este trabajo se considerará como objetivo conseguir rendimientos sobre el 52% (promedio de los valores anteriores).

### **3.3.2 Propiedades fisicoquímicas**

#### **3.3.2.1 Granulometría**

La determinación de granulometría se realizó utilizando un tamiz eléctrico en el cual se controla la amplitud y duración de la vibración y cuya descripción de uso se encuentra en el Anexo C, sección C.2.

Cada medición se realizó ajustando la amplitud del equipo en 30 y el tiempo en 5 minutos. Sólo se utilizó la base y el tamiz de malla N°20, que permite separar las partículas mayores a 850 [ $\mu\text{m}$ ] de las menores a ese tamaño. Sobre éstos se agregaron distintas masas conocidas de harina, y una vez finalizado el tiempo se determinaron los porcentajes de harina recuperada en cada sección.

Para efectos de este estudio, se entenderá por granulometría gruesa y fina, aquellos casos en los que el porcentaje de harina contenido en la base

sea menor a 35 y mayor a 65, respectivamente. En caso contrario, se considerará que la granulometría es media.

### **3.3.2.2 Sólidos solubles**

Para determinar los sólidos solubles en la suspensión se utilizó un refractómetro como el que se detalla en el Anexo C, sección C.2, agregando un par de gotas del producto sobre la cámara de medición.

Este instrumento permite determinar los grados Brix ([°Bx]) de la suspensión, es decir, mide los gramos de sacarosa por cada 100 [g] de muestra<sup>[42]</sup>. En esta ocasión, el producto no corresponde a una solución pura de sacarosa, por lo que el valor obtenido de la medición es un valor aproximado de los sólidos solubles presentes en la solución.

### **3.3.2.3 pH**

El pH se determinó utilizando un equipo medidor de pH, el cual realiza internamente el ajuste de temperatura al realizar la lectura.

### **3.3.2.4 Densidad**

Para determinar la densidad del fluido se utilizaron dos instrumentos: picnómetro y densímetro.

Al usar el picnómetro hay dos aspectos relevantes a considerar, por un lado, que todo el recipiente quede cubierto del producto al cual se le está midiendo densidad, es decir, no haya presencia de burbujas; por otro lado, la temperatura a la cual se está registrando la medición.

Dado que no existía forma de controlar la temperatura del producto para medir esta propiedad, se realizaron una serie de mediciones para establecer la relación de la densidad con su temperatura. El rango de prueba fue entre 15,3-25,0 [°C], teniendo en consideración que la temperatura ambiente oscilaba entre 18-24 [°C].

Al analizar los resultados se observó que en el rango estudiado la densidad variaba un 0,2%, lo que permitió considerar despreciable el efecto de la temperatura sobre la densidad. Los detalles de esto se encuentran en el Anexo C, sección C.1.

La segunda forma de medir densidad fue mediante un densímetro, aparato especializado en esta tarea, el cual toma una muestra y la comienza a analizar a 20 [°C]. Una vez finalizado el muestreo, la impresora conectada al equipo entrega los resultados de la medición. Este equipo sólo se utilizó para algunas pruebas, siendo su uso restringido debido a lo viscoso del producto y la consecuente dificultad para limpiar la cámara de medición. Por lo anterior, la mayoría de las mediciones se realizaron con picnómetro.

### **3.3.2.5 Viscosidad**

Para determinar la viscosidad del producto, se siguieron dos estrategias: medir directamente el producto en el viscosímetro o medir diluciones del producto a evaluar. En ambos casos se utilizó un viscosímetro *Haake* como el que se describe en el Anexo C, sección C.2.

Para trabajar con diluciones, se realizó una curva de calibración utilizando la leche marca *Pacific* como referencia y se determinó la viscosidad de este producto para un factor de dilución de 5. Luego, se midió la viscosidad de los productos elaborados, diluidos 5 veces y se determinó la diferencia porcentual con el producto de referencia. De este modo, se estimó la viscosidad sin considerar dilución. Este valor se comparó finalmente con el rango de viscosidad determinado por la caracterización del producto objetivo. Mayores detalles se pueden apreciar en el Anexo C, sección C.1.

### **3.3.2.6 Medición de $\beta$ -glucanos**

La medición de  $\beta$ -glucanos se llevó a cabo tanto para determinar el contenido de éste componente en la harina utilizada, como la concentración del mismo en los productos obtenidos. Para ello se utilizó un *kit* de detección de  $\beta$ -glucanos de avena y cebada de *Megazyme*. Se siguieron dos protocolos diferentes, cuyos detalles se encuentran en el Anexo C, sección C.1.

Para el uso de éste *kit* fue necesario preparar 3 *buffers*: sodio fosfato de 20 [mM] (pH 6,5), acetato de sodio de 50 [mM] (pH 4,0) y acetato de sodio 200 [mM] (pH 4,0). El detalle de la preparación de éstos reactivos se encuentra en el Anexo C, sección C.1.

El método consiste en una degradación enzimática del  $\beta$ -glucano hasta D-glucosa mediante un reconocimiento específico, concluyendo con un ensayo colorimétrico de medición de concentración del producto (D-glucosa) mediante espectrofotometría. Se utilizaron duplicados para cada muestra.

## **3.3.3 Propiedades organolépticas**

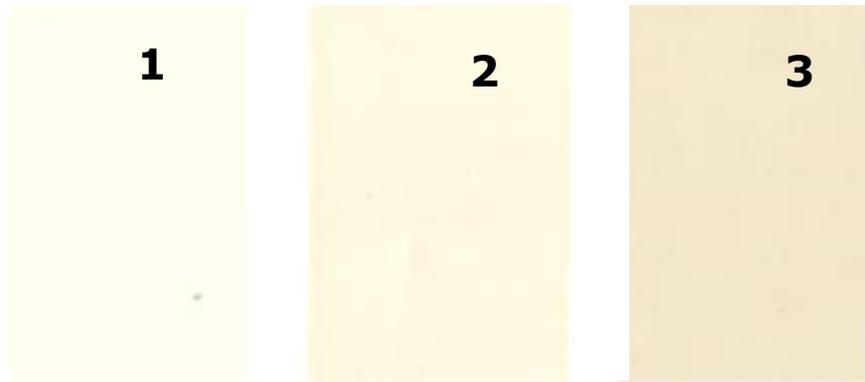
### **3.3.3.1 Color**

Para determinar el color de las muestras preparadas, se buscó un *pantone*<sup>4</sup> que calzara con los rangos de color determinados por el estudio de leches comercializadas en Chile. Este instrumento se observa en la Figura 3.3 con el número asociado, que corresponde al valor registrado tras cada prueba.

El protocolo consistía en contrastar el resultado en un vaso precipitado con la escala de color establecida.

---

<sup>4</sup> Sistema de identificación, comparación y comunicación del color para las artes gráficas.



**Figura 3.3: Pantone utilizado de referencia para determinar color.**

### **3.3.3.2 Sabor**

La medición de este parámetro se realizó de manera perceptiva, tomando como referencia una preparación de leche de avena casera<sup>58</sup> descrita en el Anexo C, sección C.1, cuyo sabor se consideró como neutro. En base a esto se definió una escala de 5 niveles: amargo (A), semi-amargo (SA), neutro (N), medianamente dulce (MD), y dulce (D).

Para realizar la clasificación, cada vez que se preparaba una muestra de leche de avena, se degustaba y se asignaba uno de los niveles antes descritos.

### **3.3.3.3 Textura**

La textura del producto hace referencia a la sensación que deja en la boca una vez que es degustado y/o consumido. Para el caso de productos líquidos, la viscosidad es la propiedad que más afecta en la textura<sup>[59]</sup>.

De acuerdo a lo observado, se establecieron 4 niveles: lisa (L), esto es, líquida y sin presencia de gránulos; granulada (G), que es una preparación líquida y con presencia de pequeños gránulos que dejan una sensación de arenosidad en la boca; cremosa (C), es decir, similar a la textura lisa, pero menos fluida; y pastosa (P), que implica que la preparación se siente como una pulpa que no fluye al interior de la boca.

## **3.4 DISEÑO DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LECHE DE AVENA**

Para determinar el proceso a estudiar durante el desarrollo de este trabajo se realiza una búsqueda bibliográfica, durante la cual se revisan los procesos de producción láctea, patentes de elaboración de leche de avena o similares y la información técnica entregada por los proveedores de enzimas. Con esto se logra adaptar preliminarmente un proceso de elaboración de leche vegetal a los equipos disponibles en Maltexco S.A., así como también, definir condiciones y parámetros de referencia con los que se comienza el trabajo para establecer el diseño final de un proceso de elaboración de leche de avena.

### 3.5 TRABAJO A ESCALA DE LABORATORIO

Una vez definido el proceso de elaboración de leche a implementar, se realizan las primeras pruebas a escala de laboratorio. Este trabajo se encuentra centrado en las primeras 4 etapas que se muestran en el esquema de la Figura 3.2, cuyos objetivos se encuentran resumidos en la Tabla 3.4.

**Tabla 3.4: Resumen de los experimentos a realizar a escala laboratorio.**

Experimento	Objetivo
<b>Caracterización del producto objetivo</b>	Determinar las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del producto final a conseguir en base a 2 tipos de leches de avena comercializadas en Chile.
<b>Elección de materia prima</b>	Determinar el tipo de grano a utilizar en el proceso, teniendo en consideración los disponibles en la empresa, así como los efectos en la apariencia del producto final y en la etapa de filtrado.
<b>Determinación de parámetros para molienda</b>	Determinar la granulometría de la harina de avena a utilizar según la apariencia del producto final y el efecto en el proceso de filtrado.
<b>Determinación de parámetros de maceración</b>	Determinar las variables del proceso de maceración, tales como la relación sólido-líquido de materia prima a utilizar <sup>5</sup> , las enzimas a utilizar, la concentración de enzimas a agregar y la curva de maceración <sup>6</sup> que permita generar el producto objetivo con altos rendimientos.

#### 3.5.1 Caracterización del producto objetivo

Para comenzar con el diseño del proceso para la elaboración de leche de avena, primero es necesario conocer el producto objetivo que se quiere obtener, para lo cual se utilizan como referencia leches de avena comercializadas actualmente en Chile. Los productos del estudio corresponden a una leche de avena marca *Amandin* y otra marca *Pacific*.

Los parámetros a considerar son tanto propiedades fisicoquímicas como organolépticas, cuya metodología de medición se encuentra previamente detallada. De este modo, aquel producto cuyos parámetros se encuentren dentro de los rangos establecidos en esta etapa, o lo más cercanos a ellos, se escogerá como el producto con mejores características para ser mejorado y replicado para su posible elaboración a escala industrial.

#### 3.5.2 Determinación de materia prima y parámetros de molienda

La empresa contaba con dos tipos de grano: grano entero y grano pelado y estabilizado; para escoger uno de ellos y la granulometría a utilizar se realizó

<sup>5</sup> Volumen de agua a agregar según la masa de grano inicial utilizado.

<sup>6</sup> Corresponde al perfil de temperaturas escalonado que se utiliza durante la maceración, el cual permite incubar el producto a distintas temperaturas durante tiempos previamente determinados.

un experimento en el cual se probaron dos granulometrías distintas para los dos tipos de granos a evaluar.

Para realizar la molienda se utilizó el equipo que se observa en la Figura 3.4 que corresponde a un molinillo de café al cual se le puede regular el tipo de molienda (fina, media y gruesa) y las tazas de café que se quieren, lo que permite regular el tiempo.



**Figura 3.4: Molinillo de café utilizado para moler avena<sup>[60]</sup>.**

Primero se molieron 80 [g] de cada tipo de grano, por duplicado, bajo regímenes distintos de molienda, como se observa en la Tabla 3.5, para por último determinar su granulometría.

**Tabla 3.5: Regímenes de molienda utilizados en molinillo de café.**

Tipo de grano	Granulometría esperada	Tipo de molienda	N° de tazas de café	N° de repeticiones
<b>Entero</b>	Gruesa	Fina	8	1
	Fina	Fina	12	8
<b>Pelado y estabilizado</b>	Gruesa	Fina	6	1
	Fina	Fina	12	2

Posteriormente, para cada molienda se preparó una mezcla de 30 [g] de avena con 180 [ml] de agua destilada (relación sólido-líquido de materias prima de 1:6), la cual fue sometida a 55[°C] por 10 minutos, sin adición de enzimas externas. Transcurrido este tiempo, se filtró la preparación utilizando una malla de 1 [mm], sin aplicar presión. Finalmente, se comparó la apariencia de ambos productos y la velocidad aparente de filtrado.

El criterio de selección se basa en escoger aquella materia prima cuyo producto se acerque en apariencia al producto objetivo (color y textura) y permita recuperar mayor volumen en un mismo tiempo.

### 3.5.3 Determinación de los parámetros de maceración

Las maceraciones se realizan en un equipo como el que se observa en la Figura 3.5, el cual posee control de tiempo y temperatura, además de 4 recipientes con sus respectivos agitadores. En cada uso del equipo, se utiliza la misma curva de maceración para los 4 recipientes, además de una agitación de 100 [RPM].



**Figura 3.5: Macerador de laboratorio marca LB Electronic, modelo LB 4, utilizado durante la fase experimental.**

Previo a la maceración se preparan las 4 muestras, a las cuales se le agrega entre 30-50 [g] de materia prima, la cantidad de agua correspondiente a la relación sólido-líquido evaluada y la dosis de enzimas calculadas para la prueba. Para más detalles de las concentraciones utilizadas y el cálculo de las dosis agregadas ver el Anexo C, sección C.3.

Al final de cada maceración se filtra el producto con un quitasato conectado a una bomba de vacío y cubierto por una malla igual a la del filtro modelo Meura utilizado industrialmente por la empresa (2,5 [mm]). Durante el proceso se mantiene una diferencia de presión de 30 [cm de Hg].

#### **3.5.3.1 Relación sólido-líquido de materias primas**

Para determinar la relación de agua a agregar según la cantidad de avena añadida inicialmente (lo que se entenderá como relación sólido-líquido), se prueban 5 porcentajes distintos de contenido de sólidos iniciales: 11,0%, 12,4%, 14,1%, 16,4% y 24,5%, todos en porcentaje peso/volumen (p/v). Estas proporciones corresponden a 9 [l], 8 [l], 7 [l], 6 [l] y 4 [l] de agua por 1 [kg] de avena, respectivamente.

Primero se prueban las relaciones 1:4 y 1:6 a 55 [°C], sin añadir enzimas externas. Luego se evaluaron las relaciones 1:6 y 1:8 agregando 1.000 [DP°/ml] y 300 [PU/ml] de  $\beta$ -amilasa y pululanasa, respectivamente, alcanzando los 90 [°C]. Por otro lado, durante las pruebas de maceración se probaron las relaciones sugeridas faltantes (1:7 y 1:9) para evaluar efectos sobre el rendimiento del proceso diseñado.

Finalmente, se selecciona la relación que permite elaborar un producto con propiedades similares a las del producto objetivo establecido previamente.

### 3.5.3.2 **Combinación de enzimas a utilizar**

Se probaron 3 enzimas distintas según 4 combinaciones. Las enzimas evaluadas corresponden a:  $\alpha$ -amilasa,  $\beta$ -amilasa y pululanasa. Las combinaciones corresponden a  $\alpha$ -amilasa y  $\beta$ -amilasa como combinación 1 (C1),  $\beta$ -amilasa y pululanasa como combinación 2 (C2),  $\alpha$ -amilasa y pululanasa como combinación 3 (C3), y por último, las tres enzimas juntas en una combinación 4 (C4).

Las pruebas se dividieron en dos partes, primero se probaron dos combinaciones (C1 y C2) utilizando un diseño experimental según el método de Taguchi<sup>[61]</sup>, para con sus resultados obtener las condiciones a probar en las restantes dos combinaciones (C3 y C4).

El diseño para C1 y C2 se utiliza considerando la interacción entre las enzimas utilizadas<sup>[61]</sup>. Las variables consideradas, tanto para estas combinaciones como para C3 y C4, además de la combinación de enzimas a utilizar, corresponden a la dosis de enzimas y los tiempos de exposición a las temperaturas de incubación de la curva de maceración. Para detalles del diseño experimental y las concentraciones de enzimas utilizadas revisar el Anexo C, sección C.3.

En la Tabla 3.6 se puede apreciar el detalle de las combinaciones evaluadas junto a las condiciones de operación utilizadas durante la maceración. Por otro lado, en la Tabla 3.7 se encuentran los detalles de los experimentos realizados para evaluar C1 y C2.

**Tabla 3.6: Combinaciones enzimáticas propuestas a probar en la elaboración de leche de avena.**

	C1		C2		C3		C4		
Enzimas	$\alpha$	$\beta$	$\beta$	P	$\alpha$	P	$\alpha$	$\beta$	P
Temperatura [°C]	90	70	70		90	65/70	90	65/70	
Tiempo [min]	20, 30 y 40		40, 60 y 80		Mejores anteriores		Mejores anteriores		

**C1:** combinación 1; **C2:** combinación 2; **C3:** combinación 3; **C4:** combinación 4.  **$\alpha$ :**  $\alpha$ -amilasa;  **$\beta$ :**  $\beta$ -amilasa; **P:** pululanasa. Cuando aparecen dos temperaturas se puede escoger cual usar según la enzima que se quiera potenciar.

**Tabla 3.7: Diseño experimental según método de Taguchi para C1 y C2.**

Combinación 1			Combinación 2			
	<i><math>\alpha</math>-amilasa [FAU/ml]</i>	<i><math>\beta</math>-amilasa [DP°/ml]</i>	<i>Tiempo [min]</i>	<i><math>\beta</math>-amilasa [DP°/ml]</i>	<i>Pululanasa [PU/ml]</i>	<i>Tiempo [min]</i>
<b>1</b>	70	1.400	40	37.500	825	80
<b>2</b>	50	1.600	40	28.125	1.650	80
<b>3</b>	30	1.500	40	18.750	1.238	80
<b>4</b>	70	1.500	30	37.500	1.238	60
<b>5</b>	50	1.400	30	28.125	825	60
<b>6</b>	30	1.600	30	18.750	1.650	60
<b>7</b>	70	1.600	20	37.500	1.650	40
<b>8</b>	50	1.500	20	28.125	1.238	40
<b>9</b>	30	1.400	20	18.750	825	40

Para C1 se trabajó con rangos de actividades enzimáticas entregadas por bibliografía<sup>[62]</sup>, mientras que para C2 se probaron dosis excesivas, para ir luego modulando la cantidad a agregar, hasta alcanzar la de mejores resultados dentro de las estudiadas.

Luego, tomando en consideración los resultados de las primeras dos combinaciones, se establecen las proporciones de concentraciones enzimáticas que entregan mejores rendimientos y/o propiedades organolépticas. Estas proporciones son las probadas para C3 y C4. El detalle de estos experimentos se encontrará a lo largo de los resultados, debido a la dependencia con las pruebas para C1 y C2.

Las temperaturas utilizadas fueron definidas previo a la realización de las pruebas, considerando la temperatura a la que cada enzima presentaba mayor actividad enzimática según lo indicado por el proveedor<sup>[63-65]</sup>. En el caso de las enzimas  $\beta$ -amilasa y pululanasa, cuyas temperaturas de máxima actividad son cercanas (70 [°C] y 65 [°C] respectivamente), se trabaja con sólo una de ellas, según la enzima que se busque potenciar.

Además, para C1 se agregó  $\text{CaCl}_2$ , ya que, la enzima  $\alpha$ -amilasa requiere de  $\text{Ca}^{+2}$  como cofactor<sup>[66]</sup>. La concentración agregada fue según la relación usada por la empresa a nivel industrial, que significa agregar 5 [kg] de cloruro de calcio por 6.200 [kg] de grano. Para el resto de las combinaciones no se agregó este compuesto.

Luego de evaluar las 4 combinaciones, se escoge aquella cuyos resultados se acerquen a lo esperado según el producto objetivo. A las combinaciones experimentales seleccionadas se les realizan nuevas pruebas para definir tanto la concentración de enzimas como la curva de maceración a utilizar.

### **3.5.3.3 Curva de maceración y concentración de enzimas**

Con la combinación de enzimas a utilizar definida, se procede a determinar dos experimentos con concentraciones diferentes, los cuales posteriormente serán sometidos a diferentes condiciones de operación. Para lograr esto se utilizan las proporciones enzimáticas que presentaron mejores resultados según las pruebas realizadas con anterioridad, se establece una concentración inicial de prueba y luego se realizan variaciones. Estos experimentos se someten a la misma curva de maceración, definida de acuerdo a los resultados previos.

Una vez que se determina la concentración de enzimas a utilizar para dos casos diferentes, se procede a variar los tiempos de la curva de maceración para cada uno de ellos, buscando principalmente aumentar el rendimiento del proceso de extracción. La variación de tiempo a evaluar se determina utilizando como referencia tanto la información recopilada en bibliografía como la obtenida por experimentación.

Las fórmulas, relaciones y concentraciones utilizadas para el cálculo de las dosis enzimáticas se pueden encontrar en la sección C.3 del Anexo C.

Además de la variación en los tiempos de maceración, se realizaron variaciones en la relación sólido-líquido utilizada. Se evaluaron las relaciones 1:7 y 1:9 con el fin de conseguir mejores rendimientos.

Por último, se seleccionan dos experimentos cuyas condiciones de operación permiten conseguir propiedades fisicoquímicas y organolépticas dentro del rango esperado, junto con un buen rendimiento. Se realizan duplicados de éstos experimentos. Las condiciones aquí definidas son las que se pasarán a evaluar a escala piloto.

## **3.6 TRABAJO A ESCALA PILOTO**

Ya definido el proceso y las condiciones de operación hasta la etapa de maceración, se procede a probarlo a escala piloto, para lo cual se trabaja en las instalaciones de Maltexco S.A. en Temuco, en particular, en la Planta Piloto y el Laboratorio de Procesos de la sección de Extractos.

En la Tabla 3.8 se observa el detalle de las pruebas realizadas a escala piloto, las cuales se complementaron con actividades de laboratorio, en particular en el caso de la centrifugación y pasteurización, ya que, no se contaba con equipos a escala piloto para ello.

**Tabla 3.8: Resumen de los experimentos a realizar a escala piloto.**

<b>Experimento</b>	<b>Objetivo</b>
<b>Proceso enzimático a probar</b>	Probar los parámetros determinados en experimentos a escala de laboratorio en escala piloto, de modo de observar aspectos a considerar en futuras pruebas.
<b>Eliminación de sólidos mayores e insolubles</b>	Probar distintas metodologías de eliminación de sólidos mayores e insolubles, como filtración, decantación y centrifugación.
<b>Eliminación de patógenos e inocuidad</b>	Probar distintas metodologías para eliminar patógenos y mantener la inocuidad del producto, como un tratamiento térmico a 100 [°C] (hervir) y pasteurización.

### **3.6.1 Proceso de elaboración de leche de avena a evaluar**

Se verifica la posibilidad de replicar el proceso determinado en escala de laboratorio en la planta piloto. En caso de obtener resultados diferentes, se buscan justificaciones para ello y posibles soluciones.

Para probar el proceso, primero se molió el producto configurando el anillo superior del equipo utilizado en 3. Debido a la inexistencia de equipos para determinar granulometría en la planta, el parámetro se evaluó según la apariencia de la harina obtenida.

Luego, se prepara la mezcla en el macerador, agregando 50 [l] de agua. Se calienta el agua dentro del macerador a 30 [°C] y luego, mientras se encuentra en agitación, se agrega la cantidad de avena molida y dosis enzimáticas correspondientes. Finalmente, se determinan las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del producto

### **3.6.2 Separación de sólidos mayores e insolubles**

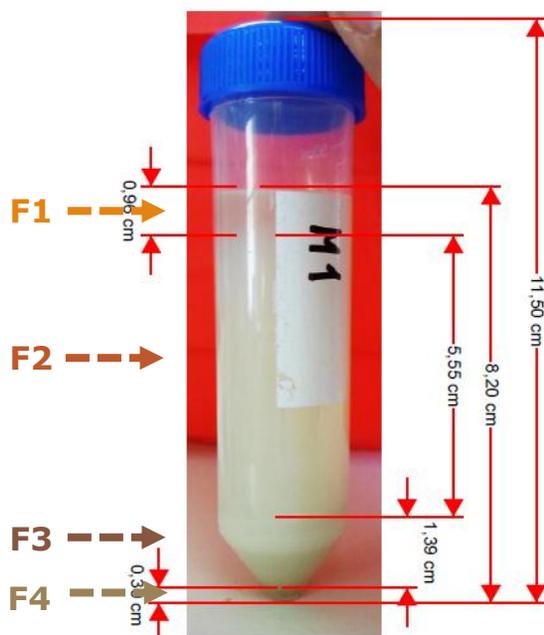
Tanto en la elaboración de extractos como en la elaboración de leches vegetales se incluye una etapa de filtración para eliminar sólidos mayores. Sin embargo, la elaboración de extractos considera la decantación para la eliminación de sólidos insolubles, mientras que en el caso de las leches vegetales se utiliza centrifugación. Por este motivo, además de la filtración, se hace necesario probar tanto el efecto de la decantación como de la centrifugación sobre el producto obtenido.

Para ello, se realiza la filtración bajo dos configuraciones: con y sin presión. Al inicio del proceso se deja filtrar el producto hasta que éste deja de caer. Una vez que sucede esto, se comienza a agregar presión paulatinamente hasta máximo 0,4 [bar]. De este procedimiento se evalúa la apariencia del líquido filtrado en ambas instancias.

Posteriormente, tras calentar el producto a 100 [°C], se realiza la decantación y se observa superficialmente la evolución del proceso. El aspecto

evaluado en este caso es la apariencia y existencia de sólidos insolubles en el producto.

Por otro lado, la prueba de centrifugación consistió en evaluar 3 velocidades (500, 1000 y 1500 [RPM]) y 3 tiempos distintos (5, 10 y 15 minutos), con sus respectivas combinaciones, tomando como referencia valores de la literatura. A cada muestra se le mide el tamaño de las distintas fases observadas tras la centrifugación, como se observa en la Figura 3.6.



**Figura 3.6: Ejemplo del proceso utilizado para definir el tamaño de las fases observables tras la centrifugación. En naranja la fase 1, en rojo la fase 2, en café oscuro la fase 3 y en café claro la fase 4.**

La medición de cada fase se hizo utilizando una imagen del producto de centrifugación y el programa Adobe Reader, usando como referencia que el tubo mide 11,5 [cm] de largo y que el contenido de líquido alcanzaba alrededor de los 8,3 [cm].

