

**Evaluación del efecto de las condiciones de hidrólisis enzimática para la obtención de jarabe de arroz como fuente de carbono alternativa en el crecimiento de levadura para empresas biotecnológicas ubicadas en el Valle del Cauca**

Andrea Londoño Gordillo

Universidad Nacional Abierta y a Distancia  
Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería  
Programa de Maestría en Biotecnología Alimentaria  
Tuluá-Valle del Cauca, Colombia

2026

**Evaluación del efecto de las condiciones de hidrólisis enzimática para la obtención de jarabe de arroz como fuente de carbono alternativa en el crecimiento de levadura para empresas biotecnológicas ubicadas en el Valle del Cauca**

Andrea Londoño Gordillo

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de:

Magister en Biotecnología Alimentaria

Modalidad

Proyecto de Investigación

Directores:

Mg. Vicente Ortiz Gómez

Mg. Juan Jacobo Jaramillo Obando

Universidad Nacional Abierta y a Distancia

Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería

Programa de Maestría en Biotecnología Alimentaria

Tuluá-Valle del Cauca, Colombia

2026

## **DECLARACIÓN DE DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL**

Los autores de la presente propuesta manifestamos que conocemos el contenido del Acuerdo 06 de 2008, Estatuto de Propiedad Intelectual de la UNAD, Artículo 39 referente a la cesión voluntaria y libre de los derechos de propiedad intelectual de los productos generados a partir de la presente propuesta. Asimismo, conocemos el contenido del Artículo 40 del mismo Acuerdo, relacionado con la autorización de uso del trabajo para fines de consulta y mención en los catálogos bibliográficos de la UNAD.

## **Agradecimientos**

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento, en primer lugar, a mi mamá y a mi hermano, pilares fundamentales en mi vida. Su apoyo incondicional, paciencia y cariño constante fueron el sostén que me permitió seguir adelante durante estos años de estudio, incluso en los momentos más difíciles. Sin ustedes a mi lado, este camino habría sido mucho más cuesta arriba. Gracias por creer en mí siempre.

A mi papá, desde el cielo, le dedico también estas palabras. Aunque ya no está físicamente, su presencia ha sido mi mayor motivación. Cada paso que di lo hice pensando en él, en lo orgulloso que se sentiría al verme culminar esta etapa y alcanzar el grado de magíster. Sé que desde donde está, me acompaña y celebra este logro como si estuviera aquí. Este trabajo lleva también su nombre.

Finalmente, quiero agradecer de corazón a Juan Jacobo Jaramillo Obando, mi director de trabajo de grado. Su guía sabia, su generosidad al compartir conocimiento y su confianza en mí hicieron posible que este proyecto tomara forma y llegara a buen puerto. Más allá de la dirección académica, fuiste un ejemplo de dedicación, rigor y humanidad. Gracias por tu tiempo, tus consejos y por creer en esta investigación desde el primer momento.

A todos ustedes, mi infinita gratitud. Este logro no es solo mío, es también de quienes me han acompañado con amor, paciencia y sabiduría.

*"La suerte es lo que ocurre cuando la  
preparación se encuentra con la oportunidad"*

*Séneca*

## Resumen

El jugo de caña ha sido tradicionalmente la principal fuente de carbono en la industria de fermentación, especialmente en la producción de levadura; sin embargo, su disponibilidad fluctuante y el incremento en los costos han afectado la estabilidad de los procesos productivos, evidenciando la necesidad de evaluar fuentes alternativas más sostenibles. En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo desarrollar y caracterizar un jarabe de arroz obtenido mediante hidrólisis enzimática, evaluando su potencial como fuente de azúcares fermentables. Para ello, se realizó la caracterización fisicoquímica de la harina de arroz, determinando un contenido de humedad de 6,30 %, proteína de 8,12 %, cenizas de 0,86 %, grasa de 2,07 % y pH de 6,40. Posteriormente, se evaluó el efecto del porcentaje de sólidos (10–30 %) y la dosis enzimática (0,61–1,23 mL/kg) mediante un diseño factorial completo. Los resultados evidenciaron que el tratamiento con 30 % de sólidos y 1,23 mL/kg de enzima presentó la mayor producción de azúcares fermentables, alcanzando valores de 310,9 g/L lo cual fue analizado mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) con detector de índice de refracción. El modelo estadístico mostró un excelente ajuste, con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0,9925$ , indicando que más del 99 % de la variabilidad fue explicada por las variables estudiadas. En conclusión, el jarabe de arroz obtenido constituye una alternativa viable como fuente de carbono, con alto rendimiento de azúcares fermentables y potencial para su aplicación en procesos biotecnológicos, contribuyendo a la diversificación de materias primas en la industria.