Las fases se categorizan, de arriba hacia abajo como: fase clarificada (F1), fase de sólidos solubles (F2), fase de sólidos insolubles (F3) y fase de sólidos mayores (F4). Los parámetros definitivos serán aquellos que entreguen un producto con las 4 fases presentes, F4 menor entre todas las pruebas, F3 mayor que F1 y que sea, al menos, medianamente difícil de resuspender.

### **3.6.3 Eliminación de patógenos e inocuidad**

Para eliminar organismos patógenos potencialmente presentes en la mezcla, se evaluó el efecto de tratar térmicamente el producto, calentándolo a 100 [°C] por 1 minuto. Para pasteurizar la muestra se programó el equipo de autoclave a 72 [°C] por 15 minutos.

Ambas etapas se evalúan mediante la observación de la apariencia superficial del producto final tras ser sometido a ambos procesos.

### **3.7 EVALUACIÓN DEL PRODUCTO FINAL**

Se mide viscosidad y concentración de  $\beta$ -glucanos a los productos obtenidos tras las pruebas en la planta piloto según lo descrito en la sección 3.3 de la metodología. Estos resultados, junto al resto de las propiedades evaluadas ya mencionadas, permiten determinar cuál es el mejor producto desarrollado y por ende, si el diseño del proceso cumple con los objetivos.

Para realizar la selección se busca que las propiedades fisicoquímicas y organolépticas del producto se encuentren dentro de los rangos determinados en la etapa de producto objetivo. Además, para el caso particular de la viscosidad y  $\beta$ -glucanos, se escoge aquel producto cuya relación  $\beta$ -glucanos/viscosidad sea mayor, de modo que, para una misma viscosidad, haya más  $\beta$ -glucanos.

## 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

### 4.1 DISEÑO DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE AVENA

Los resultados de esta etapa representan la base para diseñar un proceso de elaboración de leche de avena mediante métodos enzimáticos, considerando la adaptación del proceso a los equipos disponibles en Maltexco S.A. y los puntos de partida para definir parámetros y condiciones de operación.

#### 4.1.1 Diseño de proceso de elaboración de leche de avena adaptado a los equipos disponibles en Maltexco S.A.

Realizando una comparación entre el proceso de elaboración de leches vegetales y el de elaboración de extractos de la empresa definidos en el marco teórico (Figura 2.1y Figura 2.6 respectivamente), se consigue un proceso de elaboración de leche de avena adaptado a los equipos disponibles. Este proceso se puede observar en la Figura 4.1 y corresponde al proceso evaluado en este trabajo.



**Figura 4.1: Proceso de elaboración de leche de avena a implementar según la adaptación realizada.**

De acuerdo a los equipos disponibles en la empresa actualmente, la molienda de la materia prima se debe realizar en seco, obteniéndose la harina que luego ingresa a la etapa de maceración.

Durante la etapa de maceración se busca extraer los componentes del grano de avena mediante la implementación de una curva de maceración, la cual corresponde a un perfil de temperaturas en el tiempo al cual se somete la mezcla de avena con agua. Una curva de maceración es una curva continua que se caracteriza y describe mediante escalones de temperatura que duran un tiempo determinado, ambos definidos previamente según las características del grano y enzimas utilizadas. Para implementar estas condiciones se utiliza un equipo con control de temperatura y tiempo, sin embargo, la duración y aumentos de temperaturas entre escalones dependen sólo de las características del equipo utilizado y no son manejables por el usuario. La importancia del sistema automatizado del equipo radica en el efecto de las distintas temperaturas sobre la hidrólisis del almidón, pudiéndose incubar la mezcla, con las enzimas añadidas, a las temperaturas en que éstas alcanzan mayor actividad, mejorando los rendimientos de extracción.

Una vez concluida la curva de maceración, sigue la etapa de separación de sólidos, compuesta por una etapa de filtrado y posterior decantación. No se consideró la centrifugación en este diseño, debido a que a nivel industrial la empresa no cuenta con equipo para realizarla. No obstante, se realizaron pruebas a escala laboratorio pensando en el dimensionamiento de una posible centrífuga industrial, resultados presentados más adelante, en la sección 4.3.1.3.

Además, se observa en la Figura 4.1, que junto con la decantación, se calienta el producto a 100 [°C] (hervido), lo que tiene por objetivo tres aspectos: favorecer el proceso de decantado, inactivar las enzimas y eliminar posibles patógenos presentes en el producto. Este proceso se mantiene en el diseño, para así favorecer la decantación de sólidos indeseados, sin embargo, se realiza por tiempos reducidos (1 [min]), de modo de disminuir la probabilidad de denaturar las proteínas propias del producto, efecto colateral del proceso. De igual modo se evaluó el efecto de la pasteurización, simulando este proceso a nivel de laboratorio con un equipo de autoclavado que se puede programar para ello.

En comparación con el proceso de elaboración de leches vegetales (Figura 2.1), las etapas de formulación de producto y homogeneización son descartadas, ya que, por un lado, no se utilizarán ingredientes extras, y por otro lado, la presencia de grasas en el grano no representa un factor a controlar; aunque esto último se encuentra sujeto a la estabilidad y color del producto final.

La etapa de concentración no está considerada en la elaboración de leches vegetales y por las características del producto, se descarta realizarla, ya que, alteraría las propiedades organolépticas como sabor y textura, al aumentar la concentración de sólidos. También se descarta probar condiciones de secado, debido a que primero es necesario contar con un buen proceso de elaboración

de leche líquida para luego pensar en la elaboración de leche en polvo con sus respectivas limitaciones.

Por último, se encuentra el proceso de envasado, el cual se debe realizar en condiciones asépticas para evitar la contaminación del producto.

#### 4.1.2 Parámetros y condiciones de operación

Se seleccionaron 4 patentes internacionales relacionadas con la elaboración de leche de avena [62,66-68], desde las cuales se desprendieron ciertas referencias para fijar parámetros o rangos de ellos, así como también condiciones de operación, las cuales fueron complementadas por la ficha técnica de las enzimas comerciales utilizadas para este trabajo. Para más detalles ver Anexo D, sección D.1.

El resumen de la información técnica de las enzimas se encuentra en la Tabla 4.1, mientras que el resumen de la búsqueda en patentes está en la Tabla 4.2.

**Tabla 4.1: Información técnica de las enzimas seleccionadas.**

Enzima	pH óptimo	Temp. óptima [°C]	Actividad enzimática	Densidad [g/cm <sup>3</sup> ]	Dosis sugerida	Ref.
<b>α</b>	5,0-9,0	90-95	10.000 [UA/ml]	0,60*	80-240 [ml/ton]	Veco, 2015 <sup>[63]</sup>
<b>β</b>	5,0-5,5	70	10.000 [UA/g]	0,68*	0,05-2,00 %p/p base seca	Veco, 2015 <sup>[64]</sup>
<b>P</b>	4,0-5,5	60-65	2.000 [UA/g]	1,10-1,25	No se informa	Veco, 2015 <sup>[65]</sup>

**α:** α-amilasa; **β:** β-amilasa; **P:** pululanasa; **UA:** unidades de actividad. Para el caso de las enzimas, los valores que se encuentran con asterisco (\*) son valores calculados masando 1 [ml] de muestra.

Utilizando esta información como referencia, se establece que la maceración comenzará con una etapa de gelatinización a 55 [°C] por 10 minutos. Además, se agregarán 2 [ml] por kilogramo de avena, de cada enzima que se agregue, teniendo como referencia los rangos de actividad enzimática de 30-70 [FAU/ml], 1400-1600 [DP°/ml] y 150-300 [PU/ml] para α-amilasa, β-amilasa y pululanasa, respectivamente. Usando tanto estos valores como los que se encuentran en la Tabla 4.1 y la relación sólido-líquido se determinó la masa o volumen a agregar en cada preparación. Esta cantidad se conocerá como dosis enzimática y su cálculo se encuentra detallado en la sección C.3 del Anexo C.

La información recopilada para las otras etapas se utiliza de referencia para realizar experimentos a escala de laboratorio que evalúen su efecto sobre el producto final.

**Tabla 4.2: Resumen de la información extraída de distintos trabajos bibliográficos revisados.**

Etapa	Consideraciones	Referencias
<b>Materia prima</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se recomienda el uso de avena pre-tratada hídrica o térmicamente.</li> </ul>	Lindahl et al.,1997. <sup>[67]</sup>
<b>Molienda</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Molienda con granulometría entre 0,8-1,0 [mm].</li> </ul>	Lindahl et al.,1997. <sup>[67]</sup>
<b>Maceración</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Contenido de sólidos entre 10-15% (1 [kg] de avena por entre 6-10 [l] de agua, aproximadamente).</li> <li>• Utilizar agua desionizada y realizar la mezcla de agua y grano a 50-55 [°C], temperatura de gelatinización.</li> <li>• Usar 2 [ml] de enzimas por kilogramo de avena.</li> <li>• Dejar actuar la combinación enzimática por 1-2 horas.</li> <li>• Usar la combinación de <math>\beta</math>-amilasa y pululanasa para conseguir un producto rico en maltosa y cierto porcentaje de maltodextrinas. De la primera enzima agregar entre 500-1.000 [DP°] y de la segunda entre 150-300 [PU/ml].</li> <li>• Alternativamente, si se quiere disminuir el contenido de dextrinas en la suspensión, se pueden agregar 800 [PU/ml] de la enzima pululanasa a la preparación.</li> <li>• Usar la combinación de <math>\beta</math>-amilasa y <math>\alpha</math>-amilasa para conseguir un producto rico en maltosa y maltodextrinas. Agregar entre 1400-1600 [DP°] de la primera enzima y entre 30-70 [FAU/ml] de la segunda.</li> </ul>	Cereal Base Ceba Ab, 2007 <sup>[62]</sup>  Lindahl et al.,1997 <sup>[67]</sup> .  USA, 1991 <sup>[66]</sup>  A.G.V., 2012 <sup>[68]</sup> .
<b>Eliminación de sólidos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Centrifugar o decantar a 350-450 [g] por 10-15 [min].</li> </ul>	Cereal Base Ceba Ab, 2007 <sup>[62]</sup>
<b>Eliminación de patógenos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Someter a 137-138 [°C] por 3-4 [s].</li> </ul>	Lindahl et al.,1997 <sup>[67]</sup> . A.G.V., 2012 <sup>[68]</sup> .
<b>Producto final</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sólidos finales de entre 10-15%.</li> <li>• Viscosidad final cercana a la del agua (1,06 [cP]<sup>[69]</sup>) o alrededor de 10 [cP].</li> </ul>	Lindahl et al.,1997 <sup>[67]</sup> . A.G.V., 2012 <sup>[68]</sup> .

DP°, PU y FAU corresponden a las unidades de actividad enzimática utilizadas por los documentos. Ver sección C.3 del Anexo C para la definición de cada unidad.

## 4.2 TRABAJO A ESCALA LABORATORIO

### 4.2.1 Caracterización del producto objetivo

Los parámetros utilizados como referencia para determinar si es que los productos conseguidos en la fase experimental eran comparables con productos comercializados actualmente en el país, se encuentran resumidos en la Tabla 4.3. El detalle de los datos registrados y cálculos asociados se encuentran en el Anexo D, sección D.2.

**Tabla 4.3: Rangos de las propiedades organolépticas y fisicoquímicas de referencia definidas tras el análisis de leches comercializadas en Chile.**

<b>Propiedades organolépticas</b>			
<b>Producto</b>	<b>Amandín</b>	<b>Pacífic</b>	<b>Rangos Finales</b>
<b>Sabor</b>	Neutro (N)	Medianamente dulce (MD)	Neutro (N) – Medianamente dulce (MD)
<b>Textura</b>	Lisa (L)	Granulada (G)	Lisa (L) – Granulada (G)
<b>Color</b>	Claro (1)	Oscuro (3)	Claro (1) – Intermedio (2)
<b>Propiedades fisicoquímicas</b>			
<b>Producto</b>	<b>Amandín</b>	<b>Pacífic</b>	<b>Rangos Finales</b>
<b>Sólidos solubles [°Bx]</b>	10	12	8 – 12
<b>pH (20[°C])</b>	6,81	6,09	6,09 – 6,81
<b>Densidad (20[°C]) [g/cm<sup>3</sup>]</b>	1,027	1,046	1,02 – 1,05
<b>Viscosidad (20[°C]) [cP]</b>	1,55	5,05	1,55 – 5,05
<b>β-glucanos [g/200cm<sup>3</sup>]</b>	0,51* 0,64**	0,95* 1,43***	0,51 – 1,43

\*Valor en base a una concentración de sólidos solubles de 8 [°Bx].

\*\*Valor en base a una concentración de sólidos solubles de 10 [°Bx].

\*\*\*Valor en base a una concentración de sólidos solubles de 12 [°Bx].

El sabor se mantiene entre neutro y medianamente dulce, ya que, se busca un producto con mayor presencia de maltodextrinas que maltosa y glucosa. Por ello, según el poder edulcorante y grado de dextrosa equivalente<sup>[42]</sup> que poseen estos carbohidratos, el dulzor debe mantenerse regulado hacia lo neutro más que lo dulce.

Debido a que se busca que el producto sea similar en textura y color a la leche de vaca, y las leches de avena evaluadas cumplen con lo primero, se fija la textura entre lisa y granulada, descartándose productos que presenten cremosidad (viscosidad alta).

Por otro lado, para el caso del color, los productos medidos se clasifican entre el color claro (1) y oscuro (3), si es que se compara la Figura 4.2 con la referencia para determinar color (Figura 3.3). De este modo, el color de la leche marca *Pacífic* es muy oscuro en comparación con una leche de vaca, que se asemeja más al número (1). Por ello, finalmente, se establece que el rango de referencia se debe encontrar entre los colores (1) y (2), es decir, más hacia los colores crema.

En cuanto a las propiedades fisicoquímicas, en el caso de los sólidos solubles, el mínimo se baja de 10 [°Bx] a 8 [°Bx], ya que, se considera que las leches comerciales cuentan con otros ingredientes, como sales minerales, que pueden estar aumentando este valor.



**Figura 4.2: Leches analizadas. Leche marca Amandín (izquierda). Leche marca Pacific (derecha).**

Para el caso de la cantidad de  $\beta$ -glucanos, el valor de referencia es entregado en porcentaje peso/peso (%p/p) en base seca. Dado que en este trabajo se busca establecer una comparación con lo que estima la norma chilena (0,75 [g/porción])<sup>[12]</sup>. Sabiendo que una porción de leche es de 200[cm<sup>3</sup>]<sup>[70]</sup> se debe realizar la conversión correspondiente. Para ello se requiere conocer la concentración de sólidos solubles y la densidad del producto. Los cálculos se detallan en el Anexo D, sección D.2.

Dado que finalmente se decidió considerar el rango de sólidos solubles entre 8 y 12 [°Bx], para establecer el mínimo y el máximo de concentración de  $\beta$ -glucanos, se selecciona el mínimo y el máximo entre ambos productos, y se recalcula para un contenido de 8 [°Bx] y 12 [°Bx], respectivamente. Esto correspondió a 0,51 [g/porción] para una leche similar a la de marca *Amandín*, pero con 8 [°Bx] y a 1,43 [g/porción] de la leche marca *Pacific*.

Se puede observar en la Tabla 4.3, que mientras el producto marca *Amandín* sólo alcanza el 85,3% de lo que establece la norma, con 0,64 [g/porción], el producto marca *Pacific* alcanza 90,6% más de lo que establece la norma (1,43 [g/porción]). Con esta información se confirma la posibilidad de cumplir con la norma. De hecho, si es que se considera que la avena cuenta con un 5% de  $\beta$ -glucanos, debiera bastar un rendimiento de extracción del 60% para alcanzar los 0,75 [g/porción] establecidos, suponiendo una preparación con relación sólido-líquido de 1:8.

Además, en la Tabla 4.3 se puede ver como la leche que posee mayor concentración de  $\beta$ -glucanos también es más viscosa, confirmando lo estipulado por bibliografía<sup>[34-35,40]</sup>. De este modo, de entre los productos elaboradas en este trabajo se debe seleccionar aquel que posea mayor relación

$\beta$ -glucanos/viscosidad, ya que, implicaría que posee más  $\beta$ -glucanos para una misma viscosidad.

El rango para pH, densidad y viscosidad se mantienen en base a los valores registrados durante la medición de estas propiedades, detallados en el Anexo D, sección D.2. Cabe mencionar que para medir densidad a 20 [°C] no existía una forma sencilla de mantener el producto a tal temperatura, por lo que, para simplificar la medición de este parámetro se estudió el efecto de la temperatura entre los rangos de 15,3 [°C] y 25,0 [°C], sabiendo que la temperatura del laboratorio oscilaba entre 18-24 [°C] durante el día.

De las pruebas, cuyos detalles se encuentran en la sección C.1 del Anexo C, se observa una variación del 0,2% entre el valor obtenido a 15,3[°C] y el obtenido a 25[°C], lo que permite considerar despreciable el efecto de la temperatura sobre la densidad, en el rango evaluado. Si se reconoce el alto contenido de agua del producto, el comportamiento observado era de esperarse, dado que a los 15 [°C] el agua posee una densidad de 0,999 [g/cm<sup>3</sup>], mientras que a 25 [°C] su densidad es de 0,997 [g/cm<sup>3</sup>], presentando una diferencia de 0,2%, tal como lo obtenido<sup>69</sup>.

Con todo lo anterior se definen los rangos objetivo que permitirán decidir si es que el producto elaborado se asemeja a los productos comerciales y por ende, se puede considerar su producción industrial.

#### 4.2.2 Determinación de materia prima y parámetros de molienda

Las características de la harina conseguida tras los distintos regímenes de molienda para los dos tipos de grano probados se observan en la Tabla 4.4, en donde se aprecia que para el caso del grano pelado y estabilizado no fue posible conseguir granulometría gruesa (establecida como 65% del producto sobre malla N°20), debido a que la ausencia de cáscara fragiliza al grano.

Para evaluar los resultados obtenidos para cada granulometría se deben considerar dos factores: harinas más finas mejoran el proceso de extracción al exponer el sustrato y facilitar el acceso de las enzimas a éste, y la filtración se dificulta cuando las partículas son muy pequeñas, debido a la baja compresibilidad de la torta que se forma<sup>[71]</sup>.

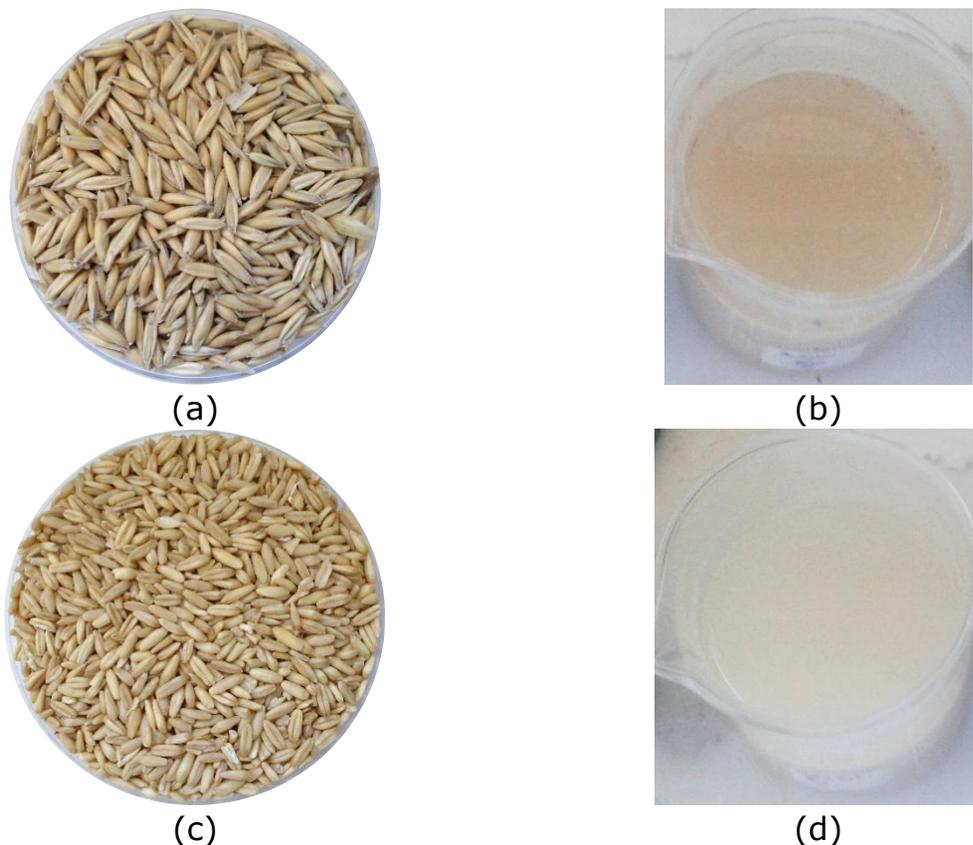
**Tabla 4.4: Granulometría de los distintos tipos de granos obtenida post-molienda.**

Grano	Entero		Pelado y estabilizado	
	Gruesa	Fina	Media	Fina
<b>Tipo de molienda</b>				
<b>Sobre malla 20 (%)</b>	67	9	35	9
<b>Resto (%)</b>	33	91	65	91

En la Figura 4.3 se observan muestras de las materias primas utilizadas y la preparación que resulta de su procesamiento según lo descrito en la

metodología. Por otro lado, en la Tabla 4.5 se observan los resultados del experimento entre los distintos tipos de grano y granulometría.

Al analizar los resultados tanto de la Figura 4.3 como de la Tabla 4.4, se aprecia que la presencia de cáscara en el grano entero facilita el proceso de filtrado, permitiendo recuperar en promedio, mayor volumen (115 [ml]) que lo que se logra con grano pelado y estabilizado (105 [ml]), para un mismo tiempo. Esta situación se explica en el hecho de que la cáscara permite aumentar la compresibilidad de la torta que se forma durante el filtrado, favoreciendo el proceso.



**Figura 4.3: Tipos de grano utilizados y los productos obtenidos. (a) Muestra de grano completo. (b) Preparación de avena completa con agua. (c) Muestra de grano pelado y estabilizado. (d) Preparación de avena pelada y estabilizada con agua.**

No obstante lo anterior, el producto obtenido utilizando grano entero dista en color de lo que se busca según el producto objetivo, además de presentar sedimentación con mayor clarificación que en el caso del producto obtenido tras utilizar grano pelado y estabilizado. Por un lado, la diferencia de coloración se puede explicar debido a la acción enzimática que posee el grano entero, y con la que no cuenta el grano pelado y estabilizado. La presencia de enzimas oxidoreductasas produciría lo que se conoce como pardeamiento enzimático produciendo un color pardo en el producto<sup>[37]</sup>.

**Tabla 4.5: Resultados para el estudio de tipo de grano y granulometría.**

Tipo de Grano	Granulometría	Apariencia	Volumen filtrado en 30 [min]
<b>Entero</b>	Gruesa	Producto de color pardo con presencia de sedimento.	130
	Fina	Producto de color pardo con presencia de sedimento	100
<b>Pelado y estabilizado</b>	Gruesa	Producto de color blanquecino con baja presencia de sedimento	110
	Fina	Producto de color blanquecino sin presencia de sedimento.	100

Por otro lado, la sedimentación producida en mayor medida en el producto resultante del uso de grano entero se explica en el hecho de que la presencia de la cáscara, que representa el 25% (p/v) del grano, implicaría la existencia de partículas con mayor peso específico en solución, que pueden arrastrar a otras y por ende, sedimentar más rápido<sup>[71]</sup>, a diferencia de lo que ocurre en el caso del producto elaborado a partir de grano pelado y estabilizado.

La preparación lograda con el grano pelado y estabilizado resulta en apariencia similar al producto objetivo, sin embargo, presenta problemas durante el filtrado, debido a la alta compactación de los sólidos, que dificultan la percolación del líquido.

A pesar de lo anterior, se decide seguir trabajando con el grano pelado y estabilizado, ya que, usar grano entero implicaría considerar un 25% más de materia prima. Además, el grano estabilizado, al contar con las enzimas lipasas y peroxidasa inactivas, permite lograr un producto de mayor durabilidad, más estable y de color blanquecino, lo que permitiría evitar o disminuir el uso de estabilizantes y otros componentes en la elaboración del producto final<sup>[37]</sup>.

Además, en la Tabla 4.5 se observa que, efectivamente granulometrías finas entorpecen el proceso de filtrado, por lo que, considerando esto último, se decide trabajar con una granulometría media. No obstante, ya que, la granulometría media utilizada (con 35% de partículas mayores a 850 [µm] y el resto menores a tal tamaño) tampoco tuvo buenos resultados en temas de filtración, recuperándose un volumen similar al de granulometría fina, se probaron otras combinaciones para el molinillo hasta alcanzar una harina con granos de partículas mayores.

Tras variadas pruebas, la harina que calzaba con las condiciones ya descritas era aquella cuya composición en tamaños correspondía a 53% de partículas mayores a 850 [µm] y 47% de menor tamaño obtenida moliendo una vez bajo régimen de molienda media para 8 tazas de café. Esta harina fue la utilizada durante todo el desarrollo experimental a escala de laboratorio.

No se buscó obtener harinas más gruesas, ya que, el grano sin cáscara es blando, debido al contenido de agua, por lo que, fijar la molienda en gruesa en el equipo originaba partículas muy grandes que perjudicarían la extracción.

### 4.2.3 Determinación de parámetros de maceración

#### 4.2.3.1 Relación sólido-líquido de materias primas

La Tabla 4.6 indica los resultados obtenidos tras analizar distintas relaciones sólido-líquido bajo distintas condiciones de temperatura. Si bien la literatura indica que se debe usar entre 6-10 [l] por kilogramo de avena<sup>[67]</sup>, se realizaron pruebas con 4 [l] para apreciar el resultado.

**Tabla 4.6: Resultados para definir la relación sólido-líquido a utilizar inicialmente.**

Tipo de Grano	Relación sólido-líquido [kg]:[l]	Sometido a temperaturas mayores a 55[°C]	Textura
<b>Pelado y estabilizado</b>	1:4	No	Pastosa
	1:6	No	Granulada
	1:6	Sí	Pastosa
	1:8	Sí	Creмосa

Primero, para los casos en los que sólo se alcanzaron temperaturas de 55 [°C], se observa claramente que la relación 1:4 contiene demasiados sólidos, formando una pasta que no fluye, como se observa en la Figura 4.4. Por otro lado, la relación 1:6 genera un producto de textura granulada, similar a una de las leches de avena comerciales evaluadas.



**Figura 4.4: Producto obtenido al utilizar relación sólido-líquido de 1:4.**

Surge entonces la pregunta de si el no haber contado con la acción enzimática influye en los resultados. Al evaluar el desempeño de la relación 1:6 en presencia de  $\beta$ -amilasa y pululanasa y, por ende, sometida a temperaturas mayores a 55 [°C], se consigue una mezcla pastosa, así como la obtenida para la relación 1:4 en ausencia de enzimas exógenas. Por otro lado, al realizar lo mismo para una concentración de 1:8, el resultado es una mezcla cremosa, es decir, más fluida que la obtenida para la relación 1:6.

Los resultados anteriores indican entonces, que al aumentar la temperatura sobre los 55 [°C], la fluidez del producto se ve alterada, aumentando su pastosidad o viscosidad. Esto se explica principalmente en el efecto que tiene la temperatura entre 50-90[°C] sobre el almidón: el fenómeno de gelatinización.

Por otro lado, se esperaba que al contar con la presencia de  $\beta$ -amilasa, que actúa acortando las ramificaciones del almidón, y de pululanasa, que actúa desramificando el almidón, la viscosidad del producto disminuyera, debido al efecto sobre la estructura molecular del polímero<sup>[59]</sup>. Sin embargo, tanto para la relación 1:6 como 1:8 no se obtuvo un producto fluido, como se esperaba. Esto se explica ante el hecho de que la concentración utilizada de enzimas no alcanza a cumplir con el objetivo, por lo que se deben probar concentraciones mayores.

Por todo lo anterior, finalmente se selecciona la relación de 1:8, con el propósito de controlar en pruebas siguientes la granulosis y viscosidad del producto mediante una combinación y concentración adecuada de enzimas.

#### **4.2.3.2 Combinación enzimática 1 (C1)**

En la Tabla 4.7 se observan los resultados de los parámetros medidos para las pruebas enzimáticas utilizando  $\alpha$ -amilasa y  $\beta$ -amilasa (C1). En ellos se observa que tanto la densidad como el color se encuentran dentro del rango objetivo (RO), no así pH y sabor, teniéndose un producto más ácido de lo esperado y con sabor amargo. Esta situación se explica en la presencia de  $\text{CaCl}_2$  en la preparación, que afecta tanto el sabor como el pH del producto<sup>[72]</sup>.

El  $\text{CaCl}_2$  es necesario para contar con la presencia del ion calcio que actúa como cofactor de la enzima  $\alpha$ -amilasa<sup>[66]</sup>. La concentración utilizada de este compuesto fue de 100,8 [mg/l], por lo que hay en solución 100,8[mg/l] de ion calcio y 201,6 [mg/l] de ion cloruro. De la literatura se sabe que el umbral de sabor para el ion calcio es de 100-300 [mg/l], mientras que para el ion cloruro es de 200-300 [mg/l]<sup>[72]</sup>. Si bien las concentraciones se encuentran en el límite inferior, afectan considerablemente el sabor. Por otro lado, el pH se ve afectado debido a la presencia del ion cloruro, que actúa como ácido en solución.

En la Tabla 4.7 se observa que los sólidos solubles se encuentran en la línea inferior del rango objetivo, además de contar con rendimientos en base húmeda de entre 40-54% para 40 [g] de avena en 320 [ml] de agua. Estos rendimientos apenas alcanzan el mínimo establecido del 52% esperado de acuerdo a lo que indica la bibliografía para extracción de almidón<sup>[34]</sup>, lo que da nociones de que la combinación o la concentración enzimática utilizada no han sido las idóneas para degradar el almidón. En esta misma línea se explica la textura cremosa que se siente al degustar el producto, ya que, la degradación

del almidón no es suficiente como para disminuir la viscosidad de la avena gelatinizada.

**Tabla 4.7: Resultados de los parámetros medidos para C1.**

	Rel. $\alpha:\beta$	SS [°Bx]	pH (20[°C])	Densidad (20[°C]) [g/cm <sup>3</sup> ]	Sabor	Color	Textura	Rendi- miento [%]
<b>RO</b>		<b>8-12</b>	<b>6,09-6,81</b>	<b>1,02-1,05</b>	<b>N-MD</b>	<b>1-2</b>	<b>L-G</b>	<b>&gt;52</b>
<b>1</b>	1:20	8	5,28	1,031	A	2	C	46,8
<b>2</b>	1:32	8	5,33	1,030	SA	2	C	46,6
<b>3</b>	1:50	8	5,42	1,031	N	2	C	43,2
<b>4</b>	1:21	8	5,40	1,031	A	2	C	53,2
<b>5</b>	1:28	8	5,45	1,030	SA	2	C	53,8
<b>6</b>	1:53	8	5,56	1,030	SA	2	C	50,0
<b>7</b>	1:23	7,5	5,32	1,030	A	2	C	46,7
<b>8</b>	1:30	7,5	5,38	1,030	SM	2	C	44,6
<b>9</b>	1:47	7,5	5,62	1,030	N	2	C	40,5

**RO:** Rangos objetivo. **SS:** sólidos solubles. **Escala de Sabor:** **A:** amargo, **SA:** semi-amargo, **N:** neutro, **MD:** medianamente dulce; **D:** dulce. **Escala de textura:** **L:** lisa; **G:** granulada, **C:** cremosa; **P:** Pastosa. Sombreadas en naranja las combinaciones seleccionadas. Todas las curvas de maceración comenzaron a 55 [°C] y terminaron a 95 [°C], durando cada escalón 10 [min] y 5 [min], respectivamente. Entre medio existieron dos escalones de temperatura, uno a 70 [°C] y otro a 90[°C] que duraron 40 [min] para las pruebas 1, 2 y 3; 30 [min] para las pruebas 4, 5 y 6 y 20 [min] para las pruebas 7, 8 y 9.

Con estos resultados se determinan las dos proporciones enzimáticas que entregan mejores resultados de sólidos solubles y rendimiento al usar  $\alpha$ -amilasa y  $\beta$ -amilasa. Estas 2 proporciones son 1:21 y 1:53, las cuales corresponde a concentraciones de 70 [FAU/ml] y 1.500 [DP°/ml] para el primer caso y 30 [FAU/ml] y 1.600 [DP°/ml] para el segundo caso. Los detalles se pueden ver en el Anexo C, sección C.3. Además, se determinó que en las pruebas siguientes se evaluarán tiempos de exposición de 30 o 40 minutos, ya que, fueron a los que se obtuvo mejores resultados.

#### **4.2.3.3 Combinación enzimática 2 (C2)**

En la Tabla 4.8 se observan los resultados obtenidos tras probar la combinación de  $\beta$ -amilasa y pululanasa (C2). En ella se aprecia que, al no agregar  $\text{CaCl}_2$ , las mediciones de pH y sabor mejoran, acercándose a lo deseado según lo definido previamente.

A pesar de las mejoras de pH y sabor, algunas mediciones se encuentran cercanas al extremo superior del rango aceptado o incluso más altos. Esta condición no se considera un problema, ya que, ambos parámetros se pueden ajustar mediante el uso de aditivos, tales como, potenciadores de sabor y vitaminas<sup>42</sup>.

**Tabla 4.8: Resultados de los parámetros medidos para C2.**

	Rel. $\beta$ :P	SS [°Bx]	pH (20[°C])	Densidad (20[°C]) [g/cm <sup>3</sup> ]	Sabor	Color	Textura	Rendimiento [%]
<b>RO</b>		<b>8-12</b>	<b>6,09–6,81</b>	<b>1,02–1,05</b>	<b>N-MD</b>	<b>1-2</b>	<b>L-G</b>	<b>&gt;52</b>
<b>1</b>	45:1	6,5	6,77	1,025	D	2	C	28,6
<b>2</b>	17:1	6,8	6,88	1,024	MD	2	C	29,2
<b>3</b>	15:1	6	6,86	1,025	MD	2	C	16,8
<b>4</b>	30:1	6	6,21	1,023	D	2	C	33,6
<b>5</b>	34:1	6	6,29	1,024	D	2	C	27,3
<b>6</b>	11:1	6	6,24	1,017	MD	2	C	18,9
<b>7</b>	23:1	6	6,80	1,024	D	2	C	20,4
<b>8</b>	23:1	5	6,73	1,026	D	2	C	16,0
<b>9</b>	23:1	4	6,83	-	MD	2	P	9,7

**RO:** Rangos objetivo. **SS:** sólidos solubles. **Escala de Sabor:** **A:** amargo, **SA:** semi-amargo, **N:** neutro, **MD:** medianamente dulce; **D:** dulce. **Escala de textura:** **L:** lisa; **G:** granulada, **C:** cremosa; **P:** Pastosa. Sombreadas en rojo las combinaciones seleccionadas. Todas las curvas de maceración comenzaron a 55 [°C] y terminaron a 95 [°C], durando cada escalón 10 [min] y 5 [min], respectivamente. Entre medio existió un escalón de temperatura a 70 [°C], que duró 80 [min] para las pruebas 1, 2 y 3; 60 [min] para las pruebas 4, 5 y 6 y 40 [min] para las pruebas 7, 8 y 9.

El sabor dulce del producto se entiende al analizar que en esta prueba existe un único descanso de temperatura a los 70 [°C], el cual dura el doble de tiempo que en la prueba anterior, por lo que existe mayor probabilidad de que  $\beta$ -amilasa interactúe con su sustrato catalizando maltosa, que tiene mayor poder edulcorante que las maltodextrinas<sup>[42]</sup>. Por ello, otra forma de ajustar el sabor es mediante el control de la hidrólisis del almidón, limitando el uso de  $\beta$ -amilasa, lo que se puede lograr tanto disminuyendo el tiempo de exposición a su temperatura de máxima actividad como cambiando la temperatura utilizada en la curva de maceración o la concentración.

La temperatura a la cual  $\beta$ -amilasa presenta máxima actividad es de 70 [°C], mientras que para pululanasa es de 65 [°C]. De este modo, si se utilizan 65 [°C] en vez de 70 [°C], se favorecería la acción de pululanasa, bajando el rendimiento de  $\beta$ -amilasa.

Por otro lado, se observa que tanto densidad como color se encuentran dentro del rango objetivo, pero se aprecia una gran baja en los sólidos solubles, y por tanto, en el rendimiento. Razón para ello se encuentra en el hecho de que las enzimas no actuaron como se esperaba en la degradación del almidón a pesar de los altos tiempos de exposición utilizados, dificultando también la filtración.

La alta viscosidad del producto, y por ende, su textura altamente cremosa, se justifica en el hecho de que las enzimas utilizadas, bajo las

condiciones empleadas, no son capaces de degradar el almidón que ya se encuentra gelatinizado. Las enzimas utilizadas,  $\beta$ -amilasa y pululanasa, actúan desramificando la amilopectina e hidrolizando maltosa desde los extremos no reductores de las cadenas de almidón, respectivamente. Al actuar la pululanasa, se liberan cadenas lineales largas que no alcanzan a ser reducidas lo suficiente por la acción de  $\beta$ -amilasa, lo que genera un producto que mantiene su viscosidad debido a la gelatinización del almidón.

Por la razón anterior, se considera que el uso de  $\alpha$ -amilasa en la preparación es esencial, ya que, actúa como licuefactante, es decir, degrada el almidón formando cadenas más cortas que implican una disminución en la viscosidad del producto. Cabe destacar que, dado que el rango de temperatura en el que  $\alpha$ -amilasa presenta mayor actividad es de 30-100 [°C], y la curva de maceración va desde los 55 [°C] hasta 95 [°C], la enzima actúa catalizando la reacción durante todo el proceso. Por ello, si es que se utilizaran las 3 enzimas juntas se podrían obtener mejores resultados de rendimiento, textura y viscosidad.

En esta ocasión se utilizaron concentraciones enzimáticas en exceso en comparación a lo que indicaba la bibliografía, pues cuando se probó la concentración indicada en bibliografía, el resultado fue una mezcla que no se pudo filtrar, y por ende, no se pudieron caracterizar las propiedades medidas.

De acuerdo a pH, sabor, concentración de sólidos solubles, rendimiento y tiempos de incubación, se determina que las proporciones de enzima  $\beta$ -amilasa y pululanasa a probar corresponden a 23:1, lo que equivale a concentraciones de 18.750 [DP°/ml] y 1.650 [PU/ml], respectivamente; y 11:1 que equivale a 37.500 [DP°/ml] y 1.650 [PU/ml]. Por otro lado, se determina que los tiempos de incubación a los que se consiguieron mejores resultados fueron a los 60 [min] y 80 [min]. Para más detalles revisar el Anexo C, sección C.3. En particular, se descarta emplear 80 [min] para incubar a una sola temperatura, debido a que se busca obtener los mejores resultados en los menores tiempos de incubación posible.

#### **4.2.3.4 Combinación enzimática 3 (C3) y 4 (C4)**

El objetivo de la combinación 3 (C3) es evaluar el efecto de la ausencia de  $\beta$ -amilasa en el sabor, debido a la reducción en la formación de maltosa; mientras que el objetivo de la combinación 4 (C4) es probar el efecto sinérgico de las 3 enzimas.

En la Tabla 4.9 se aprecian los resultados de los parámetros medidos para la combinación 3 y 4. En el Anexo C, sección C.3 se encuentran los detalles de las proporciones y sus cálculos asociados. Cabe mencionar que algunas proporciones fueron aproximadas para facilitar el trabajo con ellas.

**Tabla 4.9: Resultados de los parámetros medidos para C3 y C4.**

	Rel. $\alpha$ : $\beta$ :P	Rel. S:L	SS [°Bx]	pH (20[°C])	Densidad (20[°C]) [g/cm <sup>3</sup> ]	Sabor	Color	Textura	Rendi- miento [%]
<b>RO</b>			<b>8-12</b>	<b>6,09–6,81</b>	<b>1,02–1,05</b>	<b>N-MD</b>	<b>1-2</b>	<b>L-G</b>	<b>&gt;52</b>
<b>C3<sub>1</sub></b>	1:0:2,2	1:8	8,7	6,76	1,026	N	2	C	56,3
<b>C3<sub>2</sub></b>	1:0:2,2	1:6	11,0	6,54	1,036	MD	2	C	43,5
<b>C4<sub>1</sub></b>	1:20:2	1:8	9,0	6,79	1,029	MD	1	G	57,6
<b>C4<sub>2</sub></b>	1:20:1	1:8	8,5	6,83	1,025	MD	1	C	58,4

**RO:** Rangos objetivo. **SS:** sólidos solubles. **Escala de Sabor:** **A:** amargo, **SA:** semi-amargo, **N:** neutro, **MD:** medianamente dulce; **D:** dulce. **Escala de textura:** **L:** lisa; **G:** granulada, **C:** cremosa; **P:** Pastosa. **C3<sub>1</sub>:** Combinación 3, prueba 1; **C3<sub>2</sub>:** Combinación 3, prueba 2; **C4<sub>1</sub>:** Combinación 4, prueba 1; **C4<sub>2</sub>:** Combinación 4, prueba 2. Todas las curvas de maceración comenzaron a 55 [°C] y terminaron a 95 [°C], durando cada escalón 10 [min] y 5 [min], respectivamente. Entre medio existieron dos escalones de temperatura, uno a 65 [°C] y otro a 90 [°C] de 30 [min] de duración cada uno.

La proporción evaluada para C3 corresponde a 1:2,2 de  $\alpha$ -amilasa y pululanasa, respectivamente. Esta condición se evalúa para una relación sólido-líquido de 1:8 (C3<sub>1</sub>) y de 1:6 (C3<sub>2</sub>), para comprobar si es que la variación en la concentración enzimática permite obtener un producto con mejores resultados con respecto a la anterior prueba para 1:6. De este modo, las concentraciones utilizadas corresponden a 187,5 [FAU/ml] y 412,5 [PU/ml] de cada enzima.

Para C4 se evaluaron dos proporciones: 1:20:2 (C4<sub>1</sub>) y 1:20:1 (C4<sub>2</sub>). Para la prueba C4<sub>1</sub> se agregaron 187,5 [FAU/ml], 3.750 [DP°/ml] y 330 [PU/ml] de  $\alpha$ -amilasa,  $\beta$ -amilasa y pululanasa, respectivamente. Por otro lado, en la prueba C3<sub>2</sub> sólo se cambió la concentración de pululanasa con respecto a las concentraciones anteriores, agregando 165 [PU/ml].

En la Tabla 4.9 se aprecia que en la primera prueba de C3 (C3<sub>1</sub>), en la que se tenía proporción 1:8, los parámetros están dentro de lo deseado, sin embargo, su sabor es neutro. Dado que ya se logró elaborar productos medianamente dulces, se prefiere la elaboración de este tipo de productos, por sobre los de sabor neutro. En cuanto a la prueba de la proporción 1:6 (C3<sub>2</sub>), se observa que la concentración de sólidos suspendidos aumenta; sin embargo, a pesar de la presencia de  $\alpha$ -amilasa, se sigue obteniendo un producto altamente viscoso, lo que se refleja en el bajo rendimiento obtenido.

Por otro lado, ambas pruebas para C4 entregaron buenos resultados, siendo el pH el único parámetro que se distancia del objetivo. Dado que cada prueba no contó con duplicado, no se puede asegurar si es que la desviación del pH en 0,02 unidades para la condición C4<sub>2</sub> es significativa, ya que, podría ser causa de un error de medición.

Por otro lado, se observa que la prueba C4<sub>1</sub> tiene menor rendimiento que C4<sub>2</sub>, pero mayor concentración de sólidos solubles. Esta situación se podría explicar al considerar la acción de la pululanasa, que se encuentra en mayor concentración en C4<sub>1</sub> que en C4<sub>2</sub>. La pululanasa actúa desramificando la amilopectina, que corresponde al componente principal del almidón de avena, lo que implicaría mayor presencia de cadenas largas en solución. Estas cadenas no son lo suficientemente degradadas por la concentración de  $\alpha$ -amilasa y  $\beta$ -amilasa presente, lo que perjudica la licuefacción del producto, y por lo tanto, la recuperación de éste tras la filtración. No obstante, debido a la falta de duplicados, no se puede asegurar que las diferencias de estos parámetros (1,4%) ante las dos condiciones sean estadísticamente significativas.

El aumento en la concentración de sólidos solubles obtenidos en ambos casos, en comparación a la combinación 2, se puede también atribuir a la presencia de  $\alpha$ -amilasa. En esta combinación se están utilizando concentraciones inferiores de pululanasa y  $\beta$ -amilasa que en C2, pero los rendimientos obtenidos fueron considerablemente mayores. Por ende, si no hubiera presencia de  $\alpha$ -amilasa, probablemente ninguno de las dos pruebas de la combinación 4 hubiera sido filtrable.

Si bien en este experimento se lograron rendimientos mayores a 52%, se busca aumentar este parámetro mediante la variación en los tiempos de incubación y concentraciones enzimáticas. Según esto, se escogen las condiciones probadas en C4<sub>1</sub> para seguir trabajando, comenzando por variar la concentración de  $\alpha$ -amilasa y pululanasa, que influyen directamente en la viscosidad.

Finalmente, la combinación 3 es descartada debido al sabor y textura cremosa mayor a la obtenida para la combinación 4. Por ello, se decide seguir probando con la combinación de las tres enzimas evaluadas. A la vez, se descartan las otras proporciones enzimáticas posibles de probar para estas combinaciones (1:5 y 1:1 para C3 y 1:50:5 y 1:50:2 para C4), ya que, en esta ocasión la textura alcanzada no fue satisfactoria. El producto era ligeramente cremoso, propiedad que no se espera sea afectada al usar las otras proporciones, ya que, salvo para la combinación 1:1, éstas significarían mayor concentración de  $\beta$ -amilasa y pululanasa en relación a la concentración de  $\alpha$ -amilasa, siendo esta última la que ha demostrado ser relevante en el proceso de licuefacción del almidón.

#### **4.2.3.5 Variaciones en las condiciones de operación para la combinación seleccionada**

Ya definida la combinación 1:20:2, se trabaja con variaciones en la cantidad de enzima  $\alpha$ -amilasa y pululanasa, para verificar la existencia de una nueva alternativa a probar, manteniendo los descansos de temperatura por 30 [min], al igual que en las pruebas anteriores.

En la Tabla 4.10 se observan los resultados para 3 nuevos experimentos con distintas condiciones. Las pruebas evaluadas corresponden a: aumento en la concentración de pululanasa ( $CM_p$ ), aumento en la concentración de  $\alpha$ -amilasa ( $CM_\alpha$ ) y aumento en la concentración de ambas enzimas a la vez ( $CM_2$ ). Las proporciones probadas son 1:20:2,2, 1:14:1 y 1:14:2, que corresponden a 187,5 [FAU/ml], 3.750 [DP°/ml] y 412,5 [PU/ml]; 262,5 [FAU/ml], 3.750 [DP°/ml] y 330 [PU/ml] y 262,5 [FAU/ml], 3.750 [DP°/ml] y 412,5 [PU/ml], respectivamente.

**Tabla 4.10: Resultados de los parámetros medidos para nuevas condiciones de concentraciones enzimáticas.**

	Rel. $\alpha$ : $\beta$ :P	Rel. S:L	SS [°Bx]	pH (20[°C])	Densidad (20[°C]) [g/cm <sup>3</sup> ]	Sabor	Color	Textura	Rendimiento [%]
<b>RO</b>			<b>8-12</b>	<b>6,09-6,81</b>	<b>1,02-1,05</b>	<b>N-MD</b>	<b>1-2</b>	<b>L-G</b>	<b>&gt;52</b>
<b>CM<sub>p</sub></b>	1:20:2,2	1:8	8,0	6,42	1,025	N	2	C	52,5
<b>CM<sub><math>\alpha</math></sub></b>	1:14:1	1:8	7,5	6,43	1,025	SA	2	C	49,0
<b>CM<sub>2</sub></b>	1:14:2	1:8	7,5	6,52	1,026	SA	2	C	47,5

**RO:** Rangos objetivo. **SS:** sólidos solubles. **Escala de Sabor:** **A:** amargo, **SA:** semi-amargo, **N:** neutro, **MD:** medianamente dulce; **D:** dulce. **Escala de textura:** **L:** lisa; **G:** granulada, **C:** cremosa; **P:** Pastosa. **CM<sub>p</sub>:** prueba con mayor concentración de pululanasa; **CM <sub>$\alpha$</sub> :** prueba con mayor concentración de  $\alpha$ -amilasa; **CM<sub>2</sub>:** prueba con mayor concentración de  $\alpha$ -amilasa y pululanasa. Todas las curvas de maceración comenzaron a 55 [°C] y terminaron a 95 [°C], durando cada escalón 10 [min] y 5 [min], respectivamente. Entre medio existieron dos escalones de temperatura, uno a 65 [°C] y otro a 90 [°C], ambos de 30 [min] de duración.

De las pruebas realizadas, la de mejores resultados fue la prueba  $CM_p$ , ya que, las siguientes 2 se vieron afectadas en sabor. Esto se puede explicar tanto por el bajo pH obtenido como por la alta dosis de  $\alpha$ -amilasa, en el primer caso, y de ambas enzimas estudiadas en el segundo.

En estas pruebas se mantuvo la concentración de  $\beta$ -amilasa utilizada anteriormente, ya que, se quiere mantener el dulzor controlado, lo que ya se había logrado previamente. Sin embargo, se presume que la mayor concentración de  $\alpha$ -amilasa y pululanasa provocó que se catalizaran más azúcares de bajo poder edulcorante, siendo la formación de maltosa insuficiente para aumentar el sabor del producto para la concentración de  $\beta$ -amilasa utilizada.

Otro motivo para descartar  $CM_\alpha$  y  $CM_2$  es la disminución en la concentración de sólidos solubles, lo que se traduce en una baja en los rendimientos. Esta situación se explica con el mismo razonamiento utilizado para explicar el sabor, puesto que, si hay más pululanasa, hay mayor presencia de cadenas largas, lo que genera un producto cremoso con menor rendimiento durante la filtración.

Para seguir con la tarea de mejorar el rendimiento, se varió la relación sólido-líquido y tiempos de incubación a las temperaturas asociadas a la acción enzimática. Las pruebas sometidas a estas variaciones corresponden a las seleccionadas previamente, C4<sub>1</sub> y CM<sub>p</sub>. Para identificar cada experimento se utilizarán las siglas VP para las variaciones del primer experimento seleccionado (C4<sub>1</sub>) y VS para las variaciones del segundo experimento elegido (CM<sub>p</sub>).

En la Tabla 4.11 se aprecian los resultados de los experimentos asociados a las modificaciones que se le realizaron a la proporción de 1:20:2. Además de la variación sólido-líquido que se ve en la tabla, las pruebas C4<sub>1</sub> y VP<sub>1</sub> fueron sometidas a una curva de maceración cuyos tiempos de exposición a cada temperatura fueron de 30 [min] cada uno, mientras que VP<sub>2</sub> y VP<sub>3</sub> tuvieron tiempos de exposición de 40 [min] y 50 [min] para cada temperatura utilizada, potenciándose la acción de  $\alpha$ -amilasa.

**Tabla 4.11: Resultados asociados a la variación de parámetros de la proporción 1:20:2.**

	Rel. $\alpha$ : $\beta$ :P	Rel. S:L	SS [°Bx]	pH (20[°C])	Densidad (20[°C]) [g/cm <sup>3</sup> ]	Sabor	Color	Textura	Rendimiento [%]
<b>RO</b>			<b>8-12</b>	<b>6,09-6,81</b>	<b>1,02-1,05</b>	<b>N-MD</b>	<b>1-2</b>	<b>L-G</b>	<b>&gt;52</b>
<b>C4<sub>1</sub></b>	1:20:2	1:8	9,0	6,79	1,029	MD	1	G	57,6
<b>VP<sub>1</sub></b>	1:20:2	1:9	8,0	6,50	1,025	MD	2	G	59,7
<b>VP<sub>2</sub></b>	1:20:2	1:8	7,0	6,71	1,025	N	2	C	40,6
<b>VP<sub>3</sub></b>	1:20:2	1:7	8,0	6,52	1,031	D	2	C	41,6

**RO:** Rangos objetivo. **SS:** sólidos solubles. **Escala de Sabor:** **A:** amargo, **SA:** semi-amargo, **N:** neutro, **MD:** medianamente dulce; **D:** dulce. **Escala de textura:** **L:** lisa; **G:** granulada, **C:** cremosa; **P:** Pastosa. **VP<sub>i</sub>:** variación i para primer experimento seleccionado, con i entre 1 y 3. **1:** variación en relación sólido-líquido. **2:** variación en tiempos de incubación. **3:** cambio relación sólido-líquido. Todas las curvas de maceración comenzaron a 55 [°C] y terminaron a 95 [°C], durando cada escalón 10 [min] y 5 [min], respectivamente. Entre medio existieron dos escalones de temperatura, uno a 65 [°C] y otro a 90 [°C]. Para C4<sub>1</sub> y VP<sub>1</sub> cada escalón duró 30 minutos. Para VP<sub>2</sub> y VP<sub>3</sub> cada escalón duró 40 y 50 minutos, respectivamente.