**Palabras clave:** glucosa, sacarificación, licuefacción, fermentación, azúcares fermentables, melaza de caña.

## Abstract

The sugarcane juice has traditionally been the main carbon source in the fermentation industry, particularly in yeast production; however, its fluctuating availability and increasing costs have affected the stability of production processes, highlighting the need to evaluate more sustainable alternative sources. In this context, the present study aimed to develop and characterize a rice syrup obtained through enzymatic hydrolysis, assessing its potential as a source of fermentable sugars. To achieve this, the physicochemical characterization of rice flour was carried out, determining a moisture content of 6.30%, protein 8.12%, ash 0.86%, fat 2.07%, and pH 6.40. Subsequently, the effect of substrate solids concentration (10–30%) and enzyme dosage (0.61–1.23 mL/kg) was evaluated using a full factorial design. The results showed that the treatment with 30% solids and 1.23 mL/kg enzyme yielded the highest production of fermentable sugars, reaching values of 310.9 g/L, which were analyzed using high-performance liquid chromatography (HPLC) with a refractive index detector. The statistical model demonstrated an excellent fit, with a coefficient of determination  $R^2 = 0.9925$ , indicating that more than 99% of the variability was explained by the studied variables. In conclusion, the obtained rice syrup represents a viable alternative as a carbon source, with a high yield of fermentable sugars and potential application in biotechnological processes, contributing to the diversification of raw materials in the industry.

**Keywords:** glucose, Saccharification, Liquefaction, fermentation, fermentable sugar, cane molasses.

## Tabla de Contenido

Agradecimientos .....	4
Resumen.....	6
Abstract .....	7
Introducción .....	14
Planteamiento del problema.....	16
Justificación .....	26
Objetivos .....	29
Objetivo general.....	29
Objetivos específicos: .....	29
Marco conceptual y teórico.....	30
Caracterización fisicoquímica de la harina de arroz .....	30
<i>Composición de la harina de arroz</i> .....	30
<i>Factores que afectan las propiedades del sustrato</i> .....	31
<i>Relevancia para la hidrólisis enzimática</i> .....	31
Hidrólisis enzimática del almidón de arroz .....	32
<i>Principios del proceso enzimático</i> .....	32
<i>Enzimas claves y condiciones operativas</i> .....	33
<i>Variables críticas</i> .....	33
Composición y análisis de azúcares fermentables .....	35
<i>Perfil glucídico del jarabe de arroz</i> .....	35

Técnicas Analíticas .....	36
<i>Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)</i> .....	36
Brechas del conocimiento .....	37
<i>Avances actuales</i> .....	37
Contribución de la investigación .....	39
Metodología .....	40
Caracterización fisicoquímica de la harina de arroz como materia prima para la obtención de jarabe de azúcares fermentables .....	40
<i>Análisis de humedad</i> .....	40
<i>Análisis de proteína</i> .....	41
<i>Análisis de cenizas</i> .....	42
<i>Análisis de grasa</i> .....	43
<i>Análisis de carbohidratos</i> .....	44
<i>Análisis de pH</i> .....	45
Determinación del efecto de la concentración de sólidos del sustrato y concentración de enzimas mediante un diseño factorial completo .....	45
Evaluación de la composición de azúcares fermentables del jarabe.....	47
Resultados y discusión .....	51
Caracterización fisicoquímica de la harina de arroz como materia prima para la obtención de jarabe de azúcares fermentables .....	51
Determinación del efecto de la concentración de sólidos del sustrato y concentración de enzimas mediante un diseño factorial completo .....	54