Se observa que, al variar la relación sólido-líquido por 1:9, no aumenta considerablemente el rendimiento, mientras que la relación 1:7 presenta una baja en este parámetro, incluso habiéndose aumentado el tiempo de cada escalón de temperatura. De acuerdo a esto, la relación 1:7 es completamente descartada, pues no se logra el mínimo de rendimiento del 52%.

Luego, si se comparan C4<sub>1</sub> con VP<sub>2</sub>, en donde la única diferencia son tiempos de maceración de mayor duración para la segunda en comparación con la primera, el rendimiento disminuye, contrario a lo esperado. Motivo para esto se cree es la concentración de  $\alpha$ -amilasa y/o  $\beta$ -amilasa utilizada, así como el tiempo de incubación de  $\alpha$ -amilasa, puesto que no logran degradar las largas

cadena que se forman de la reacción de pululanasa con el almidón y, por ende, se obtiene un producto más difícil de filtrar.

Por esta razón, se decide finalmente trabajar con tiempos de 30 [min] para el escalón de temperatura de 65 [°C], disminuyendo el tiempo de acción óptima para pululanasa. Para el escalón de temperatura de 90 [°C] se decide aumentar a 60 [min], para propiciar la acción de la  $\alpha$ -amilasa, esperando alcanzar buenos resultados de licuefacción, y por tanto, de textura, sabor y rendimiento.

En la Tabla 4.12 se observan los resultados asociados a la proporción 1:20:2,2 para distintas relaciones sólido-líquido, concentraciones de enzimas y tiempos de incubación.

**Tabla 4.12: Resultados asociados a la variación de parámetros de la proporción 1:20:2,2**

	Rel. $\alpha$ : $\beta$ :P	Rel. S:L	SS [°Bx]	pH (20[°C])	Densidad (20[°C]) [g/cm <sup>3</sup> ]	Sabor	Color	Textura	Rendi- miento [%]
<b>RO</b>			<b>8-12</b>	<b>6,09-6,81</b>	<b>1,02-1,05</b>	<b>N-MD</b>	<b>1-2</b>	<b>L-G</b>	<b>&gt;52</b>
<b>CM<sub>p</sub></b>	1:20:2,2	1:8	8,0	6,42	1,025	N	2	C	52,5
<b>VS<sub>1</sub></b>	1:20:2,2	1:9	8,0	6,63	1,027	N	2	G	56,8
<b>VS<sub>2</sub></b>	1:20:2,2	1:8	9,0	6,52	1,033	N	2	C	57,0
<b>VS<sub>3</sub></b>	1:20:2,2	1:8	9,0	6,51	1,030	N	2	C	57,0
<b>VS<sub>4</sub></b>	1:27:2,2	1:8	6,8	6,65	1,023	MD	2	G	43,9

**RO:** Rangos objetivo. **SS:** sólidos solubles. **Escala de Sabor: A:** amargo, **SA:** semi-amargo, **N:** neutro, **MD:** medianamente dulce; **D:** dulce. **Escala de textura: L:** lisa; **G:** granulada, **C:** cremosa; **P:** Pastosa. **VS<sub>i</sub>:** variación *i* de la segunda prueba seleccionada, con *i* entre 1 y 4. **1:** variación relación sólido-líquido. **2:** variación de tiempos de incubación. **3:** variación en concentración de enzima. **4:** variación en concentración de  $\beta$ -amilasa. Todas las curvas de maceración comenzaron a 55 [°C] y terminaron a 95 [°C], durando cada escalón 10 [min] y 5 [min], respectivamente. Entre medio existen dos escalones de temperatura, uno a 65 [°C] y otro a 90 [°C]. Para VS<sub>1</sub>, VS<sub>2</sub> y VS<sub>3</sub> cada escalón de temperatura duró 40 y 60 minutos respectivamente, mientras que para VS<sub>4</sub> 40 y 50 minutos, respectivamente.

VS<sub>1</sub>, VS<sub>2</sub> y VS<sub>3</sub> corresponden a pruebas realizadas a tiempos de incubación de 40 [min] y 60 [min] para cada escalón de temperatura asociado a la actividad de las enzimas; y VS<sub>4</sub> a pruebas realizadas con tiempos de exposición de 40 [min] y 50 [min] para cada temperatura de incubación, diferenciándose VS<sub>2</sub> de VS<sub>3</sub> en el uso del doble de enzima para éste último.

Se vuelve a observar que el uso de la relación sólido-líquido de 1:9 no muestra grandes diferencias en los resultados, salvo en el rendimiento. Este aumento se explica en la mayor presencia de agua, lo que permite que se recupere mayor volumen durante la filtración. A pesar de esto, se descarta el uso de esta relación por el momento, buscando desarrollar productos con

mayor concentración de sólidos, y por ende, mayor concentración de  $\beta$ -glucanos.

En cuanto a los resultados con la relación 1:8, se aprecia que al aumentar los tiempos de exposición, aumenta la cantidad de sólidos solubles presentes en la solución, con un rendimiento casi 5 puntos porcentuales mayor que para el caso de tiempos menores ( $CM_p$ ). Esto se explica en la acción de las enzimas durante la curva de maceración, las cuales, al durar más tiempo, permiten que se catalicen más reacciones, favoreciendo la degradación del almidón.

Por otro lado, al comparar  $VS_2$  con  $VS_3$ , se aprecia que el duplicar la dosis de enzimas no provoca mayores cambios en el producto final según las propiedades medidas, por lo que, pensando en usar la menor cantidad de enzima posible, se mantiene la dosis original. Sin embargo, buscando determinar las condiciones de operación óptimas, esta similitud debiera ser comprobada replicando el experimento, para confirmar si es que la concentración utilizada es la más idónea.

Luego, si se observa el sabor obtenido para las distintas concentraciones, se aprecia que para el uso de 3.750 [DP°/ml] y 7.500 [DP°/ml] (pruebas  $VS_2$  y  $VS_3$ , respectivamente) las condiciones utilizadas permiten obtener un producto de sabor neutro. Como ya se mencionaba anteriormente, se favorece la elaboración de productos medianamente dulces de manera natural, dado que ya se han logrado. Por esto, en la prueba  $VS_4$  se probó aumentando la concentración de  $\beta$ -amilasa a 5.000 [DP°/ml] a la vez que se mantuvo su tiempo de incubación a 40 [min].

A la vez, se decide disminuir el tiempo de incubación de  $\alpha$ -amilasa a 50 [min]. Esto, ya que, se establece que el proceso enzimático debe durar máximo 1,5 [h], para que la maceración completa sea de aproximadamente 2 [h], como plantea la literatura<sup>[62]</sup>. Si bien en la Tabla 4.12 se aprecia que estas variaciones provocaron una disminución tanto en la concentración de sólidos solubles como rendimiento, se decide seguir probando con estas condiciones, dado que se consiguió el objetivo del sabor y la textura obtenida fue ligeramente cremosa.

En definitiva, de esta parte del trabajo se establecen las condiciones para elaborar un producto con sabor medianamente dulce, color blanquecino y textura ligeramente cremosa y granulada, cuyos parámetros fisicoquímicos se encuentran dentro del rango objetivo.

#### **4.2.3.6 Combinaciones enzimáticas finales**

Es necesario mencionar que, al no realizarse duplicados durante el desarrollo experimental hasta esta etapa, los resultados pueden ser producto del azar y sujetos a errores de medición. Esto podría hacer pensar que no son representativos para tomar una decisión. Sin embargo, la evidencia de los

productos obtenidos, cuyas propiedades se acercan al rango objetivo definido, permite afirmar que las decisiones y conclusiones realizadas en base al conocimiento y los resultados experimentales, lograrían cumplir con el objetivo de este trabajo.

De acuerdo a lo anterior, previo al trabajo en la planta piloto, se realizan pruebas en duplicado para las dos proporciones enzimáticas escogidas con sus respectivas curvas de maceración. Las proporciones corresponden a 1:20:2 y 1:27:2,2 de  $\alpha$ -amilasa  $\beta$ -amilasa y pululanasa, respectivamente. Estas pruebas se realizan en duplicado para dos gramajes de avena inicial distinto, 30 [g] y 40 [g], con el fin de poder identificar el efecto de los volúmenes utilizados en la difusión de las enzimas, y por lo tanto, en los rendimientos.

En la Tabla 4.13 se puede apreciar la curva de maceración a utilizar para cada experimento, mientras que los resultados de estas pruebas se pueden ver en la Tabla 4.14.

**Tabla 4.13: Curvas de maceración utilizadas en las pruebas finales.**

<b>Etapa</b>	<b>Temperatura [°C]</b>	<b>Tiempo prueba 5:1:4 [min]</b>	<b>Tiempo prueba 5:1:5 [min]</b>
<b>Gelatinización</b>	55	10	10
<b>Tiempo de incubación 1 (<math>\beta</math>-amilasa + pululanasa)</b>	70	30	40
<b>Tiempo de incubación 2 (<math>\alpha</math>-amilasa)</b>	90	60	50
<b>Inactivación enzimática</b>	95	10	10

Para la proporción de 1:20:2, se observa en la Tabla 4.14 que la concentración de sólidos solubles aumentó, lo que se podría deber a las variaciones de tiempo realizadas en la curva de maceración, favoreciendo la acción de  $\alpha$ -amilasa por sobre  $\beta$ -amilasa y pululanasa.

Además, se observa en la Tabla 4.14 que para la proporción 1:27:2,2, tanto la concentración de sólidos solubles como el rendimiento, mejoraron, lo que hace suponer que los resultados previos se vieron afectados por errores en el procedimiento experimental, como por ejemplo, la dosificación de enzimas.

Al comparar el efecto de los volúmenes utilizados, se aprecia que para ambos experimentos, al aumentar la masa de avena inicial, y por ende el volumen, el rendimiento disminuye (ver promedios en la Tabla 4.15). Este fenómeno se puede explicar en la importancia de la agitación del equipo para asegurar la difusión de las enzimas en la mezcla. Al haber más masa y volumen en el recipiente, para una misma velocidad de agitación, existe un problema en la transferencia de masa. Por ello, la interacción enzima-sustrato se ve dificultada, ya que, no se logra la misma homogeneidad que para el caso con

menos volumen. Por esto, a la hora de escalar el proceso, se debe tener en consideración el efecto de la agitación sobre la transferencia de masa, ya que, se debe asegurar que ésta sea similar a la obtenida en las condiciones de laboratorio para conseguir rendimientos similares.

**Tabla 4.14: Resultados asociados a las proporciones enzimáticas finales.**

	Rel. S:L	SS [°Bx]	pH (20[°C])	Densidad (20[°C]) [g/cm <sup>3</sup> ]	Sabor	Color	Textura	Rendi- miento [%]
<b>RO</b>		<b>8-12</b>	<b>6,09-6,81</b>	<b>1,02-1,05</b>	<b>N-MD</b>	<b>1-2</b>	<b>L-G</b>	<b>&gt;52</b>
<b>Prueba final 1:20:2</b>	1:8 (30[g])	8,4	6,51	1,030	MD	1	G	55,4
	1:8 (30[g])	8,6	6,51	1,030	MD	1	G	55,3
	1:8 (40[g])	8,0	6,41	1,028	MD	1	G	45,0
	1:8 (40[g])	8,2	6,53	1,030	MD	1	G	48,6
<b>Prueba final 1:27:2,2</b>	1:8 (30[g])	8	6,43	1,028	MD	1	G	50,7
	1:8 (30[g])	8	6,50	1,027	MD	1	G	51,7
	1:8 (40[g])	8	6,51	1,027	MD	1	G	45,8
	1:8 (40[g])	8	6,51	1,027	MD	1	G	51,0

**RO:** Rangos objetivo. **SS:** sólidos solubles. **Escala de Sabor:** **A:** amargo, **SA:** semi-amargo, **N:** neutro, **MD:** medianamente dulce; **D:** dulce. **Escala de textura:** **L:** lisa; **G:** granulada, **C:** cremosa; **P:** Pastosa.

En la Tabla 4.14 se observa que las propiedades organolépticas no presentaron variabilidad entre duplicados y pruebas. Sin embargo, las propiedades fisicoquímicas y el rendimiento sí son variables, por lo que, en la Tabla 4.15 se encuentran los promedios y desviación estándar de los duplicados de las pruebas realizadas, para analizar estos resultados. De hecho, se puede apreciar que la concentración de sólidos solubles y rendimiento son los parámetros que presentan mayor variabilidad, lo que tiene sentido debido a la dependencia del rendimiento con la concentración de sólidos solubles y la forma de medición de este parámetro.

El resto de los parámetros fisicoquímicos se encuentran dentro del rango objetivo y poseen poca variabilidad, por lo que se puede decir que se ha cumplido con un proceso que logra un producto cuyo pH y densidad se asemeja a los de productos actualmente comercializados en el país. Lo mismo se puede decir para el sabor y el color. En cuanto a la textura, aunque en esta ocasión ambas preparaciones eran más fluidas que en otros experimentos, aún se debe buscar una forma de disminuir la cremosidad del producto. Además, se podía apreciar que la primera preparación era más granulada que la segunda,

condición que se espera mejore durante el proceso de eliminación de sólidos utilizado en la planta piloto.

**Tabla 4.15: Promedios y desviación estándar paralas pruebas realizadas.**

	Masa utilizada [g]		Sólidos solubles [°Bx]	pH (20[°C])	Densidad (20[°C]) [g/cm <sup>3</sup> ]	Rendimiento [%]
<b>RO</b>			<b>8-12</b>	<b>6,09-6,81</b>	<b>1,02-1,05</b>	<b>&gt;52</b>
<b>Prueba final 1:20:2</b>	30	Promedio	8,5	6,51	1,030	55,4
		Desv. Est.	0,14	0,00	0,00	0,07
	40	Promedio	8,1	6,47	1,029	46,8
		Desv. Est.	0,14	0,08	0,00	2,55
<b>Prueba final 1:27:2,2</b>	30	Promedio	8,0	6,47	1,028	51,2
		Desv. Est.	0,00	0,05	0,00	0,71
	40	Promedio	8,0	6,51	1,027	48,4
		Desv. Est.	0,00	0,00	0,00	3,68

**RO:** Rangos objetivo.

Con los resultados y las condiciones aquí definidas, se procede a experimentar en escala piloto, para verificar la posibilidad de replicar el proceso en volúmenes mayores y comprobar de este modo, el comportamiento de la maceración según lo que se observó en el laboratorio.

### 4.3 TRABAJO A ESCALA PILOTO

Además de probar las condiciones ya definidas por la etapa experimental en laboratorio, se evalúa el comportamiento del producto ante variaciones en las etapas finales del proceso, como la separación de sólidos mayores e insolubles y la eliminación de patógenos previo al envasado.

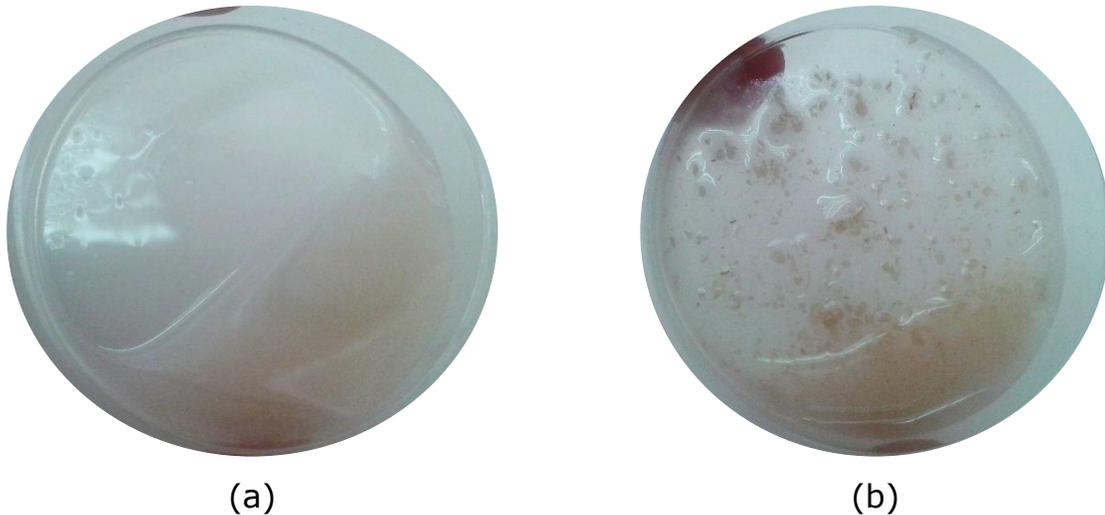
Cabe mencionar que la harina utilizada poseía una granulometría tal que sobre el 76% de ella poseía tamaño menor a 850 [ $\mu\text{m}$ ], siendo por tanto, de granulometría más fina que la utilizada durante la fase experimental en el laboratorio. Sin embargo, sigue estando dentro de los valores que establece la bibliografía, que indican que se debe utilizar harina capaz de pasar por un tamiz de malla para partículas de entre 800-1000 [ $\mu\text{m}$ ].

#### 4.3.1 Separación de sólidos mayores e insolubles

##### 4.3.1.1 Filtración

El proceso de filtrado se realiza a temperaturas superiores a 75 [°C] y se evalúa en dos instancias, al inicio, antes de agregar presión, y una vez que se aplica presión.

En la Figura 4.5 se observa la apariencia del producto tras ser sometido a los distintos regímenes de filtrado, apreciándose que en (a) el producto presenta pequeños gránulos, como se ve en la esquina superior izquierda, pero que son mínimos en comparación a (b), en donde se observa gran presencia de ellos.



**Figura 4.5: Apariencia del producto filtrado. (a) Sin agregar presión. (b) Con presión aplicada.**

La explicación del fenómeno se encuentra una vez que se abre el filtro y se observa lo que se ve en la Figura 4.6: no hubo formación de lecho filtrante o torta. Por ende, nada evitaba que estos pequeños gránulos atravesaran la malla una vez que se comenzaba a aplicar presión.

La cáscara de la materia prima suele servir de ayuda en la filtración, debido a que disminuye la compactación del sólido, aumentando la compresibilidad de la torta, y por ende, permite el paso del líquido, frenando el de los sólidos.



**Figura 4.6: Interior del filtro una vez finalizada la filtración.**

Asimismo, en la Tabla 4.16 se muestran los rendimientos obtenidos tras las dos condiciones de filtrado para cada *batch* desarrollado en la planta piloto. Es así como, cuando no se aplica presión, el volumen recuperado es menor al 20%, alcanzando un rendimiento de 10% para el primer *batch*, pero de sólo

3,4% para el segundo. Por otro lado, al aplicar presión, se recupera sobre el 95% del volumen, con un rendimiento de casi 55%. Sin embargo, este volumen cuenta con la presencia de gran cantidad de gránulos en el producto.

**Tabla 4.16: Volúmenes recuperados tras los dos regímenes de filtración y rendimientos asociados.**

	Sólidos solubles [°Bx]	Volumen filtrado sin presión [l]	Volumen filtrado con presión [l]	Rendimiento [%] (sin presión)	Rendimiento [%] (total)
<b>RO</b>	<b>8-12</b>				<b>&gt;52</b>
<b>PP1</b>	7	9	40	10,1	54,9
<b>PP2</b>	7	3	46	3,4	54,9

**RO:** Rangos objetivo. **PP1:** Prueba en planta piloto 1; **PP2:** Prueba en planta piloto 2. PP1 fue realizada con la proporción 1:20:2, mientras que PP2 con la proporción 1:27:2,2. Ambas curvas de maceración consideraron una etapa de gelatinización de 55 [°C] por 5 minutos. Además se utilizaron otras dos temperaturas de incubación, 65 [°C] y 90 [°C] por 30 y 60 minutos, respectivamente, para PP1 y por 40 y 50 minutos para PP2.

Por todo lo anterior, es necesario encontrar alternativas para que el proceso de filtrado sea más eficaz, o considerar el uso de un equipo de centrifugación de características analizadas más adelante.

Dentro de lo primero, se puede considerar trabajar con cáscara de avena obtenida del proceso de perlado del grano que se realiza en Maltexco S.A. para la producción de harinas. La idea consiste en agregar esta cascarilla minutos antes del filtrado, mezclarla con el producto y luego iniciar la filtración. De este modo, la cascarilla se opondría al paso de sólidos mayores, contribuyendo en la formación de un lecho filtrante que ayude a que el líquido percole. Para llevar a cabo esta alternativa hay que definir el tiempo por el cual se realizará la mezcla y la cantidad de cascarilla a agregar, con tal de obtener buenos resultados de filtración y un producto final cuyas características no se vean considerablemente afectadas.

Otra opción es considerar la reducción del diámetro del equipo, reduciendo el área de filtrado, lo que favorecería la acumulación de los sólidos presentes en la mezcla a medida que bajen por el filtro. Sin embargo, esta alternativa no soluciona el problema de la incompresibilidad de la torta y podría representar una modificación o aplicación compleja a nivel industrial, debido al material del equipo y las condiciones de sellado que requiere para su funcionamiento.

#### **4.3.1.2 Decantación**

Con el proceso de decantación se espera separar los sólidos insolubles y aquellos de mayor tamaño que no lograron ser descartados en la etapa de filtración. Para desarrollar el proceso, se calienta el producto a 100 [°C] por 1

minuto, lo que provoca la denaturación de proteínas, cuya sedimentación es lenta.

Una vez que el producto ingresa al equipo de decantación (*Whirlpool*), se aprecian zonas altamente concentradas, que parecen ser acumulaciones de sólidos mayores con otros sedimentables. Esta apariencia sigue existiendo 1 hora después de dejar el producto reposar al interior del *Whirlpool*, como se observa en la Figura 4.7.



**Figura 4.7: Vista superior del interior del Whirlpool tras 1 hora de operación. La flecha roja indica las zonas de baja concentración de sólidos aglomerados. Las flechas naranjas indican las zonas de alta concentración de sólidos aglomerados.**

El producto obtenido de este proceso, transcurrido 2 días, presentaba sedimento, de modo que ya no lucía como en la figura indicada. Su apariencia era similar a los otros productos obtenidos, no obstante, hace falta un análisis de concentración de proteínas para evaluar si las propiedades nutricionales se vieron afectadas.

De este modo, se determinó que la decantación es un proceso que tarda demasiado tiempo en cumplir su objetivo para este tipo de producto, debido a la baja densidad de los sólidos que contiene. Por esta razón, la centrifugación parece ser una opción más apropiada que la filtración y decantación. No obstante, se podría considerar el uso de filtración previo a la centrifugación, si es que se logra la formación de un lecho filtrante tras las modificaciones propuestas previamente. A continuación se muestran los resultados obtenidos de las pruebas realizadas mediante separación por centrifugación.

#### **4.3.1.3 Centrifugación**

De las pruebas de centrifugación se obtienen los tamaños de las distintas fases observadas, en centímetros, junto con la apreciación sobre lo compacto de la fase sólida separada, según si la resuspensión se logra tras agitaciones suaves (fácil), medias (media) o vigorosas (difícil).

El resumen de los resultados se encuentra en la Tabla 4.17, en donde las fases se encuentran presentadas en orden de aparición en el tubo de centrifugación desde arriba hacia abajo.

**Tabla 4.17: Tamaño de las fases y dificultad de resuspensión observadas tras distintas condiciones de centrifugación.**

	500 [RPM]	1.000 [RPM]	1.500 [RPM]
5 [min]	F1=0,43[cm] F2=7,69[cm] F3=0,00[cm] F4=0,18[cm] Fácil de resuspender	F1=0,54[cm] F2=6,68[cm] F3=0,44[cm] F4=0,64[cm] Resuspensión media	F1=0,70[cm] F2=6,39[cm] F3=0,92[cm] F4=0,29[cm] Difícil de resuspender
10 [min]	F1=0,30[cm] F2=7,80[cm] F3=0,00[cm] F4=0,32[cm] Fácil de resuspender	F1=0,56[cm] F2=6,34[cm] F3=0,88[cm] F4=0,52[cm] Resuspensión media	F1=0,96[cm] F2=5,55[cm] F3=1,39[cm] F4=0,30[cm] Difícil de resuspender
15 [min]	F1=0,45[cm] F2=7,51[cm] F3=0,00[cm] F4=0,34[cm] Fácil de resuspender	F1=0,72[cm] F2=6,19[cm] F3=0,87[cm] F4=0,52[cm] Resuspensión media	F1=1,31[cm] F2=5,45[cm] F3=1,28[cm] F4=0,26[cm] Difícil de resuspender

Fase 1 (clarificada) en color naranja, fase 2 (sólidos solubles) en color rojo, fase 3 (sólidos insolubles) en color café oscuro, fase 4 (sólidos mayores) en color café claro.

De acuerdo a la bibliografía, el proceso de centrifugado se debe realizar entre 350-450 [g] por 10-15 [min], lo que corresponde, respectivamente a aproximadamente 1.700-1.900 [RPM] para la centrifuga utilizada. Sin embargo, debido a que estos valores están considerados para escala industrial y que, en este proceso la extracción no alcanza lo esperado, por lo que hay partículas de mayor tamaño, se decide trabajar con velocidades inferiores, entre 500-1.500 [RPM].

Al observar los resultados, se aprecia que el uso de 500 [RPM] no genera las 4 fases esperadas en el producto, razón por lo cual se descarta esta condición, puesto que no cuenta con F3 (color café oscuro), que corresponde a la fase de sólidos insolubles, es decir, no estaría separando de la suspensión aquellos sólidos no deseados como proteínas denaturadas.

Por otro lado, se busca que F4 (color café claro) sea de tamaño reducido, pues da indicios de la compactación de los sólidos mayores, asegurando su eliminación completamente. Esto se consigue para las pruebas realizadas a 1500 [RPM]. De hecho, los resultados son concordantes con lo que se esperaba de esta fase, ya que, se observa que a medida que se aumentan las revoluciones, aumenta la compactación de sólidos mayores. Este fenómeno ocurre porque a medida que aumenta la velocidad de giro, la fuerza centrífuga comienza a arrastrar los sólidos hacia el fondo del recipiente.

La evolución del proceso de centrifugado queda en evidencia al analizar F4 a distintas velocidades. Es así como, F4 corresponde a una fase reducida para las 500 [RPM], debido a que no todos los sólidos mayores deben haber sedimentado, luego, a las 1.000 [RPM], esta fase aumenta en tamaño, lo que da indicios de que han sedimentado más sólidos, sin embargo, aún no se encuentran compactados como sí lo están a las 1.500 [RPM]. Esta es otra razón para escoger entre estas últimas pruebas la condición definitiva.

Para definir el tiempo de operación, se observan F3 y F1 (color naranja), ya que, se espera que la primera sea mayor que la segunda. Esto, ya que, si F3 es mayor, gran cantidad de sólidos insolubles están sedimentando, pero sin afectar considerablemente la apariencia del producto, ya que, la clarificación es menor. Claramente el hecho de que esta fase sea mayor podría dar indicios de que no se ha compactado lo suficiente aún, sin embargo, el resultado de que las pruebas a 1.500 [RPM] hayan sido difíciles de resuspender dan a entender que la fase es estable.

De este modo se determina que la combinación que cumple con todo lo anterior corresponde a la combinación de 1.500 [RPM] por 10 minutos. Se descarta la de 5 [min], ya que la diferencia entre F3 y F1 es de 0,22[cm] para este caso, mientras que para los 10 [min] esta corresponde a 0,43 [cm] con F1 de sólo 0,2[cm] de diferencia entre ambas.

Con esta información se puede dimensionar una centrífuga de uso en planta piloto o a nivel industrial, según los flujos con los que se quiera trabajar. De acuerdo al tipo de producto utilizado, pensando en el tamaño de partículas a separar y el contenido de sólidos en él, se puede utilizar una centrífuga de discos de flujo continuo<sup>[71,73]</sup>.

Según lo anterior, y teniendo en consideración las propiedades del fluido, se determina que el equipo debe cumplir con los dos criterios de escalamiento, cualitativo y cuantitativo, poseyendo un coeficiente  $Gt$  de 48.340,92 [s] y relación  $Q/\Sigma$  igual a  $5,10e-8$  [m/s]. Los detalles de los cálculos se aprecian en la sección D.3 del Anexo D.

De este modo, si el volumen a tratar corresponde a 1000 [l/min], es decir, 0,017 [m<sup>3</sup>/s],  $\Sigma_{discos}$  será igual a 326.994,43 [m<sup>2</sup>], con lo que se puede determinar tanto la nueva velocidad angular como el tiempo para que se produzca la separación.

Al incluir una separación por centrifugación, eliminando sólidos insolubles presentes en el producto se podría mejorar la textura del mismo, eliminando gránulos presentes, así como proteínas denaturadas durante el proceso.

## 4.3.2 Eliminación de patógenos e inocuidad

### 4.3.2.1 Tratamiento térmico

En la Figura 4.8 se observa el efecto que tuvo el calentar el producto a 100 [°C], comparándose el efecto antes de aumentar la temperatura y luego de ésto. En ella se ve que tras el hervido, el producto sufre una especie de coagulación, justificada en la denaturación de proteínas. Se forman aglomeraciones de estas proteínas y, en conjunto con los sólidos mayores presentes, comienzan a precipitar. Esta situación conlleva una clarificación del producto, perdiendo proteínas y, por ende, propiedades nutritivas.

El equipo que se utiliza para calentar el producto posee el sensor de temperatura en el centro de la mezcla, mientras que el calor es entregado desde el recipiente hacia el centro de la mezcla. Por ello, al hervir el producto, éste se somete a temperaturas mayores a 100 [°C], debido a que se debe aumentar la temperatura lo suficiente como para que el centro de la solución alcance los 100 [°C]. Como resultado de este proceso se consigue una alta denaturación proteica que afecta tanto la apariencia como las propiedades nutritivas del producto.



**Figura 4.8: Comparación entre producto sin tratamiento térmico (izquierda) y sometido a tratamiento térmico (derecho).**

Este mismo hecho hace cuestionarse el uso de  $\alpha$ -amilasa con actividad de más de 90% entre los 90-110[°C], ya que, su inactivación no se puede asegurar, afectando la estabilidad y reproducibilidad del producto.

A partir de los resultados anteriores se recomienda emplear este tratamiento térmico al producto y sólo considerar una etapa de inactivación enzimática y eliminación de patógenos previo al envasado. En cuanto a la inactivación enzimática, se podría considerar el uso de enzimas cuya actividad enzimática decrezca considerablemente a temperaturas sobre los 80-90 [°C], para que no sea necesario llegar a los 100 [°C] o más en este proceso.

El cambio del tipo de  $\alpha$ -amilasa utilizada a una que posea máxima actividad a temperaturas menores, permitiría potenciar la sinergia entre ellas, pudiendo las 3 actuar relativamente en paralelo durante todo el proceso; al contrario de lo que ocurre bajo las condiciones actuales, en que sólo  $\alpha$ -amilasa posee esta propiedad, siendo las otras dos inactivas sobre los 75-80 [°C].

#### **4.3.2.2 Pasteurización**

De manera alternativa, debido a que se logra programar el equipo de autoclave del laboratorio de procesos de la planta de Temuco, se prueba la pasteurización sometiendo el producto a 72 [°C] por 15 minutos. En este proceso no se observaron cambios en la apariencia final del producto, como se puede ver en la Figura 4.9.

Al comparar la cantidad de sedimento generado en el producto que había sido calentado a 100 [°C] y el que había sido pasteurizado, se observa que, en el primer caso, el sedimento era mayor que en el segundo. Esta situación da a entender que el hervido provocaría mayor denaturación proteica, y por ende, se perdería más producto a la hora de eliminar el sedimento.



**Figura 4.9: Comparación de dos productos: sin pasteurizar (izquierda) y pasteurizado (derecha).**

No se midieron propiedades fisicoquímicas ni organolépticas en este proceso, debido a que las muestras extraídas consideraron pequeños volúmenes que fueron utilizados para otras pruebas o se descompusieron una vez que fueron descongeladas, no pudiendo realizarse la tarea.

Si bien falta evidencia, tanto por lo apreciado en este trabajo y lo que indica la bibliografía<sup>[23,62,66-68]</sup>, se considera la pasteurización como el mejor método de eliminación de patógenos e inactivación enzimática.

#### 4.4 EVALUACIÓN DEL PRODUCTO FINAL

En la Tabla 4.18 y Tabla 4.19 se pueden ver los resultados tras medir las propiedades fisicoquímicas y organolépticas de las dos pruebas realizadas en la planta piloto.

Tras la filtración, PP1 fue sometida a tratamiento térmico a 100 [°C] y posterior decantación, mientras que PP2 fue directamente envasada.

**Tabla 4.18: Propiedades organolépticas y fisicoquímicas de los productos elaborados en la planta piloto.**

	Sólidos solubles [°Bx]	pH (20[°C])	Densidad (20[°C]) [g/cm <sup>3</sup> ]	Sabor	Color	Textura
<b>RO</b>	<b>8-12</b>	<b>6,09-6,81</b>	<b>1,02-1,05</b>	<b>N-MD</b>	<b>1-2</b>	<b>L-G</b>
<b>PP1</b>	7,0	6,61	1,024	MD	1	C
<b>PP2</b>	7,0	6,54	1,033	MD	1	C

**RO:** Rangos objetivo. **SS:** sólidos solubles. **Escala de Sabor:** **A:** amargo, **SA:** semi-amargo, **N:** neutro, **MD:** medianamente dulce; **D:** dulce. **Escala de textura:** **L:** lisa; **G:** granulada, **C:** cremosa; **P:** Pastosa. **PP1:** Prueba en planta piloto 1; **PP2:** Prueba en planta piloto 2. Ambas curvas de maceración comenzaron a 55 [°C] durante 10 [min]. Luego siguieron dos escalones de temperatura, uno a 65 [°C] y otro a 90 [°C]. Para PP1, cada escalón duró 30 [min] y 60 [min], respectivamente. Para PP2 cada escalón duró 40 [min] y 50 [min], respectivamente.

**Tabla 4.19: Propiedades fisicoquímicas de los productos elaborados en la planta piloto.**

	Viscosidad (20[°C]) [g/cm <sup>3</sup> ]	β-glucanos [g/200cm <sup>3</sup> ]	Relación β-glucanos/Viscosidad
<b>RO</b>	<b>1,55-5,05</b>	<b>0,51-1,43</b>	
<b>PP1</b>	5,87	0,145	0,025
<b>PP2</b>	4,58	0,314	0,068

**RO:** Rango objetivo. **PP1:** Prueba en planta piloto 1; **PP2:** Prueba en planta piloto 2. Ambas curvas de maceración comenzaron a 55 [°C] durante 10 [min]. Luego siguieron dos escalones de temperatura, uno a 65 [°C] y otro a 90 [°C]. Para PP1, cada escalón duró 30 [min] y 60 [min], respectivamente. Para PP2 cada escalón duró 40 [min] y 50 [min], respectivamente.

De los resultados se desprende que los sólidos solubles alcanzados son inferiores a los esperados. Un motivo para ello es el problema que presenta la agitación ante la generación de una mezcla homogénea, lo que permite la formación de aglomerados como los que se aprecian en la Figura 4.10.

Al existir tales aglomeraciones, la interacción entre la enzima y el sustrato que se encuentra en el centro de ellas se dificulta por problemas de difusión.

Como la reacción no se cataliza, el rendimiento del proceso disminuye, y se recuperan menos sólidos solubles de los teóricamente esperados.



**Figura 4.10: Presencia de aglomeraciones de avena en el producto final.**

Por otro lado, se aprecia que el producto obtenido posee una textura más cremosa que la obtenida para las pruebas finales a escala de laboratorio. Se piensa que lo anterior se debe a los problemas con la agitación, lo que genera dificultades para la transferencia de masa. Esto afecta en la hidrólisis del almidón, provocando que las cadenas de éste no sean reducidas lo suficiente como para disminuir la viscosidad.

Otra apreciación al respecto es que, en general, no se lograron concentraciones de sólidos solubles mayores a 9 [°Bx]. Esto hace suponer que en los residuos del proceso sigue existiendo alto porcentaje de almidón, los que se podrían aprovechar como subproducto, por ejemplo, como ingrediente para elaborar galletas o barras de cereal.

Todo lo anterior hace suponer que no todo el problema está en la agitación, sino que también hubo problemas con la acción de las enzimas. Por un lado está  $\alpha$ -amilasa, la cual requiere de ion calcio como cofactor en una concentración de al menos 90 [mg/l]<sup>[66]</sup>, mientras que el agua de pozo de Temuco para el mes de agosto del 2015 (poco antes del experimento) cuenta en promedio con una concentración de 4,2 [mg/l]<sup>[74]</sup>. Esta situación explicaría la baja en la concentración de los sólidos solubles presentes en el producto final, así como el rendimiento previo al aplicar presión.

Asimismo, las dosis de enzima a agregar son pequeñas en comparación al volumen de agua utilizado (50 [l]), lo que dificulta su difusión al inicio del proceso. Por otro lado, existe la dificultad de agregar la enzima  $\beta$ -amilasa, que al estar en polvo, debe ser disuelta previamente, asegurando una distribución homogénea en la muestra, lo que era difícil de lograr durante la maceración. Por esto se recomienda preparar la mezcla de enzimas en un volumen pequeño de agua minutos antes de comenzar la maceración, para asegurar que se encuentren disueltas en el agua y así favorecer su difusión en la mezcla.

Debido a que elaborar un producto con textura lisa o granulada, pero sin cremosidad no se logró con las condiciones de operación utilizadas durante este trabajo, se piensa que se podría utilizar este producto como base para elaborar yogurt.

Por otro lado, propiedades como pH, densidad, sabor y color se encuentran dentro de los rangos deseados para ambas pruebas, a pesar de que la prueba 1 fue sometida a 100 [°C] por 1 minuto y la prueba 2 no cuenta con tratamiento térmico de eliminación de patógenos de ningún tipo. Esto daría indicios de la estabilidad del producto frente a estas propiedades.

Para identificar el mejor producto entre los dos evaluados, se mide viscosidad y concentración de  $\beta$ -glucanos. De estos resultados se puede deducir que el *batch* 2 tuvo mejor comportamiento en cuanto a la relación entre concentración de  $\beta$ -glucanos y viscosidad, alcanzando el valor de 0,068, mayor a los 0,025 del *batch* 1. Con esto, el producto del *batch* 2 posee más  $\beta$ -glucanos por unidad de viscosidad que el producto del *batch* 1, lo que en términos de textura y propiedades saludables es favorable.

Por lo anterior, se recomienda utilizar un proceso que conduzca a la elaboración de un producto similar al obtenido según las condiciones de PP2. Esto, ya que, a pesar de las diferencias en las etapas finales, es el producto que mejor se adapta a lo que será el diseño final del proceso propuesto por los resultados expuestos en este trabajo.

Por otro lado, en la Tabla 4.20 se aprecian los resultados de contenido de  $\beta$ -glucanos en 3 etapas del proceso: durante el primer escalón de temperatura (55 [°C]), post-filtrado y producto final. Para este análisis se debe tener en consideración que se usa la misma harina para ambos, por lo que se asume que ambas mezclas deben alcanzar similar concentración final de  $\beta$ -glucanos.

**Tabla 4.20: Contenido de  $\beta$ -glucanos en distintas etapas del proceso.**

Prueba	Muestra	$\beta$ -glucanos [g/200cm <sup>3</sup> ]	$\beta$ -glucanos [g/100g]
<b>Materia Prima</b>	Harina		4,528
<b>Objetivo</b>	Extracción 100%	1,132	
<b>PP1</b>	Inicio maceración	0,337	-
	Post-filtrado	0,380	-
	Producto final	0,145	0,551
<b>PP2</b>	Inicio maceración	0,392	-
	Post-filtrado	0,335	-
	Producto final	0,314	0,775

**PP1:** Prueba en planta piloto 1, **PP2:** Prueba en planta piloto 2.

De los resultados expuestos, se observa que la harina utilizada cuenta con 4,53% de  $\beta$ -glucanos, cercano a los 5% promedio que posee el grano de avena. Por lo tanto, si es que la extracción tuviera un rendimiento del 100%, la concentración final debiera ser de 1,13 [g/200cm<sup>3</sup>], 34% mayor que lo que establece la norma de alimentos saludables.

A pesar de lo anterior, se observa que durante el inicio de la maceración, la concentración de  $\beta$ -glucanos es poco más del 30% de lo contenido en el grano. Luego, se esperaba que la concentración fuera en aumento, pensando que al degradarse más el almidón, se liberaría más  $\beta$ -glucanos. Sin embargo, para PP1 hubo una disminución considerable de la concentración del polímero en la última etapa medida, mientras que para PP2 la concentración de  $\beta$ -glucanos fue disminuyendo a medida que se avanzaba en el proceso.

La disminución en la concentración de  $\beta$ -glucanos de más del 60% en el producto final conseguido por la condición de PP1 se explica debido al proceso de hervido al que fue sometida, lo que altera la formación molecular del polímero, pudiendo degradarlo y por lo tanto, disminuir su concentración. Esto se comprueba al evaluar el blanco de la reacción, el cual presentó una alta absorbancia, dando indicios de presencia de moléculas de glucosa en solución, que no pertenecía a los  $\beta$ -glucanos medidos (ver sección D.4, Anexo D). A pesar de lo anterior, debido a que la PP2 no tuvo proceso térmico, no se puede concluir que la pasteurización no tuviera un efecto similar en la concentración de  $\beta$ -glucanos. Por otro lado, la disminución en la concentración de  $\beta$ -glucanos para la condición PP2 se puede explicar en la pérdida de producto que existe entre un proceso y otro.

Si bien la extracción de  $\beta$ -glucanos no alcanza el rendimiento máximo, se puede apreciar que, si es que se logra que la pérdida de  $\beta$ -glucanos sea mínima, la concentración obtenida será poco menos de la mitad de lo establecido por la norma de alimentos saludables.

La validez del kit se confirma al obtener valores esperados en la cuantificación de  $\beta$ -glucanos en las harinas utilizadas. Por otro lado, se considera que los puntos en los que este parámetro se debe medir corresponden a: la materia prima, para tener en consideración la cantidad de  $\beta$ -glucanos potenciales a obtener; la mezcla inicial y el producto final, para monitorear la evolución de este parámetro durante el proceso, esperando que aumente, o al menos se mantenga, desde la primera etapa a la última.

De acuerdo a todo lo anterior, se debe decir que el proceso evaluado a escala piloto no entrega resultados totalmente satisfactorios, en particular en la eliminación de sólidos mayores e insolubles. Asimismo, se debe tener cuidado con el tratamiento térmico que se realice al producto para inactivar enzimas y eliminar patógenos, para evitar la alteración de las propiedades nutritivas del producto, debido a la denaturación de proteínas.

## 5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

---

La metodología empleada permite adaptar preliminarmente el proceso de elaboración de leche de avena a los equipos disponibles en la empresa, cambiando las etapas de centrifugación y pasteurización por hervido y decantado, y eliminando otras como la formulación del producto y la homogeneización. Asimismo, el definir las propiedades del producto objetivo en base a productos ya comercializados, sumado a la información recopilada previamente, facilita el diseño del proceso final, ya que, establece una guía para poder descartar o mejorar condiciones de operación.

La combinación de enzimas a utilizar debe poseer:  $\alpha$ -amilasa, que permite disminuir considerablemente la viscosidad del producto,  $\beta$ -amilasa, para aportar en dulzor y pululanasa que desramifica la amilopectina, favoreciendo la degradación del almidón. La concentración de  $\alpha$ -amilasa,  $\beta$ -amilasa y pululanasa que según las condiciones definida permite obtener los mejores resultados corresponde a 187,5 [FAU/ml], 5.000 [DP°/ml] y 412,5 [PU/ml], respectivamente.

Las condiciones de proceso evaluadas que permiten conseguir mejores resultados consideran el uso de grano de avena pelada y estabilizada, molida de modo que sobre el 50% posea tamaño menor a 850 [ $\mu$ m]. Para la maceración se debe agregar 8 [l] de agua por cada kilogramo de avena junto a la concentración de enzimas establecida. La curva de maceración incluye una etapa de gelatinización a 55 [°C] y dos de incubación de enzimas a 65 [°C] y 90 [°C], de 10, 40 y 50 minutos de duración, respectivamente.

El producto obtenido posee propiedades fisicoquímicas y organolépticas cercanas a las determinadas por los productos de referencia, salvo en sólidos solubles, concentración de  $\beta$ -glucanos y textura. Por ello, se recomienda replicar los experimentos desarrollados, para considerar un análisis estadístico y optimizar el proceso aquí presentado, buscando principalmente aumentar el rendimiento en la extracción y la concentración de  $\beta$ -glucanos.

La baja concentración de sólidos solubles indica que en los residuos hay alta presencia de almidón, por lo que podrían considerarse un subproducto útil para la elaboración de galletas o barras de cereal de avena. En la misma línea, dado que todos los productos obtenidos presentaron cierta cremosidad, se plantea la posibilidad de elaborar yogur agregando una etapa de fermentación luego de la separación de sólidos.

Las condiciones del proceso de elaboración permiten recuperar hasta el 17% de la cantidad de  $\beta$ -glucanos desde la harina inicial al producto final. Esto corresponde a casi el 42% de los 0,75 [g/porción] que estima la norma chilena es necesaria para considerar que un alimento es saludable. Para mejorar el bajo desempeño de la extracción de  $\beta$ -glucanos se recomienda descartar

calentar el producto a más de 90 [°C] por tiempos prolongados, ya que, afectan la estructura del polímero. Por ello, se propone cambiar la enzima  $\alpha$ -amilasa por una cuya temperatura de máxima actividad se encuentre cercana a la de  $\beta$ -amilasa y pululanasa. De este modo, las enzimas actuarían simultáneamente, mejorando la extracción y evitando la exposición del producto a altas temperaturas.

El kit de Megazyme utilizado para cuantificar  $\beta$ -glucanos entrega una buena medición de la concentración y cantidad de  $\beta$ -glucanos en el producto. Las etapas del proceso en las que se recomienda cuantificar  $\beta$ -glucanos son: la recepción de materia prima, durante el principio de la maceración y al producto final. De este modo se puede saber cómo evoluciona la extracción durante el proceso desarrollado. Según los resultados de este trabajo, al menos se debe lograr extraer el 12% del contenido de  $\beta$ -glucanos de la avena.

La planta piloto no alcanza a cumplir con las exigencias técnicas para elaborar leche de avena. Por un lado, los equipos de separación de sólidos no son aptos para el producto que se quiere obtener, y por otro lado, se requiere de un equipo especializado en pasteurización para asegurar la eliminación de patógenos sin perder propiedades deseadas en el producto.

El uso de grano de avena pelado y estabilizado dificulta el proceso de filtrado debido a la ausencia de cáscara que promueva la formación de lecho filtrante compresible. Por ello, se recomienda evaluar agregar cascarilla de avena como ayuda filtrante una vez concluida la maceración. La decantación se descarta, ya que, requiere de calentar el producto a 100 [°C] y tarda más de dos horas en cumplir su objetivo.

Se recomienda utilizar una etapa de centrifugación para la separación de sólidos. Los parámetros característicos determinados para una posible centrifuga de discos de flujo continuo, para escala industrial, corresponden a  $Gt$  de 48.340,92 [s] y relación  $Q/\Sigma$  de  $5,10e-8$  [m/s].

El proceso diseñado finalmente consiste en 4 etapas: molienda, maceración, centrifugación y pasteurización. La filtración se puede considerar una etapa complementaria a la centrifugación si es que se logra mejorar su efectividad en la eliminación de sólidos mayores.

Por último, se concluye que las condiciones de operación definidas en este trabajo requieren ser optimizadas para conseguir elaborar un producto que mantenga sus características funcionales, además de mejor textura y mayor rendimiento.

## 6 BIBLIOGRAFÍA

---

1. Maltexco S.A. Historia. [en línea] <<http://www.maltexco.com/#historia>> [Consulta: 23 de Agosto de 2015]
2. MaltexcoFood. Productos MaltexcoFood. [diapositivas] 51 diap.
3. MaltexcoFood. Procesos. [en línea] <<http://www.maltexcofood.com/#procesos>> [Consulta: 23 de Agosto de 2015]
4. PatagoniaMalt. Procesos. [en línea] <<http://www.patagoniamalt.com/#>> [Consulta: 23 de Agosto de 2015]
5. Sepúlveda, Macarena. Desarrollo de Nuevos Productos en Base a a Cebada para Maltexco S.A. Tesis (Título de Ingeniero de Ejecución en Química). Santiago, Chile. USACH. 121 h.
6. Real Academia Española. Extracto. [en línea] <<http://buscon.rae.es/drae/srv/search?id=ly3BLZi7GDXX27I4UGUL>> [Consulta: 23 de Agosto de 2015]
7. Organización Mundial de la Salud. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. [en línea] Ginebra. <[http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO\\_TRS\\_916\\_spa.pdf](http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_916_spa.pdf)> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
8. Fundación Chile et. al. Chile saludable: oportunidades y desafíos de innovación, Volumen 2. [en línea] <<http://www.fch.cl/wp-content/uploads/2015/01/ESTUDIO-CHILE-SALUDABLE-VOLUMEN-II.pdf>> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
9. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. ¿Qué es la agricultura orgánica? [en línea] <<http://www.fao.org/organicag/oa-faq/oa-faq1/es/>> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
10. Decreto N°977. Chile. Reglamento Sanitario de los Alimentos. Ministerio de Salud. Santiago, Chile. 13 de mayo de 1997. 179p.
11. Ley 20.606. Chile. Composición nutricional de los alimentos y su publicidad. Ministerio de Salud, Subsecretaría de Salud Pública. Santiago, Chile. 06 de Julio de 2015.