Evaluación de la composición de azúcares fermentables del jarabe.....	61
Conclusiones .....	65
Impacto .....	67
Impacto Social .....	67
Impacto Ambiental.....	67
Impacto Económico .....	67
Impacto legal.....	67
Recomendaciones .....	70
Referencias bibliográficas.....	71
Anexos .....	81

## Lista de figuras

<b>Figura 1</b> Precio internacional diario del azúcar crudo en la Bolsa de Nueva York. Contrato N.º 11, enero de 2023–marzo de 2024 (centUSD/libra) .....	18
<b>Figura 2</b> Productividad de caña de azúcar (TCH) y rendimiento de azúcar por hectárea (TAH) en el periodo 2014–2023 .....	19
<b>Figura 3</b> Producción de caña molida en Colombia y promedio de los últimos diez años (2014–2023) .....	20
<b>Figura 4</b> Producción mundial de azúcar por país .....	21
<b>Figura 5</b> Proceso de conversión del almidón en glucosa mediante licuefacción y sacarificación. ....	32
<b>Figura 6</b> Gráfica de interacción entre el %sólidos y la dosis de enzima sobre la concentración de (AF g/L) obtenidos durante la sacarificación de harina de arroz .....	55
<b>Figura 7</b> Residuos vs valores ajustados .....	58
<b>Figura 8</b> Cromatogramas curva de calibración de glucosa obtenida mediante HPLC ....	63
<b>Figura 9</b> Cromatogramas de las muestras correspondientes a los ensayos del diseño experimental a las 38 horas de sacarificación .....	63

## Lista de tablas

<b>Tabla 1</b>	Escenario de oferta de melaza, miel B y Miel Virgen en 2023 .....	16
<b>Tabla 2</b>	Precio internacional del azúcar crudo 2014-2023 (centUSD/libra).....	18
<b>Tabla 3</b>	Diseño experimental propuesto.....	47
<b>Tabla 4</b>	Materiales y Reactivos Determinación de Azúcares Fermentables.....	48
<b>Tabla 5</b>	Resultados fisicoquímicos harina de arroz .....	53
<b>Tabla 6</b>	Análisis de varianza (ANOVA).....	55
<b>Tabla 7</b>	Medias estimadas e intervalos de confianza al 95 % para la concentración de (AF g/L) en función del % sólidos y la dosis de enzima durante la sacarificación de harina de arroz. ....	56
<b>Tabla 8</b>	Coefficientes del modelo lineal del diseño factorial para la producción de azúcares fermentables (g/L) en la sacarificación de harina de arroz. ....	60
<b>Tabla 9</b>	Estadísticas del modelo.....	61
<b>Tabla 10</b>	Resultados diseño experimental.....	81

## Lista de anexos

<b>Anexo 1</b> Resultados del diseño experimental.....	81
--	----

## Introducción

Las plantas productivas de las empresas biotecnológicas dedicadas a procesos fermentativos ubicadas en el departamento del Valle del Cauca se han especializado en dar respuesta con calidad, cumplimiento y costo-efectivo a sus clientes siempre con un sentido de responsabilidad social y ambiental. La ubicación geográfica de las empresas brinda ventajas estratégicas y logísticas, ya que se encuentra en las cercanías de ingenios azucareros (Bruszies, 2025). Estos proveen jugos de caña de azúcar de diferentes tipos o denominaciones de mercado.

En el sector de producción de levadura, alcohol carburante y otros productos derivados de fermentaciones que reciben materias primas de ingenios azucareros, los jugos de caña empleados son: miel virgen, miel A, miel B y miel C (melaza – miel de purga) citados de mayor a menor contenido de azúcares fermentables y nivel de pureza. Sin embargo, factores políticos, económicos, climáticos y sociales del mercado de la caña de azúcar han llevado a los ingenios azucareros a destinar, preferencialmente, la producción de azúcar a la fabricación de alcohol carburante (Jamir et al., 2021). Esto ha dejado a varias empresas con desabastecimiento de jugos de caña de azúcar y/o sobrecostos de materia prima por el aumento considerable en los precios de venta de las mencionadas mieles. Lo anterior también impacta a nivel interno en la variabilidad en los co-productos de los procesos fermentativos, lo cual incrementa los esfuerzos de operación, procesamiento y costos de operación de la planta de tratamiento de aguas residuales. Es así como surge un gran interés por el desarrollo de métodos alternativos de crecimiento de levadura a partir de nuevas fuentes de carbono y azúcares fermentables, que sirvan como plan de contingencia a los jugos de caña de azúcar y con mínimo impacto en la línea de producción actual (tecnología, calidad, costos e impacto ambiental). Materias primas disponibles en Colombia como productos agroindustriales (café, soya, cacao, otros), tubérculos