12. Resolución N° 764. Chile. Que aprueba normas técnicas sobre directrices nutricionales para la declaración de propiedades saludables de los alimentos. Ministerio de Salud, Instituto de Salud Pública. Santiago, Chile. 03 de febrero de 2011.
13. Ministerio de Salud. Políticas Públicas en Alimentación y Nutrición. [en línea] <[http://web2.minsal.cl/alimentos\\_nutricion](http://web2.minsal.cl/alimentos_nutricion)> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
14. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. Leches y Derivados. [en línea] <<http://www.odepa.cl/rubro/leche-y-derivados/>> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
15. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. Boletín de la leche: producción, recepción, precios y comercio exterior. [en línea] <[http://www.odepa.cl/wp-content/uploads/2015/05/informe\\_lacteo\\_0620151.pdf](http://www.odepa.cl/wp-content/uploads/2015/05/informe_lacteo_0620151.pdf)> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
16. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Situación de la Lechería en América Latina y el Caribe en 2011. [en línea] <[http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM\\_MARKETS\\_MONITORING/Dairy/Documents/Paper\\_Lecher%C3%ADa\\_AmLatina\\_2011.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Dairy/Documents/Paper_Lecher%C3%ADa_AmLatina_2011.pdf)> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
17. Tetra Pack. Índice Lácteo 201: innovar y comunicar para revitalizar la leche. [en línea] <<http://www.tetrapak.com/cl/about/newsarchive/indice-lacteo-2015-innovar-y-comunicar-para-revitalizar-la-leche>> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
18. Ministerio de Salud. Encuesta Nacional de Consumo Alimentario. [en línea] <<http://web.minsal.cl/sites/default/files/ENCA.pdf>> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
19. Ministerio de Salud. Encuesta Nacional de Salud ENS Chile 2009-2010- [en línea] <<http://web.minsal.cl/portal/url/item/bcb03d7bc28b64dfe040010165012d23.pdf>> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
20. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Producción y productos lácteos. [en línea] <<http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/leche-y-productos-lacteos/es/#.VnmqLPnhDIW>> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]

21. Uribe, Ignacia. Chile: resultados del primer censo vegetariano. [en línea] <<http://www.vegetarianoschile.cl/chile-resultados-del-primer-censo-vegetariano/>> [Consulta: 14 de Diciembre de 2015]
22. Oyarzún Falfán, Soledad Andrea. Estudio de Actitud del Consumidor Frente a la Leche y Productos Lácteos. Tesis para optar al grado de Licenciado en Ingeniería en Alimentos. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile. 2004. 147p.
23. Mäkinen, Outi Elina et al. Foods for Special Dietary Needs: Non-Dairy Plant Based Milk Substitutes and Fermented Dairy Type Products. Food, Science and Nutrition. Febrero, 2015.
24. Yañez, Cecilia. El 25% de los chilenos sufre de intolerancia a la lactosa- [en línea] La tercera en internet. 24 de julio de 2011. <<http://diario.latercera.com/2011/07/24/01/contenido/tendencias/16-77633-9-el-25-de-los-adultos-chilenos-sufre-de-intolerancia-a-la-lactosa.shtml>> [Consulta: 14 de Diciembre de 2015]
25. Clínica Las Condes. Alergia a la Proteína de Vaca. [en línea] <<http://www.clc.cl/CENTROS-Y-ESPECIALIDADES/Especialidades/Pediatrica/Edad-por-Edad/Ninos-de-0-a-1-Año/Alergia-a-la-proteina-de-leche-de-vaca.aspx>> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
26. Jumbo. Leches especiales. [en línea] <<http://www.jumbo.cl/FO/CategoryDisplay?cab=4006&int=3806&ter=4672>> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
27. LUKI, Alternativas saludables. Leches y cremas vegetales. [en línea] <<http://www.luki.cl/1008-leches-y-cremas-vegetales>> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
28. Valenzuela, Alfonso. et. al. Alimentos funcionales, nutraceuticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación?. [en línea] Revista chilena de nutrición. Jun. 2014. Vol. 41 N°2. <[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182014000200011](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182014000200011)> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
29. Departamento de Estadísticas e Información de Salud. Esperanza de vida al nacer (en años), según sexo, por quinquenios comprendidos entre los años 1950 y 2025. [en línea] <[http://deis.minsal.cl/deis/ev/esperanza\\_de\\_vida/esperanza\\_de\\_vida\\_por\\_quinquenios\\_sexo.htm](http://deis.minsal.cl/deis/ev/esperanza_de_vida/esperanza_de_vida_por_quinquenios_sexo.htm)> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]

30. Organización Mundial de la Salud. Chile. [en línea] <[http://www.who.int/nmh/countries/chl\\_en.pdf?ua=1](http://www.who.int/nmh/countries/chl_en.pdf?ua=1)> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
31. Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica. Alimentos funcionales. [en línea] <<http://www.conicyt.cl/fondef/lineas-de-programa/programas-tematicos/alimentos-funcionales/>> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
32. Departamento de Estadísticas e Información de Salud. Esperanza de vida. [en línea] <[http://www.deis.cl/?page\\_id=683](http://www.deis.cl/?page_id=683)> [Consulta: 21 de Diciembre de 2015]
33. Chandan, Ramesh C., Kilara, Arun y Shah, Nagendra P. Dairy Processing & Quality Assurance. Estado Unidos. Wiley-Blackwell. 2008. 589p.
34. Kulp, Karel y Ponte, Joseph G. Handbook of Cereal Science and Technology. 2da Edición. Headquarters. 2000. 785p.
35. Matz, Samuel. The Chemistry and Technology of Cereals as Food and Feed. 2da Edición. 1991. 755p.
36. Quaker Oats. What are wholegrains? [en línea] <<https://www.quaker.co.uk/healthy-living/what-are-wholegrains>> [Consulta: 20 de enero de 2016]
37. Hernández Rodríguez, M. Sastre Gallego, A. Tratado de Nutrición. Madrid. Díaz de Santos. 1999. 1496p.
38. BeMiller, James. Whistler, Roy. Starch: Chemistry and Technology 3rd Edition. Estados Unidos. Elsevier. 2009. 875p.
39. Edualimentaria. Hidratos de carbono (carbohidratos). Características y propiedades, parte 1. [en línea] <[http://www.edualimentaria.com/images/hidratos\\_de\\_carbono/amilosa\\_a\\_milopectina.jpg](http://www.edualimentaria.com/images/hidratos_de_carbono/amilosa_a_milopectina.jpg)> [Consulta: 22 de Diciembre de 2015]
40. Ronco, Ana María. La Nutritiva y Saludable Avena. Indualimentos: 76-78, junio 2013.
41. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Los carbohidratos en la nutrición humana. FAO. Roma, 1999. 154p.
42. Gil, Angel. Tratado de Nutrición. 2da edición. Madrid. Médica Panamericana. 2010. 786p.

43. Fitzsimmons, Robert. Oh, What Those Oats Can Do. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol. (11): 56-99, 2012.
44. Food and Drug Administration. Título 21 – Food and Drugs. [en línea] <<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=101.81>> [Consulta: 24 de Agosto de 2015]
45. McQuate, Robert y Soni, Madhusudan G. Gras Assessment of Oat  $\beta$ -Glucan – B-CAN™ [en línea] <<http://www.fda.gov/ucm/groups/fdagov-public/@fdagov-foods-gen/documents/document/ucm316626.pdf>> [Consulta: 23 de Agosto de 2015]
46. Othman, Rgia A et al. Cholesterol-lowering effects of oat  $\beta$ -glucan. Nutrition Reviews. Vol. (69): 299-309. Junio, 2011.
47. Tapola, N et al. Glycemic responses of oat bran products in type 2 diabetic patients. Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases. Vol (15), Issue 4: 255-261. Agosto, 2005
48. Wood, Peter J. Cereal  $\beta$ -glucans in diet and health. Journal of Cereal Science. Vol. (46), Issue 3: 230-238. Noviembre, 2007.
49. Choudhary, Pratik. Review of dietary recommendations for diabetes mellitus. Diabeteer Research and Clinical Practice. Vol.(65): S9-S15. Septiembre, 2004.
50. Labbe Exportaciones Limitada. Ficha técnica avena grano cubierto (con cáscara). [en línea] <<http://www.labbexport.cl/downloads/avenaentera.pdf>> [Consulta: 22 de Diciembre de 2015]
51. Labbe Exportaciones Limitada. Ficha técnica avena pelada y estabilizada. [en línea] < <http://www.labbexport.cl/downloads/avenaestabilizada.pdf>> [Consulta: 22 de Diciembre de 2015]
52. Austral Granos. Ficha técnica de salvado de avena. [en línea] <[http://www.australgranos.cl/wp-content/themes/australgranos/fichas/FICHA\\_07\\_SALVADO\\_DE\\_AVENA.pdf](http://www.australgranos.cl/wp-content/themes/australgranos/fichas/FICHA_07_SALVADO_DE_AVENA.pdf)> [Consulta: 22 de Diciembre de 2015]
53. SELF Nutrition Data. Oat Bran, raw. [en línea] <<http://nutritiondata.self.com/facts/cereal-grains-and-pasta/5703/2>> [Consulta: 03 de Marzo de 2016]
54. Hernández Peñaranda, Alicia. Microbiología Industrial. 2003. 266p.

55. García Garibay, Mariano et al. Biotecnología Alimentaria. Editorial Limusa S.A. México, 2004. 637p.
56. Peña Montes, Carolina. Quirasco Baruch, Maricarmen. ¿Enzimas en los alimentos? Bioquímica de lo comestible. [en línea] <<http://www.revista.unam.mx/vol.15/num12/art94/>> [Consulta: 22 de Diciembre de 2015]
57. Rodríguez Silva, Camila Catalina. Elaboración de colorantes naturales a partir de extractos de cebada y derivados. Trabajo de título para obtener el título de Ingeniero de Ejecución en Química. Santiago, Chile. Universidad de Santiago de Chile.2014. 102p.
58. López, Eva. Cómo hacer leche de avena. [en línea] <<http://comida.uncomo.com/receta/como-hacer-leche-de-avena-25627.html>> [20 septiembre de 2015]
59. Rodríguez Rivera, Víctor Manuel y Simón Magro, Edurne. Bases de la alimentación humana. Netbiblo S.L. España. 2008. 568p.
60. Electrodomesta. Molinillo Fagor ML2006X. [en línea] <[http://www.electrodomesta.es/es/menaje\\_hogar/molinillo\\_fagor\\_ml2006x.php](http://www.electrodomesta.es/es/menaje_hogar/molinillo_fagor_ml2006x.php)> [Consulta: 22 de Diciembre de 2015]
61. Engineering Statiscs Handbook. What are Taguchi designs? [en línea] <<http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/pri/section5/pri56.htm>> [Consulta: 23 de Septiembre de 2015]
62. Cereal Base Ceba Ab. Non-diary, ready-to-use milk substitute, and products made therewith. U.S Patent. US 6.451.369 B1. Septiembre, 2007.
63. Veco. Alfa-Amilasa Enzima. [documento de texto] Veso SPA. Santiago, Chile. 2015. 2p.
64. Veco. Maltozym. [documento de texto] Veso SPA. Santiago, Chile. 2015. 2p.
65. Veco. Puluzym. [documento de texto] Veso SPA. Santiago, Chile. 2015. 2p.
66. The United States of America, as represented by the Secretery of Agriculture. Method for making a soluble dietary fiber composition from oats. U.S. Patent. US. 4.996.063. Febrero, 1991.
67. Lindahl et al. Homogeneous and stable cereal suspension and a method of making the same. U.S.Patent. US 5.686.123.Noviembre, 1997.

68. A.G.V. Products Corp. Oligo-saccharide enhanced oat-based drink for treating hyperlipidaemia and hyperglycemia and improving gastrointestinal function and process for preparing the same by tri-enzyme hydrolysis and micro-particle milling. U.S. Patent. US 8.333.986 B2. Diciembre, 2012.
69. Perry, Robert H y Green, Don W. Perry's chemical engineers' handbook. 8va. Edición. Mc.Graw Hill. 2008. 2735p.
70. Ministerio de Salud. Guía de alimentación del niño (a) menor de 2 años y guías de alimentación hasta la adolescencia. [documento de texto] Dpto de nutrición y ciclo vital. 2005. 72p.
71. Doran, P. Bioprocess Engineering Principles. Academic Press, 1995.
72. Organización mundial de la Salud. 10 Aspectos relativos a la aceptabilidad. [en línea] <[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_10.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_10.pdf)> [Consulta 29 de Febrero de 2016]
73. Belter, Paul a. Cussler, E. L. Hu, Wei-Shou. Bioseparations: downstream processing for biotechnology. John Wiley and Sons. 1988.
74. Dirección General de Agua. Parámetros fisico-químicos, Temuco. [hoja de datos] 3 hojas.

## **ANEXOS**

---

## Anexo A. Fragmento de Resolución N°764 Secretaría de Salud

A continuación se muestra el fragmento de la Resolución N°764, Normas técnicas sobre directrices nutricionales para declarar propiedades saludables de los alimentos<sup>1</sup>, asociado a la fibra dietética.

Requisitos obligatorios			
Asociación	Descriptor, artículo 120 del RSA <sup>2</sup>	Condiciones específicas	Marco para los mensajes
<b>5.-Fibra dietética y cáncer</b>	"Buena fuente de fibra dietética" o "alto en fibra dietética" – Ambos sin fortificación "Bajo aporte en grasa total"	El alimento es o contiene leguminosas, cereales integrales, frutas o verduras.	Las dietas bajas en grasa total y que contienen alimentos con elevado contenido con fibra dietética. Como son las leguminosas, cereales integrales, frutas y verduras, pueden reducir el riesgo de algunos tipos de cánceres. El desarrollo de cáncer está asociado a numerosos factores de riesgos.
<b>6.-Fibra dietética soluble (β-glucanos de avena, cebada y psyllium) y enfermedades cardiovasculares</b>	"Bajo aporte en grasa total" "bajo aporte en grasas saturadas" "Bajo aporte de colesterol" "Libre de ácidos grasos trans"	Contiene al menos 0,75 g de <b>fibra soluble, sin fortificación</b> . El alimento es o contiene leguminosas, cereales integrales (β-glucanos de avena, cebada y psyllium), frutas o verduras. <u>Para el uso de este mensaje se usará la siguiente definición de <b>Fibra dietética</b>: se entenderá por fibra dietética o alimentaria, polímeros de hidratos de carbono con 10 o más unidades monoméricas que no son digeridas ni absorbidas en el intestino</u>	Dietas bajas en grasa total, grasa saturada y colesterol, sin ácidos grasos trans y con fibra dietética particularmente fibra soluble presente en leguminosas, cereales integrales (β-glucanos de avena, cebada y psyllium), frutas y verduras pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Las enfermedades cardiovasculares están asociadas con numerosos factores de riesgo. Los alimentos que tengan psyllium deben incluir en el mensaje una advertencia

<sup>1</sup> Ministerio de Salud, Normas técnicas sobre directrices nutricionales para declarar propiedades saludables de los alimentos. Resolución 764, 03 de febrero del 2011<sup>[12]</sup>.

<sup>2</sup> RSA=Reglamento Sanitario de los Alimentos.

Requisitos obligatorios			
Asociación	Descriptor, artículo 120 del RSA <sup>2</sup>	Condiciones específicas	Marco para los mensajes
		<p>delgado humano y que pertenece a las siguientes categorías;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Polímeros de carbohidratos comestibles que se encuentran naturalmente en los alimentos en la forma en que se consumen.</li> <li>• Polímeros de carbohidratos obtenidos de materias primas alimentarias, por medios físicos, químicos o enzimáticos y que se haya demostrado que tienen un efecto fisiológico o un beneficio para la salud, mediante evidencia científica.</li> <li>• Polímeros de carbohidratos sintéticos, que se haya demostrado que tienen un efecto fisiológico o un beneficio para la salud, mediante evidencia científica.</li> <li>• Cáscara de semilla de psyllium debe tener mínimo 1,7 g. de fibra soluble de 0,95% de pureza.</li> <li>• Los alimentos que tengan psyllium deben incluir en el mensaje una advertencia que diga: "este alimento debe ser consumido con ... ml. de agua.</li> </ul>	que diga: "este alimento debe ser consumido con ... ml. de agua.

# Anexo B. Proceso de elaboración de leche de vaca

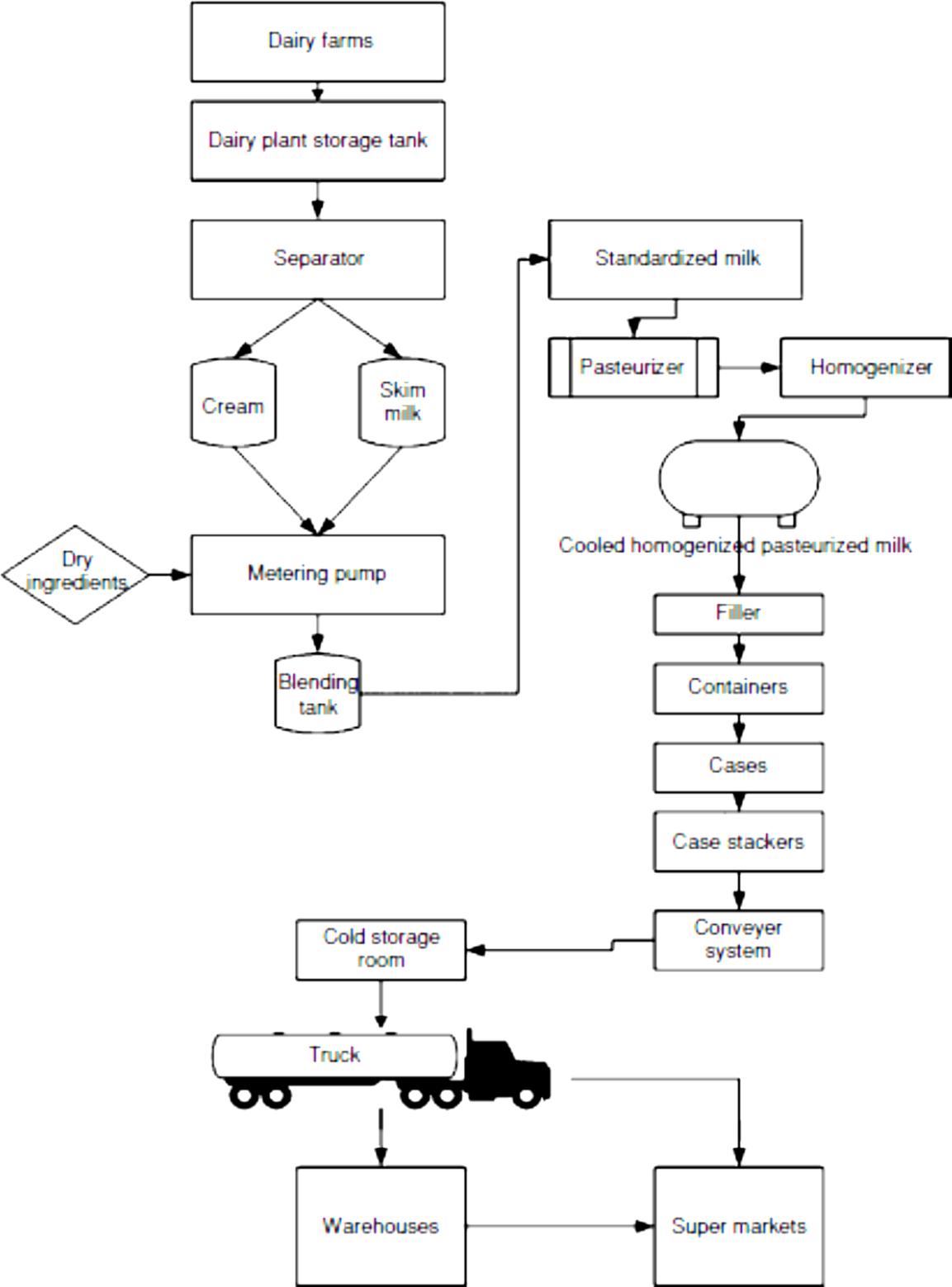


Figura 1: Recorrido de la leche desde la granja al supermercado. Original<sup>[33]</sup>.

## Anexo C. Información complementaria a la metodología

### C.1. Protocolos y cálculos asociados

#### I. Rendimiento del proceso

En la ecuación (1) se explicita cómo se calcula el rendimiento en base húmeda ( $\%Y_{BH}$ ) y en la ecuación (2) el cómo se calcula el rendimiento en base seca ( $\%Y_{BS}$ ).

$$\%Y_{BH} = \frac{\text{masa sólidos totales}}{\text{masa sólidos iniciales}} \cdot 100 \approx \frac{SS \cdot VFF}{SI} \quad (1)$$

$$\%Y_{BS} = \frac{\text{masa sólidos totales}}{\text{masa sólidos iniciales en base seca}} \cdot 100 \approx \frac{SS \cdot VFF}{SI(1 - H)} \quad (2)$$

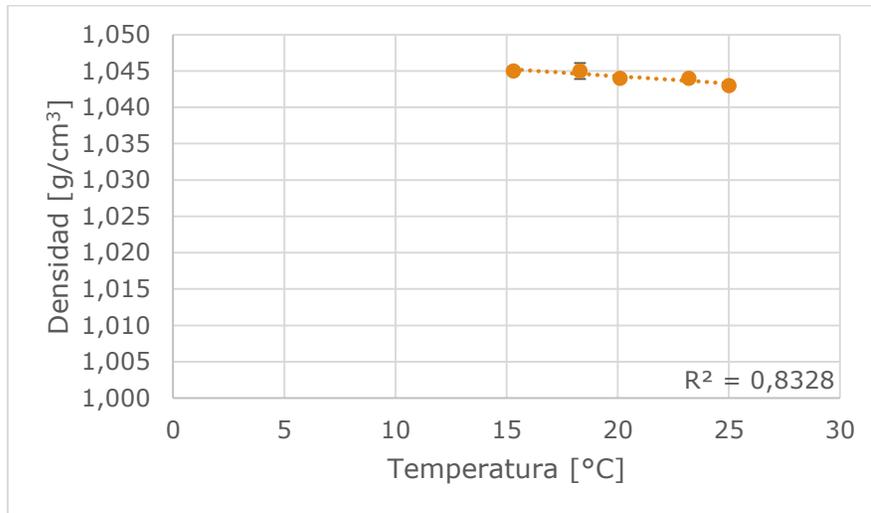
En las ecuaciones,  $SS$  representa los sólidos solubles finales, en [g/100g],  $VFF$  el volumen final recuperado tras la filtración, en [ml],  $SI$  la masa de materia prima agregada inicialmente, en [g] y  $H$  la humedad medida para la harina utilizada, en [%].

#### II. Densidad

En la Tabla 1 se observan las mediciones de densidad registradas a distintas temperaturas, su promedio y desviación estándar asociada. Por otro lado, la Figura 1 muestra el gráfico de la densidad vs. temperatura., desde donde se aprecia como la densidad del producto se mantiene casi constante en el rango de temperaturas medidos, lo que permite establecer que el efecto de ésta es irrelevante en la densidad del producto para el rango medido.

**Tabla 1: Densidad del producto (medida con picnómetro) a distintas temperaturas.**

Temperatura [°C]	Densidad [g/cm <sup>3</sup> ]		Densidad Promedio [g/cm <sup>3</sup> ]	Desv. Estándar
	Medición 1	Medición 2		
<b>15,3</b>	1,044	1,045	1,045	0,5e-3
<b>18,3</b>	1,046	1,044	1,045	1,1e-3
<b>20,1</b>	1,044	1,044	1,044	0,0e-3
<b>23,2</b>	1,043	1,044	1,044	0,3e-3
<b>25,0</b>	1,043	1,043	1,043	0,0e-3



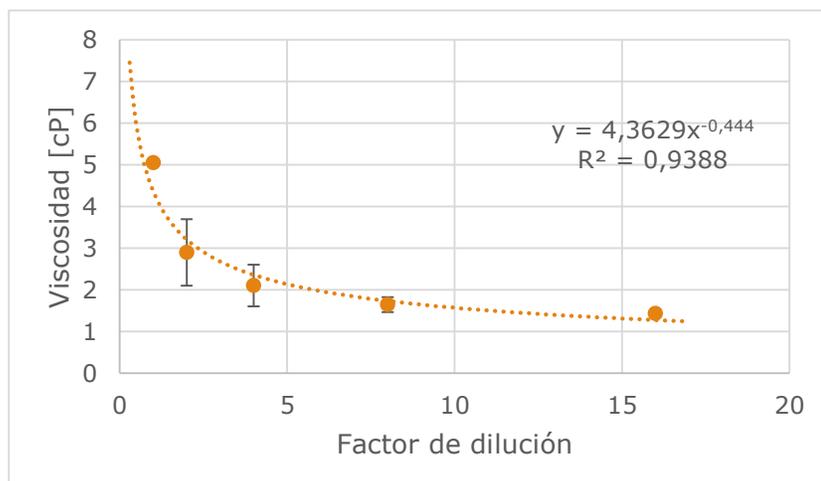
**Figura 1: Gráfico de densidad vs. temperatura. Ajustado según una curva exponencial.**

### III. Viscosidad

Para trabajar con diluciones, se realizó una curva de calibración utilizando la leche marca *Pacific* como referencia, cuyos datos se pueden observar en la Tabla 2 y cuyos resultados gráficos se aprecian en el Figura 2.

**Tabla 2: Medidas de la viscosidad de leche comercial Pacific para distintas diluciones.**

Factor de dilución	Densidad [g/cm³]	Viscosidad [cP]			Visc. Promedio [cP]	Desv. Est.
		Medida 1	Medida 2	Medida 3		
<b>1</b>	1,046	5,094	5,040	5,014	5,049	0,04
<b>2</b>	1,023	2,501	2,370	3,818	2,896	0,80
<b>4</b>	1,019	1,749	2,457	-	2,103	0,50
<b>8</b>	1,014	1,605	1,489	1,842	1,645	0,18
<b>16</b>	1,001	1,526	1,371	1,411	1,436	0,08



**Figura 2: Gráfico de viscosidad vs. factor de dilución para leche comercial Pacific.**

La determinación de viscosidad del producto evaluado se estima utilizando la ecuación (3), en donde,  $Viscosidad_{Referencia}$  corresponde a la viscosidad del producto de referencia (leche marca *Pacific*), diluido 5 veces y  $Viscosidad_{Evaluado}$  la viscosidad del producto evaluado, diluido 5 veces, en [cP].

$$\% \Delta Viscosidad = \frac{Viscosidad_{Referencia} - Viscosidad_{Evaluado}}{Viscosidad_{Referencia}} \cdot 100 \quad (3)$$

$Viscosidad_{Referencia}$  corresponde a 2,14 [cP], valor obtenido tras utilizar la curva ajustada,

#### **IV. Buffers necesarios para medir $\beta$ -glucanos**

A continuación se detalla el procedimiento para preparar los 3 *buffers* utilizados en la determinación de la concentración de  $\beta$ -glucanos en materia prima y producto.

- 1. Buffer sodio fosfato (20 [mM], pH 6,5):** Disolver 1,38 [g] de ortofosfato dihidrogenado hidratado ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) en 400 [ml] de agua destilada. Luego ajustar pH con hidróxido de sodio (NaOH) 100 [mM]. Ajustar volumen a 500 [ml] y, por último, agregar 0,1 [g] de azida de sodio ( $\text{NaN}_3$ ).
- 2. Buffer acetato de sodio (50 [mM], pH 4,0):** Disolver 1,38 [ml] de ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) al 100% en 400 [ml] de agua destilada. Ajustar pH con NaOH 1 [M]. Ajustar volumen a 500 [ml] y, por último, agregar 0,1 [g] de  $\text{NaN}_3$ .
- 3. Buffer acetato de sodio (200 [mM], pH 4,0):** Disolver 5,52 [ml] de ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) al 100% en 400 [ml] de agua destilada. Ajustar pH con NaOH 1 [M]. Ajustar volumen a 500 [ml] y, por último, agregar 0,1 [g] de  $\text{NaN}_3$ .

#### **V. Medición de $\beta$ -glucanos en muestras sólidas (para harinas de avena y cebada y muestras de fibra)**

Para determinar la cantidad de  $\beta$ -glucanos en muestras sólidas se sigue el siguiente protocolo entregado por el proveedor del kit (Megazyme).

1. Moler aproximadamente 50 [g] de avena que atraviese un tamiz de 0,5[mm].
2. Agregar entre 100 [mg], medidos cuidadosamente, a un tubo de vidrio para centrífuga. Asegurarse que toda la muestra quede al fondo del tubo.
3. Humedecer la muestra con 0,2 [ml] de etanol 50% v/v para ayudar a la dispersión. Agregar 4 [ml] de *buffer* de fosfato de sodio 20 [mM] a pH 4 y revolver en un *vortex*.

4. Inmediatamente colocar el tubo en un baño de agua hirviendo por 60 [s]. Revolver vigorosamente en un *vortex* e incubar a 100 [°C] durante 2 [min] y volver a revolver.
5. Incubar el tubo y su contenido a 50 [°C] y dejar equilibrar por 5 [min].
6. Agregar 0,2 [ml] de enzima liquenasa previamente alicuotada. Agitar y sellar tubo con *parafilm*. Incubar durante 1 hora a 50 [°C]. Agitar 3–4 veces durante la incubación.
7. Agregar 5[ml] de *buffer* acetato de sodio (200 [mM], pH 4,0) y agitar en vórtex.
8. Dejar enfriar a temperatura ambiente por 5 minutos y luego centrifugar a 1.000 g (2.700 [RPM]) por 10 minutos. Alicuotar 0,1 [ml] en tubos de ensayo, en triplicado.
9. A dos de los tubos, agregar 0,1 [ml] de β-glucosidasa, el tercero dejarlo como blanco, y en vez de enzima agregar 0,1 [ml] de *buffer* acetato de sodio (50 [mM], pH 4). Incubar los tubos a 50 [°C] por 10 minutos.
10. Agregar 3 [ml] de reactivo GOPOD a cada tubo e incubar a 50[°C] por 20 minutos.
11. Retirar tubos de ensaño del baño termorregulado, dejar reposar 1 hora, y luego medir absorbancia a 510 [nm].

Para determinar la cantidad de β-glucanos ( $\beta G$  (% p/p)) se utiliza la ecuación (4) y para calcularlo en base seca ( $\beta G_{bs}$  (% p/p)), la ecuación (5)

$$\beta G (\% p/p) = \Delta A \cdot F \cdot \frac{VF}{0,1} \cdot \frac{1}{1.000} \cdot \frac{100}{W} \cdot \frac{162}{180} \cdot D = 0,9 \cdot \Delta A \cdot F \cdot \frac{VF}{W} \cdot D \quad (4)$$

$$\beta G_{bs} (\% p/p) = \beta G (\% p/p) \cdot \frac{100}{100 - \%humedad\ muestra} \quad (5)$$

En estas ecuaciones,  $\Delta A$  corresponde a la absorbancia de la muestra (absorbancia medida menos absorbancia del blanco),  $F$  el factor de conversión de absorbancia a [μg] de D-glucosa, calculado como 100 [μg de D-glucosa] dividido en la absorbancia de tal cantidad,  $VF$  el volumen final medido, en [ml], 0,1 el volumen de la muestra analizada, en [ml], 1/1.000 el factor de conversión de [μg] a [mg], 100/W el factor que expresa β-glucanos como porcentaje de la muestra en peso, W el peso tal cual de la muestra analizada en [mg], 162/180 factor de conversión desde D-glucosa libre a D-glucosa anhidra y D el factor de dilución si es que se requiere, sin unidades.

## **VI. Medición de β-glucano en muestras líquidas.**

Para determinar la concentración de β-glucanos en muestras líquidas se sigue el siguiente protocolo entregado por el proveedor del kit (Megazyme).

1. Masar con alta precisión los tubos de centrifuga a utilizar.
2. Agregar 3 [ml] de muestra líquida a los tubos de centrifuga, sellar y calentar a 100 [°C] por 5 minutos. Dejar enfriar a temperatura ambiente por 5 minutos.
3. Agregar 3 [ml] de etanol 95% v/v y agitar en vórtex. Luego agregar 5 [ml] de etanol 95% v/v y volver a agitar en vórtex.
4. Centrifugar a 1800 g (3.700[RPM]) por 10 minutos. Descarta el sobrenadante.
5. Resuspender pellet en 8 [ml] de etanol 50% v/v y volver a centrifugar a las mismas condiciones anteriores. Descartar sobrenadante.
6. Resuspender pellet en *buffer* sodio fosfato (20 [mM], pH 6,5) y ajustar el volumen, en peso, a 4 [ml]. Incubar por 5 minutos a 50 [°C].
7. Agregar 0,2 [ml] de enzima liquenasa previamente alicuotada. Agitar y sellar tubo con *parafilm*. Incubar durante 1 hora a 50 [°C]. Agitar 3–4 veces durante la incubación.
8. Agregar 5[ml] de *buffer* acetato de sodio (200 [mM], pH 4,0) y agitar en vórtex.
9. Dejar enfriar a temperatura ambiente por 5 minutos y luego centrifugar a 1.000 g (2.700 [RPM]) por 10 minutos. Alicuotar 0,1 [ml] en tubos de ensayo, en triplicado.
10. A dos de los tubos, agregar 0,1 [ml] de  $\beta$ -glucosidasa, el tercero dejarlo como blanco, y en vez de enzima agregar 0,1 [ml] de *buffer* acetato de sodio (50 [mM], pH 4). Incubar los tubos a 50 [°C] por 10 minutos.
11. Agregar 3 [ml] de reactivo GOPOD a cada tubo e incubar a 50[°C] por 20 minutos.
12. Retirar tubos de ensaño del baño termorregulado, dejar reposar 1 hora, y luego medir absorbancia a 510 [nm].

Para determinar la concentración de  $\beta$ -glucanos ( $\beta G$  [g/100ml]) se utiliza la ecuación (6).

$$\beta G [g/100ml] = \Delta A \cdot F \cdot \frac{9,2}{3,0} \cdot 1.000 \cdot \frac{1}{1.000} \cdot \frac{1}{1.000} \cdot \frac{162}{180} \cdot D = \Delta A \cdot F \cdot D \cdot 0,00276 \quad (6)$$

En esta ecuación, los parámetros letrados corresponden a los mismos descritos previamente, lo mismos para 162/180. Por otro lado, 9,2/3,0 corresponde al factor de corrección de volumen entre la muestra inicial y final, 1.000 ajuste de volumen para cálculo por 100 [ml], 1/1.000 el factor de conversión de [ $\mu$ g] a [mg], que se repite para convertir de [mg] a [g].

## **VII. Sabor**

A continuación se detalla la receta del producto utilizado como base considerado de sabor neutro. Para ejecutarla se requiere de 1 [l] de agua, 150 [gr] de avena instantánea y sal.

- 1) Remojar copos de avena en agua durante toda la noche.
- 2) Colar el agua y separar los copos de avena.
- 3) Agregar agua, pizca de sal y batir a alta velocidad.
- 4) Una vez que todos los ingredientes estén bien revueltos, dejar reposar por una hora.
- 5) Colar la mezcla con un colador de malla fina.
- 6) Refrigerar para conservar (2-3 días).

### **C.2. Uso de equipos e instrumentos**

#### ***I. Tamiz eléctrico***

El equipo consiste en una plataforma vibratoria que sostiene una base metálica y tamices de distintos mallados. En éste se controla la amplitud y tiempo del movimiento vibratorio. Una imagen del equipo se observa en la Figura 3.



***Figura 3: Tamiz eléctrico utilizado para determinar granulometría de la materia prima utilizada en la elaboración de leche de avena.***

Primero es necesario agregar una masa inicial conocida del producto al cual se le busca determinar granulometría y luego hacerlo funcionar. Una vez finalizado el tiempo definido, se retiran la base y tamices de la plataforma vibratoria para masar el producto que quedó sobre cada uno de ellos. Por último, se determina el porcentaje de producto recuperado en cada sección.

## II. Refractómetro

Corresponde a un instrumento como el que se observa en la Figura 4, sobre el cual se agregan un par de gotas del producto en cuestión sobre la cámara de lectura (derecha de la imagen) y se realiza la lectura a través del visor (izquierda de la imagen). La medición entrega los grados Brix de la muestra. Se debe asegurar que a la hora de medir la luz incida con la cámara de lectura.



**Figura 4: Refractómetro utilizado para medir sólidos solubles.**

## III. Densidad

Por un lado se utilizó un picnómetro, el cual consiste en un recipiente de volumen conocido (26,061 [ml]) en el cual se puede medir la masa del producto, y así obtener la densidad utilizando la ecuación (7), en donde  $\rho$  corresponde a la densidad en [g/cm<sup>3</sup>],  $m$  a la masa agregada, en gramos, [g] y  $V$  al volumen del recipiente, en centímetros cúbicos [cm<sup>3</sup>].

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (7)$$

Por otro lado, en la Figura 5 se observa el densímetro, equipo especializado en la determinación de densidad a 20 [°C].



**Figura 5: Densímetro disponible en el Laboratorio de Calidad.**

## IV. Viscosímetro Haake

En la Figura 6, se observa el equipo utilizado para medir viscosidad, el cual consiste en un soporte de vidrio con un tubo en su interior. Este tubo está rodeado por líquido que ajusta la temperatura interna a 20[°C]. A lo largo del

tubo se encuentran 3 marcas que indican el inicio, la mitad y el fin del recorrido que debe seguir una bolita.

El procedimiento consiste en sellar el extremo inferior del equipo, agregar el fluido al cual se le quiere determinar la viscosidad, agregar una bolita de densidad y diámetro conocido, evitando la presencia de burbujas u otros contaminantes que puedan interferir en el proceso y sellar la parte superior, para dejar que la bolita comience a caer. Se mide el tiempo que tarda la bolita en recorrer desde la primera marca hasta la última.



**Figura 6: Viscosímetro de Haake disponible en el Laboratorio de Calidad.**

La viscosidad se determina utilizando la ecuación de la Ley de Stokes<sup>1</sup>, despejando este parámetro, lo que resulta en la ecuación (8), en donde  $\eta$  corresponde a la viscosidad dinámica, en [cP],  $D$  el diámetro de la bolita, en [m],  $g$  la aceleración de la gravedad, en [m/s<sup>2</sup>],  $\rho_p$  la densidad de la bolita y  $\rho_f$  la densidad del fluido, ambas en [g/cm<sup>3</sup>] y  $t$  el tiempo en segundos que tarda la bolita en recorrer la distancia  $d$ , en [m].

$$\eta = \frac{D^2 \cdot g \cdot (\rho_p - \rho_f) \cdot t}{18 \cdot d} = A \cdot (\rho_p - \rho_f) \cdot t \quad (8)$$

El equipo ha sido calibrado previamente, definiéndose la constante A y el parámetro  $\rho_p$ . Para el equipo que se encuentra en Talagante estos valores corresponden a 0,0092 [m<sup>2</sup>/s<sup>2</sup>] y 2,304 [g/cm<sup>3</sup>], respectivamente; mientras que para el viscosímetro de Temuco, estos parámetros corresponden a 0,01152 [m<sup>2</sup>/s<sup>2</sup>] y 1,73066 [g/cm<sup>3</sup>], respectivamente.

---

<sup>1</sup> Smith, Julian C. Operaciones básicas de ingeniería química, 1981.

### C.3. Detalles experimentos de maceración

#### I. Diseño experimental combinación 1 (C1) y 2 (C2)

Para realizar las pruebas de maceración, se trabaja con el Método de Taguchi, el cual consiste en un método de diseño experimental que es utilizado para diseñar productos o procesos de calidad antes de ser lanzados al mercado. Si bien no entrega un resultado óptimo, entrega una buena aproximación a él, mediante la separación de las variables aleatorias de las propias del problema y su posterior relación<sup>[61]</sup>. El diseño experimental y las gráficas de interacción, se realizan con el software Minitab 17<sup>2</sup>.

Las variables consideradas fueron las concentraciones enzimáticas y el tiempo de duración del descanso de temperatura, considerado inicialmente igual para ambos. El resultado de este diseño experimental son 9 combinaciones linealmente independientes.

#### II. Dosis enzimáticas y curvas de maceración utilizadas

En la Tabla 3 se observan las condiciones de operación de las pruebas realizadas, desde la combinación 3.

**Tabla 3: Concentración de enzimas utilizadas para distintas pruebas.**

Id.	Rel. S:L	$\alpha$ -amilasa [FAU/ml]	$\beta$ -amilasa [DP°/ml]	Pululanasa [PU/ml]	Relación $\alpha$ : $\beta$ :P	Curva de maceración*
<b>C3<sub>1</sub></b>	1:8	187,5	-	412,5	1:0:2,2	65 (30) – 90 (30)
<b>C3<sub>2</sub></b>	1:6	187,5	-	412,5	1:0:2,2	65 (30) – 90 (30)
<b>C4<sub>1</sub></b>	1:8	187,5	3.750,0	330,0	1:20:2	65 (30) – 90 (30)
<b>C4<sub>2</sub></b>	1:8	187,5	3.750,0	165,0	1:20:1	65 (30) – 90 (30)
<b>CM<sub>p</sub></b>	1:8	187,5	3.750,0	412,5	1:20:2,2	65 (30) – 90 (30)
<b>CM<sub>a</sub></b>	1:8	262,5	3.750,0	330,0	1:14:1	65 (30) – 90 (30)
<b>CM<sub>2</sub></b>	1:8	262,5	3.750,0	412,5	1:14:2	65 (30) – 90 (30)
<b>VP<sub>1</sub></b>	1:9	187,5	3.750,0	330,0	1:20:2	65 (30) – 90 (30)
<b>VP<sub>2</sub></b>	1:8	187,5	3.750,0	330,0	1:20:2	65 (40) – 90 (50)
<b>VP<sub>3</sub></b>	1:7	187,5	3.750,0	330,0	1:20:2	65 (40) – 90 (50)
<b>VS<sub>1</sub></b>	1:9	187,5	3.750,0	412,5	1:20:2,2	65 (40) – 90 (60)
<b>VS<sub>2</sub></b>	1:8	187,5	3.750,0	412,5	1:20:2,2	65 (40) – 90 (60)
<b>VS<sub>3</sub></b>	1:8	375,0	7.500,0	825,0	1:20:2,2	65 (40) – 90 (60)
<b>VS<sub>4</sub></b>	1:8	187,5	5.000,0	412,5	1:27:2,2	65 (40) – 90 (50)
<b>PF1+ PP1</b>	1:8	187,5	3.750,0	330,0	1:20:2	65 (30) – 90 (60)
<b>PF2+ PP2</b>	1:8	187,5	5.000,0	412,5	1:27:2,2	65 (40) – 90 (50)

\***Notación:** Temperatura en [°C] (tiempo de incubación en minutos)

<sup>2</sup> Minitab. Minitab Statistical Software. <<https://www.minitab.com>>.

Las actividades enzimáticas se definen como<sup>[62]</sup>:

- **FAU (unidad de amilasa fúngica)**: cantidad de enzima  $\alpha$ -amilasa que es capaz de convertir una cantidad de almidón de cereal a maltosa o jarabes de maltosa, bajo condiciones "estándarizadas".
- **DP°/ml**: unidad de actividad de  $\beta$ -amilasa. DP° corresponde a los grados de poder diastático, el cual corresponde a la cantidad de enzima contenida en 0,1 [ml] de una solución al 5% de la enzima, capaz de producir suficientes azúcares reductores para reducir 5 [ml] de una solución de Fehling, cuando la muestra es incubada con 100 [ml] de sustrato durante una hora a 20 [°C].
- **PU**: unidades de actividad de pululanasa.

Todas las curvas de maceración comenzaron con un par de temperatura y tiempo de 55 [°C] por 10 [min], para favorecer la gelatinización del almidón. En la última columna de la Tabla 3 se aprecian las condiciones de temperatura y tiempo utilizadas en cada prueba. Para las pruebas realizadas en laboratorio, además se consideró una etapa de inactivación a 95 [°C], la cual fue empleada por entre 5-10 [min].

Para calcular la dosis de enzimas a utilizar se debe tener en consideración la relación sólido líquido, ya que, se sabe que para una relación de 1:6 se agregan 2 [ml de enzima/kg de avena] y se deben realizar las conversaciones necesarias para trabajar con otras relaciones.

Para calcular las dosis de enzimas a utilizar, se utiliza la ecuación (9).

$$E_i = \frac{C_{EP} \cdot AE_D \cdot m}{AE_{ref}} \cdot D \quad (9)$$

En donde  $E_i$  corresponde a la dosis enzimática buscada, con  $i$  el índice que representa la enzima que se está utilizando, pudiendo tener dimensiones de [ $\mu$ l] o [mg], según la enzima;  $C_{EP}$  corresponde a la concentración enzimática según la relación sólido-líquido utilizada, la cual se encuentra en [ml/kg] y se calcula según la ecuación (10);  $AE_D$  la actividad enzimática a la cual se le está calculando la dosis correspondiente, en unidades de actividad por volumen o masa, según la enzima;  $m$  la masa de avena utilizada, en [kg];  $AE_{ref}$  la actividad enzimática propia de la enzima, en unidades de actividad por volumen o masa, según corresponda, y  $D$  el factor de dilución, en caso de ser necesario.

$$C_{EP} = \frac{C_{ref} \cdot L_D}{L_{ref}} \quad (10)$$

En el caso de la ecuación (10),  $C_{ref}$  corresponde a la concentración de enzimas referencial, 2 [ml/kg] para una relación sólido-líquido de 1:6,  $L_D$  la

parte líquida de la proporción sólido-líquido con la que se está trabajando y  $L_{ref}$  la parte líquida de la proporción sólido-líquido referencial, en este caso, 6.

Así por ejemplo, para el caso en que se quiere alcanzar las 330 [PU/ml] de pululanasa en una preparación de 40 [g] de avena cuya relación sólido-líquido es de 1:8, se tiene que,

$$C_{EP} = \frac{2 \left[ \frac{ml}{kg} \right] \cdot 8}{6} = 2,67 \left[ \frac{ml}{kg} \right]$$

$$E_p = \frac{2,67 \left[ \frac{ml}{kg} \right] \cdot 330 \left[ \frac{UA}{ml} \right] \cdot 0,04 [kg]}{2.200 \left[ \frac{UA}{ml} \right]} \cdot 1.000 \left[ \frac{\mu l}{ml} \right] \cdot 10 = 160 [\mu l]$$

Para efectos de cálculo y precisión en la actividad de laboratorio, durante todo este trabajo se utilizaron diluciones de 100 y 10 veces para las enzimas  $\alpha$ -amilasa y pululanasa, respectivamente.

### **III. Determinación de proporciones enzimáticas**

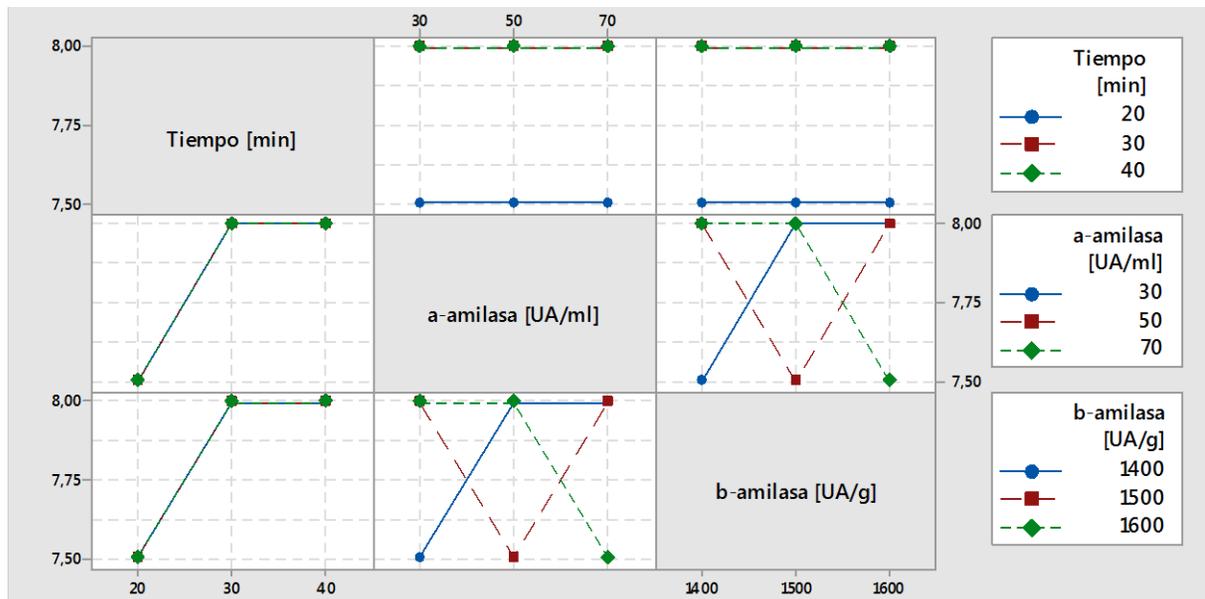
Según los resultados obtenidos, se concluye que para determinar las 2 mejores combinaciones enzimáticas para cada caso se considerarán los valores de sólidos solubles y rendimientos obtenidos para C1, mientras que para C2, junto con analizar estos valores, se analizará principalmente el pH y el sabor.

En la Figura 7 y Figura 8 corresponden a los resultados de la combinación 1, mientras que en la Figura 9, Figura 10, Figura 11 y Figura 12 hacen referencia a la combinación 2.

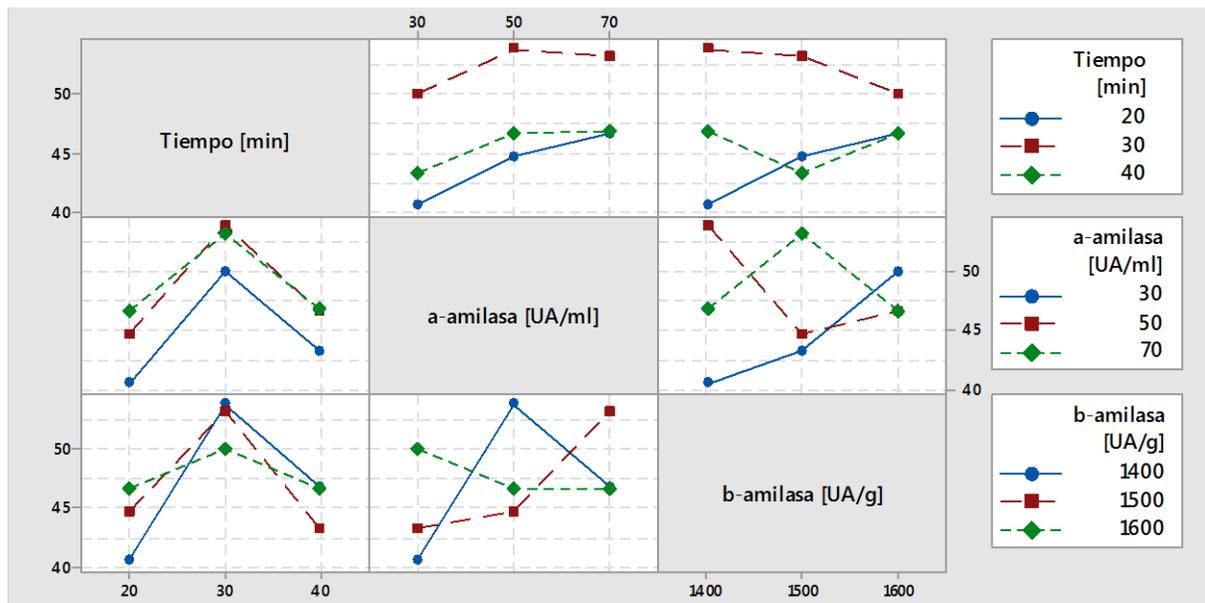
De la Figura 7 se concluye que a los 30 [min] y 40 [min] se obtienen los mejores resultados para ambas enzimas según la cantidad de sólidos solubles obtenidos, sin embargo, a los 30 [min] se obtienen mejores rendimientos.

Sobre las combinaciones de  $\alpha$ -amilasa con  $\beta$ -amilasa, según actividad enzimática, 30:1500, 30:1600, 50:1400, 50:1600, 70:1400 y 70:1500 son las que entregaron mejores resultados de sólidos solubles.

Por otro lado, en la Figura 8 se observa que 30:1600, 50:1400 y 70:1500 son las 3 combinaciones con mejores resultados de rendimiento. De este modo, estas 3 combinaciones representan la intersección entre las que tienen mejor rendimiento y mejor resultado de sólidos solubles, eligiéndose finalmente las que representan los extremos, es decir, 30:1600 y 70:1500.

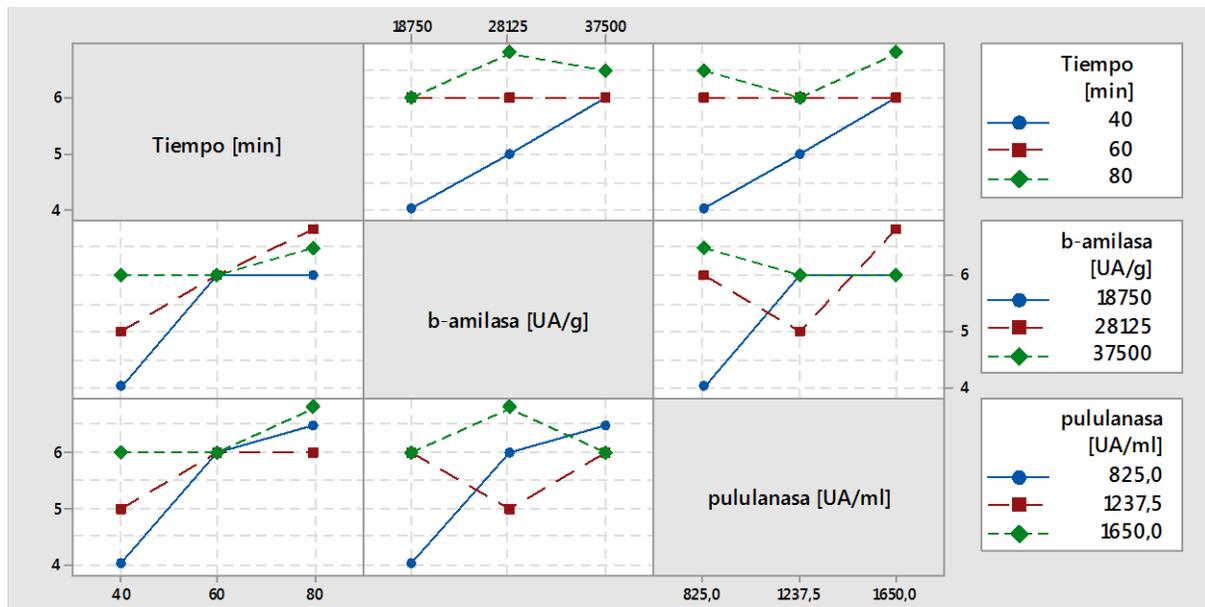


**Figura 7: Gráfico de interacción de combinación 1 para sólidos solubles. Eje Y sólidos solubles [°Bx], eje X según lo indica el gráfico.**

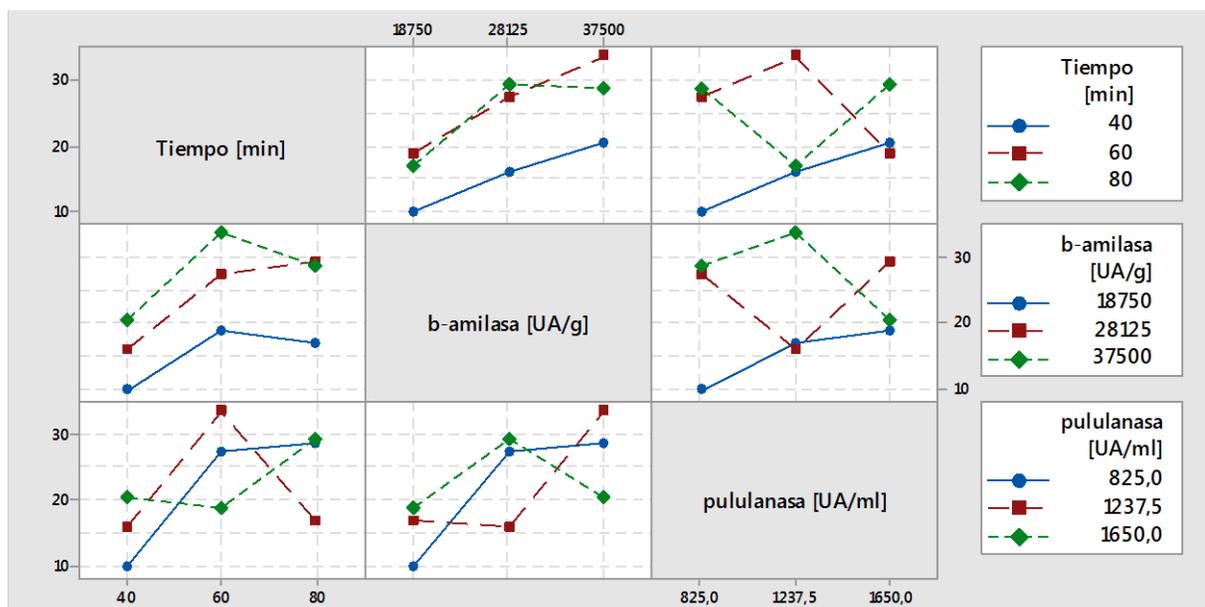


**Figura 8: Gráfico de interacción de combinación 1 para rendimiento. Eje Y rendimiento [%], eje X según lo indica el gráfico.**

En cuanto a C2, tras observar la Figura 9 y Figura 10 se concluye que, en general, los tiempos a los cuales se obtienen mejores resultados son 60 [min] y 80 [min]. Además, se puede observar que los sólidos solubles y rendimientos alcanzados no son los esperados y no presentan una tendencia clara, por lo que se opta por otra estrategia de análisis.



**Figura 9: Gráfico de interacción de combinación 2 para sólidos solubles. Eje Y sólidos solubles [°Bx], eje X según lo indica el gráfico.**

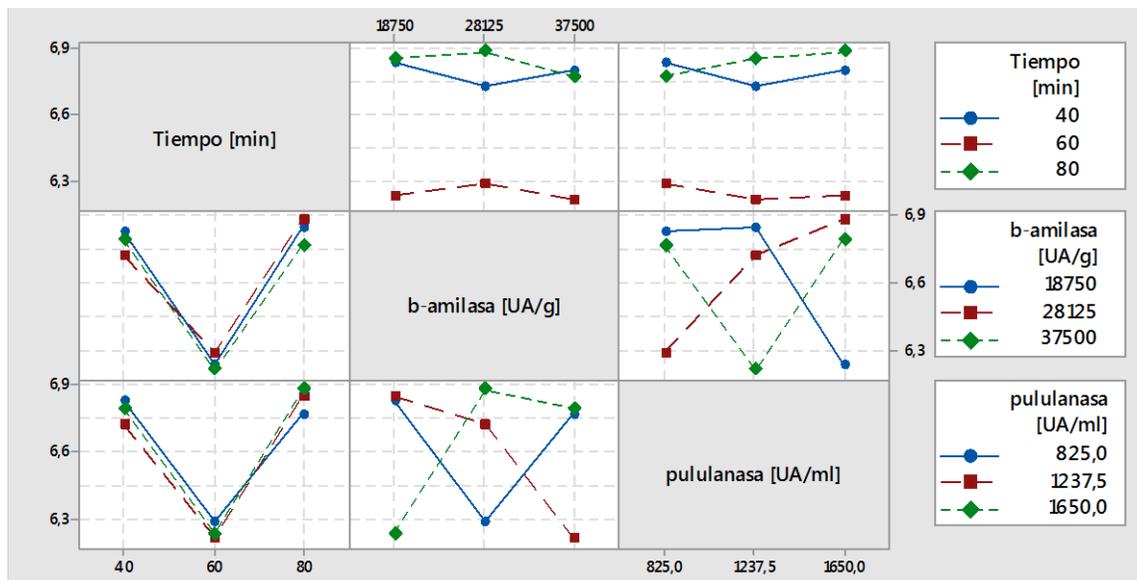


**Figura 10: Gráfico de interacción de combinación 2 para rendimiento. Eje Y rendimiento [%], eje X según lo indica el gráfico.**

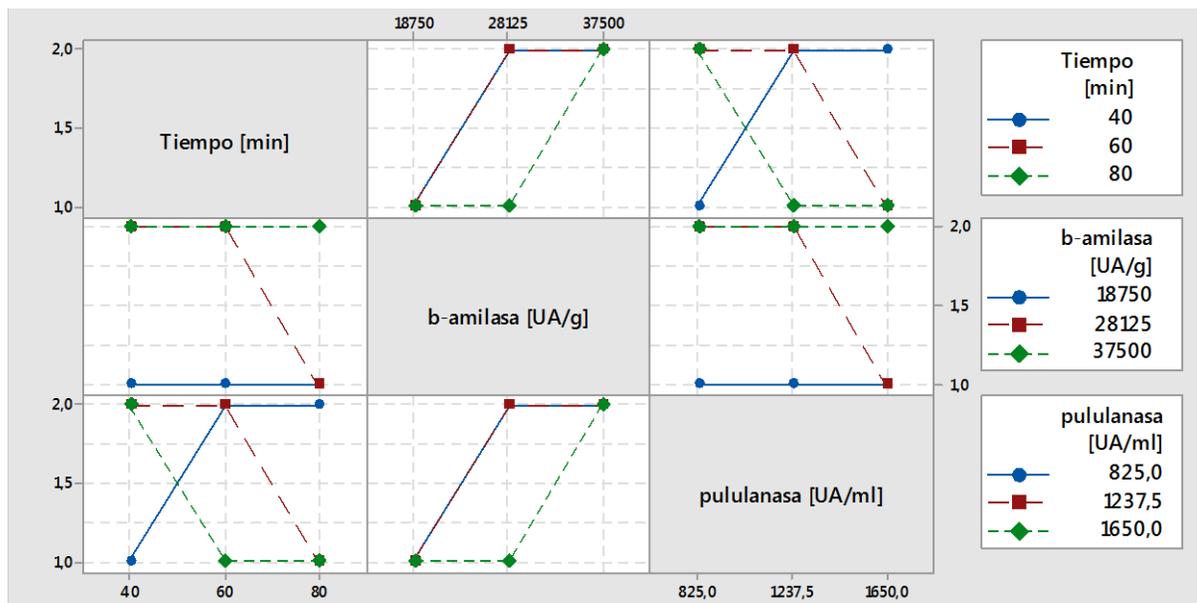
Se busca asegurar obtener un producto que se encuentre dentro del rango de pH establecido y posea un nivel de sabor fijo, sea de 1 o de 2.

Entonces, para el caso del pH, se busca que este sea alto, pues aditivos podrían disminuirlo. Al revisar la Figura 11 se aprecia que esto se cumple para 1.650 [UA/g] de pululanasa, en particular cuando se trabaja a un descanso de 40 [min] u 80 [min].

Por otro lado, al observar la Figura 12, claramente se ve que los valores de 18.750 [UA/ml] y 37.500 [UA/ml] de  $\beta$ -amilasa entregan constantemente productos de sabor 1 y sabor 2, respectivamente.



**Figura 11: Gráfico de interacción de combinación 2 para pH. Eje Y escala de pH, eje X según lo indica el gráfico.**



**Figura 12: Gráfico de interacción de combinación 2 para sabor. Eje Y escala de sabor, eje X según lo indica el gráfico.**

Tomando lo anterior en consideración, las combinaciones con las que se trabajará consisten en 18.750:1.650 y 37.500:1650, las cuales en rendimiento y sólidos solubles tuvieron resultados medios.

En la Tabla 4 se aprecian los resultados finales tras el análisis de los gráficos de interacción antes expuestos, tomando además en consideración que para determinar las proporciones se aproximaron los valores a cifras cerradas por simplicidad en su ejecución.

**Tabla 4: Proporciones enzimáticas establecidas para evaluar en combinación 3 y 4.**

Id.	Combinación 3 $\alpha$ :P	Combinación 4 $\alpha$ : $\beta$ :P
1	1:5	1:50:5
2	1:2*	1:50:2*
3	1:2*	1:20:2*
4	1:1	1:20:1

\*La proporción de pululanasa se usa como 2,2.

## Anexo D. Información complementaria a los resultados

### D.1. Detalles de la búsqueda bibliográfica

- **US 4.996.063**, George E. Inglett (1991). "Method for making a soluble dietary fiber composition from oats":
  - La suspensión debe contener entre 10-40% de sólidos.
  - Usar  $\alpha$ -amilasa durante el proceso de extracción durante 10-60 minutos a 95[°C], en el caso de ser termoestable.
  - Inactivar enzimas al hacer pasar la suspensión a través de vapor a alta presión a 140[°C].
- **US 5.686.123**, Lindahl et al. (1997). "Homogeneous and stable cereal suspension and a method of making the same":
  - Utilizar avena tratada previamente por métodos térmicos o hídricos.
  - Contenido de sólidos entre 10-15% lo que se traduce en proporciones de 1 [kg] de avena por entre 6-10[l] de agua.
  - Mantener pH de al menos 5.
  - Uso de  $\beta$ -amilasa primero, para luego añadir  $\alpha$ -amilasa.
  - Conseguir viscosidad menor a 500[cP] a temperatura ambiente tras el proceso de extracción.
  - Sólidos finales de entre 10-15%.
  - Molienda con granulometría entre 0,8-1,0[mm].
  - Utilizar agua desionizada y realizar la mezcla de agua y grano a 50-53[°C].
  - Para inactivación enzimática y esterilización del producto someter a 137-138 [°C] por 3-4 [s].
- **US 6.451.369 B1**, Angeliki Öste Triantafyllou (2002). "Non-dairy, ready-to-use milk substitute, and products made therewith":
  - Viscosidad final cercana a la del agua o alrededor de 10 [cP].
  - Usar 2 [ml] de enzimas por kilogramo de avena.
  - Dejar actuar la combinación enzimática por 1-2 horas.
  - Usar la combinación de  $\beta$ -amilasa y pululanasa para conseguir un producto rico en maltosa y cierto porcentaje de maltodextrinas. De la primera enzima agregar entre 500-1.000 [DP°] y de la segunda entre 150-300[PU/ml].
  - Alternativamente, si se quiere disminuir el contenido de dextrinas en la suspensión, se pueden agregar 800[PU/ml] a la preparación.
  - Usar la combinación de  $\beta$ -amilasa y  $\alpha$ -amilasa para conseguir un producto rico en maltosa y maltodextrinas. Agregar entre 1400-1600[DP°] de la primera enzima y entre 30-70[FAU/ml] de la segunda.
  - Centrifugar o decantar a 350-450 [g] por 10-15 [min].

**US 8.333.986 B2**, Chen et al (2012), "Oligo-Saccharide enhanced oat-based drink for treating hyperlipidaemia and hyperglycemia and improving gastrointestinal function and process for preparing the same by tri-enzyme hydrolysis and micro-particle milling":

- Moler grano hasta conseguir partículas de alrededor de 100 [ $\mu\text{m}$ ].
- Usar  $\beta$ -amilasa y  $\alpha$ -amilasa y transglucosidasa hasta alcanzar una viscosidad de 10-100 [cP].
- Inactivar las enzimas, enfriar la solución y finalmente someter a proceso de UHT (137-138°C por 3-4 [s]).

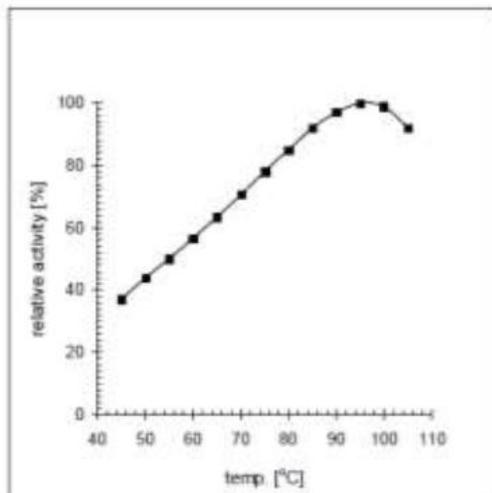


Fig 1: Influence of temperature on activity (10 % soluble starch; pH 6.5).

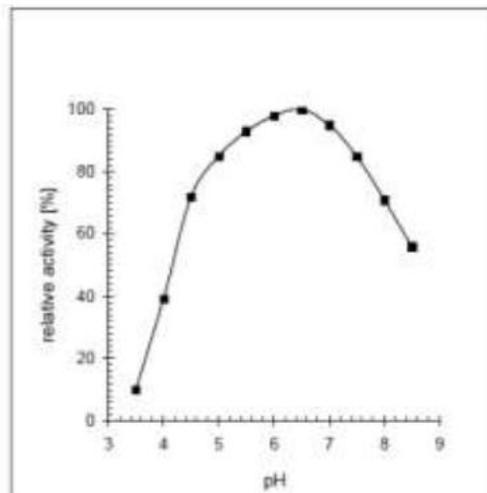


Fig 2: Influence of pH-value on activity (10 % soluble starch; 90 °C/194 °F).

**Figura 1: Gráficos de actividad de  $\alpha$ -amilasa proporcionada por los proveedores de enzimas de Maltexco S.A.**

## D.2. Datos y cálculos asociados a la caracterización del producto objetivo

En la Tabla 5 se observan los resultados obtenidos de las mediciones realizadas a las dos marcas de leches usadas como referencia que requirieron de más de una medida, mientras que en la Tabla 6 se encuentra la medición del contenido de  $\beta$ -glucanos determinado por una institución externa. Para determinar los rangos finales se realizaron ciertos cálculos, destacando un ajuste en el contenido de  $\beta$ -glucanos.

Para ajustar la concentración de  $\beta$ -glucanos desde [g/100g] base seca a [g/200cm<sup>3</sup>], que corresponde a la concentración por porción, se utiliza la ecuación (11). Por otro lado, ya que el rango de sólidos solubles aceptados se expande y finalmente se considera de entre 8 [°Bx] y 12 [°Bx], para establecer el mínimo y el máximo, se considera la que posee menos concentración de  $\beta$ -glucanos, y se recalcula para el caso que tuviera 8 [°Bx], y luego para el máximo, se selecciona la de mayor concentración y se recalcula para el caso

en que tuviera 12 [°Bx], en caso de ser necesario. Los resultados obtenidos se aprecian en la Tabla 7.

$$\beta G_{100cm^3} = \frac{\beta G_{100g} \cdot SS \cdot \rho}{100} \quad (11)$$

En donde  $\beta G_{100cm^3}$  representa los gramos de  $\beta$ -glucanos por cada 100 [cm<sup>3</sup>] de leche,  $\beta G_{100g}$  son los gramos de  $\beta$ -glucanos en 100 [g] de sólidos de la muestra,  $SS$  los gramos de sólidos en la muestra por cada 100 [g] de leche y por último,  $\rho$  corresponde a la densidad de la leche evaluada en [g/cm<sup>3</sup>].

**Tabla 5: Resultados de propiedades fisicoquímicas medidas en triplicado**

Parámetros	pH		Densidad (20[°C]) [g/cm <sup>3</sup> ]		Viscosidad (20[°C]) [cP]	
	<i>Amandín</i>	<i>Pacific</i>	<i>Amandín</i>	<i>Pacific</i>	<i>Amandín</i>	<i>Pacific</i>
<b>Leche</b>						
<b>1</b>	6,803	6,112	1,028	1,046	1,767	5,095
<b>2</b>	6,804	6,059	1,026	1,046	1,438	5,038
<b>3</b>	6,810	6,097	1,026	1,046	1,431	5,014
<b>Promedio</b>	6,806	6,089	1,027	1,046	1,545	5,049
<b>Desv. Estándar</b>	0,0038	0,0273	0,0012	0,0004	0,1919	0,0420
<b>Rango</b>	6,09 – 6,81		1,02 – 1,05		1,55 -5,05	

**Tabla 6: Resultados de propiedades fisicoquímicas determinadas en una medición.**

Parámetros	$\beta$ -glucanos [g/100g]	
	<i>Amandín</i>	<i>Pacific</i>
<b>Leche</b>		
<b>Valor registrado</b>	3,13	5,69
<b>Rango</b>	3,13 – 5,69	

**Tabla 7: Concentraciones de  $\beta$ -glucanos para distintas concentraciones de sólidos solubles hipotéticas.**

Parámetro	<i>Amandín</i>		<i>Pacific</i>	
	Base [g/100cm <sup>3</sup> ]	Por porción [g/200cm <sup>3</sup> ]	Base [g/100cm <sup>3</sup> ]	Por porción [g/200cm <sup>3</sup> ]
$\beta G^8$	<b>0,26</b>	<b>0,51</b>	0,48	0,95
$\beta G^{10}$	0,32	0,64	-	-
$\beta G^{12}$	0,39	0,77	<b>0,71</b>	<b>1,43</b>

En negritas los valores mínimos y máximos tanto para 100 [cm<sup>3</sup>] como para 200 [cm<sup>3</sup>]

De los datos se concluye entonces, que los rangos a considerar, teniendo en consideración las concentraciones por porciones, corresponden a 0,51-1,43 [g/200cm<sup>3</sup>].

### D.3. Cálculos para el dimensionamiento de centrífuga industrial

De las pruebas de laboratorio se concluye que una buena combinación para la centrífuga de laboratorio era utilizar 1.500 [RPM] por 10 [min]. Con esta información, sumado a propiedades del fluido y las partículas que se quieren separar, se puede realizar el escalamiento a una centrífuga de discos de flujo continuo.

El escalamiento se realiza utilizando dos enfoques en paralelo. Por un lado se encuentra el enfoque cualitativo, que permite relacionar las revoluciones por minuto y tiempo utilizados a escala laboratorio con los requeridos para una escala mayor. Por otro lado, está el enfoque cuantitativo, que mediante la ecuación de diseño del equipo permite calcular el valor sigma asociado, con el cual se pueden determinar las revoluciones por minuto a las que se debe hacer girar la centrífuga según sus características físicas. Teniendo estos dos valores, se puede saber el tiempo que tarda el equipo en separar las dos fases que se están buscando<sup>[71,73]</sup>.

El enfoque cualitativo consiste en calcular un coeficiente de dificultad para la separación, el cual consiste en multiplicar el factor G por el tiempo de operación, en segundos. El factor G que corresponde a una medida relativa de la velocidad de sedimentación de una partícula en un campo centrífugo con respecto al campo gravitacional, calculado según la ecuación (12). Este enfoque busca igualar este coeficiente con el correspondiente en la segunda escala, como se observa en la ecuación (13).

$$G = \left[ \frac{\Omega^2 \cdot R_o}{g} \right] \quad (12)$$

$$G_1 \cdot t_1 = G_2 \cdot t_2 \quad (13)$$

En donde  $\Omega$  corresponde a la velocidad angular, en [rad/s];  $R_o$  el radio característico de la centrífuga (máximo), en [m] y  $g$  la aceleración gravitacional, que corresponde a  $9,8[m/s^2]$ .

Entonces, sabiendo que el radio máximo de la centrífuga corresponde a 11,5 [cm] y que se utilizaron 1.500 [RPM], se puede calcular G, considerando la ecuación (14) que corresponde a la transformación de [RPM] a [rad/s], con  $n$  las revoluciones por minuto.

$$\Omega = \frac{2 \cdot \pi \cdot n}{60} \quad (14)$$

Al hacer el cálculo, se consigue un factor  $G$  de 289,549, el cual, al multiplicarlo por los 600 [s] en los que se hizo la centrifugación, entrega un factor  $G_1 t_1$  de 48.340,92 [s].

Por otro lado, el enfoque cuantitativo consiste en establecer que la velocidad de sedimentación gravitacional ( $v_g$ ) en ambas escalas se debe mantener igual, para asegurar que ocurra la separación. Para ello, se utiliza la ecuación (15) para determinar la velocidad de sedimentación de las partículas en la escala laboratorio y las ecuaciones (16) y (17) para realizar el escalamiento.

$$v_g = \frac{d^2 \cdot (\rho_p - \rho_f) \cdot g}{18 \cdot \mu} \quad (15)$$

$$Q = v_g \cdot \Sigma \quad (16)$$

$$\eta_1 v_{g1} = \eta_2 v_{g2} \quad (17)$$

En donde  $v_g$  se encuentra en [m/s]. Además,  $d$  corresponde al diámetro de la partícula que se quiere separar, en [m],  $\rho_p$  y  $\rho_f$  la densidad de la partícula a separar y del fluido, respectivamente, en [kg/m<sup>3</sup>],  $\mu$  la viscosidad dinámica, en [kg/ms];  $\eta$  la eficiencia del equipo y 1 y 2 los subíndices que indican la escala de laboratorio y piloto, respectivamente.

Para determinar la velocidad de sedimentación se utilizan algunos supuestos y datos, como por ejemplo que el tamaño de partículas a separar se reduce a aproximadamente 200 [µm] en promedio debido a la acción enzimática y extracción. Además, se toma un valor de referencia para la densidad del producto en 1,03[g/cm<sup>3</sup>] de acuerdo a los resultados obtenidos, mientras que la densidad de las partículas a extraer se considera menor a la del almidón y sus componentes (1,5[g/cm<sup>3</sup>]), pero mayor a la densidad del producto, fijándose en 1,25 [g/cm<sup>3</sup>] aproximadamente. Por último, debido a que el cálculo de la viscosidad se realizó con diluciones, se calcula el porcentaje de diferencia entre el producto de referencia y el promedio de los dos productos obtenidos en la planta piloto. Estos valores corresponden a 2,14 [cP] y 2,21 [cP], respectivamente, por lo que su diferencia es de 3,2% más de viscosidad para el producto obtenido. Con esto, la aproximación de la viscosidad sería de 5,17 [cP], utilizando esta información y las transformaciones necesarias, se tiene que la velocidad de sedimentación gravitacional es de 9,27e-8 [m/s].

Con este valor, y teniendo en consideración que las eficiencias para la centrífuga de laboratorio se considera del 100%, mientras que para una

centrífuga de discos del 55%, se utiliza la ecuación (16) y (17) y se determina que el valor de  $Q/\Sigma$  es igual a  $5,10e-8$  [m/s]. Teniendo este valor, sólo basta saber el flujo que se quiere tratar para definir  $\Sigma$ , valor que se utiliza para comprar centrífugas e incluye todas las propiedades físicas de la misma, como lo muestra la ecuación (18), en donde se describe este factor para centrífugas de discos.

$$\Sigma_{discos} = \frac{2 \cdot \pi \cdot N_D \cdot \Omega^2 \cdot (R_3^3 - R_1^3) \cdot \cot \theta}{3 \cdot g} \quad (18)$$

En donde  $N_D$  corresponde al número de discos;  $R_3$  y  $R_1$  el radio externo e interno, respectivamente, en [m] y  $\theta$  el ángulo de los discos, en grados sexagesimales. Una vez teniendo la centrífuga con sus características físicas y el flujo a tratar, se puede determinar la velocidad de giro en [rad/s], la cual se utiliza en la ecuación (13) y ecuación (14) y de este modo definir el tiempo de operación que asegura la separación esperada.

Así, por ejemplo, si se quieren tratar 1.000 [l/min], lo que corresponde a  $0,017$  [m<sup>3</sup>/s],  $\Sigma_{discos}$  a  $326.994,43$  [m<sup>2</sup>]. Con este valor, y las propiedades físicas del equipo, se calcula  $\Omega$  y con ello el tiempo  $t_2$ .

#### D.4. Cuantificación de $\beta$ -glucanos en producto final

En la Tabla 8 se observan los resultados de la cuantificación por espectrofotometría de  $\beta$ -glucanos en la materia prima utilizada, así como la registrada durante distintas etapas de la primera prueba en planta piloto (PP1) y la segunda (PP2).

**Tabla 8: Datos de la cuantificación de  $\beta$ -glucanos.**

Prueba	Muestra	Blanco	Abs 1	Abs 2	Promedio	Desv. Estándar	$\Delta$ Abs
<b>Materia prima</b>	Harina 1	0,140	0,567	0,518	0,543	0,035	0,403
	Harina 2	0,138	0,478	0,478	0,478	0,001	0,340
<b>PP1</b>	Inicio maceración	0,174	0,617	0,661	0,639	0,032	0,465
	Post-filtrado	0,117	0,626	0,655	0,640	0,021	0,524
	Producto final	0,467	0,645	0,691	0,668	0,032	0,201
<b>PP2</b>	Inicio maceración	0,136	0,631	0,722	0,676	0,064	0,541
	Post-filtrado	0,121	0,592	0,573	0,583	0,013	0,462
	Producto final	0,242	0,648	0,701	0,674	0,038	0,433