(papa, yuca, otros), plátano, cereales (arroz, maíz, trigo, cebada, otros), hortalizas, legumbres, verduras y sus residuos son atractivos por sus contenidos de almidón o carbohidratos. Sin embargo, su disponibilidad, las negociaciones internas entre empresas y sociedades establecidas en conjunto con la experiencia en tecnologías enzimáticas hacen del arroz una fuente atractiva dado su alto contenido de almidón (que oscila entre el 70 a 80%) (Chen, 1998). La hidrólisis enzimática del almidón del arroz permite obtener jarabes ricos en azúcares fermentables sin necesidad de pretratamientos complejos, facilitando su uso directo en fermentaciones (Lee et al., 2015), además estudios han demostrado que cepas amilolíticas modificadas de *S. cerevisiae* pueden fermentar eficientemente sustratos ricos en almidón como arroz y residuos agrícolas para producir etanol y otros metabolitos (Cripwell et al., 2023). Por otro lado, la utilización de hidrolizados derivados del arroz ha sido explorada con éxito para la producción microbiana, evidenciando un buen crecimiento y rendimiento fermentativo comparable a medios comerciales (Lertsriwong et al., 2025).

Las tecnologías asociadas a la obtención de azúcares fermentables a partir del arroz se basan en procesos químicos y bioquímicos, pero existen otras técnicas de hidrólisis, como la licuefacción y la sacarificación de almidón mediante enzimas. A su vez, la presentación del arroz en forma de harina por parte del proveedor contactado garantiza la disponibilidad inmediata del material para una línea de proceso enzimático, sin tener que realizar un pretratamiento previo como la molienda y separación de la cáscara. En este trabajo de grado de maestría en biotecnología alimentaria pretende evaluar el efecto de las condiciones de hidrólisis enzimática para la obtención de jarabe de arroz como fuente de carbono alternativa en el crecimiento de levadura.

## Planteamiento del problema

La empresa ubicada en el Valle del Cauca se especializa en la producción de levadura. Estos procesos productivos dependen fundamentalmente de una fuente de carbono, siendo los jugos de caña la materia prima tradicionalmente utilizada por su alto contenido de azúcares fermentables, esenciales para el proceso fermentativo. A continuación, en la **Tabla 1**, se muestra el escenario de la oferta de melaza miel B y miel virgen en 2023, donde se puede observar cuáles son los proveedores que tienen dentro de su portafolio esta materia prima y cuál es su participación en el mercado.

**Tabla 1**

*Escenario de oferta de melaza, miel B y miel virgen en 2023*

Ingenio	Participación Nacional	Disponibilidad			
		Melaza	Miel B	Miel Virgen	Miel orgánica
Incauca	18.0%	No produce	En desarrollo	No vende	No vende
Providencia	10.6%	No produce	No vende	No vende	Activa
Riopaila	18.7%	No produce	Activa	No vende	No produce
Castilla	8.5%	Activa	En desarrollo	No vende	No produce
Mayaguez	10.6%	No produce	No vende	No vende	No produce
San Carlos	2.5%	En desarrollo	No vende	En desarrollo	No produce
Manuelita	12.2%	No produce	No vende	No vende	No vende
La Cabaña	5.5%	Activa	No vende	No vende	No certificada
Risaralda	5.3%	No produce	No vende	No vende	No produce
Pichichi	4.7%	No aprobada	Activa	No aprobada	En desarrollo
Carmelita	2.6%	Activa	No vende	No vende	En desarrollo

---

Otros	0.8%
-------	------

---

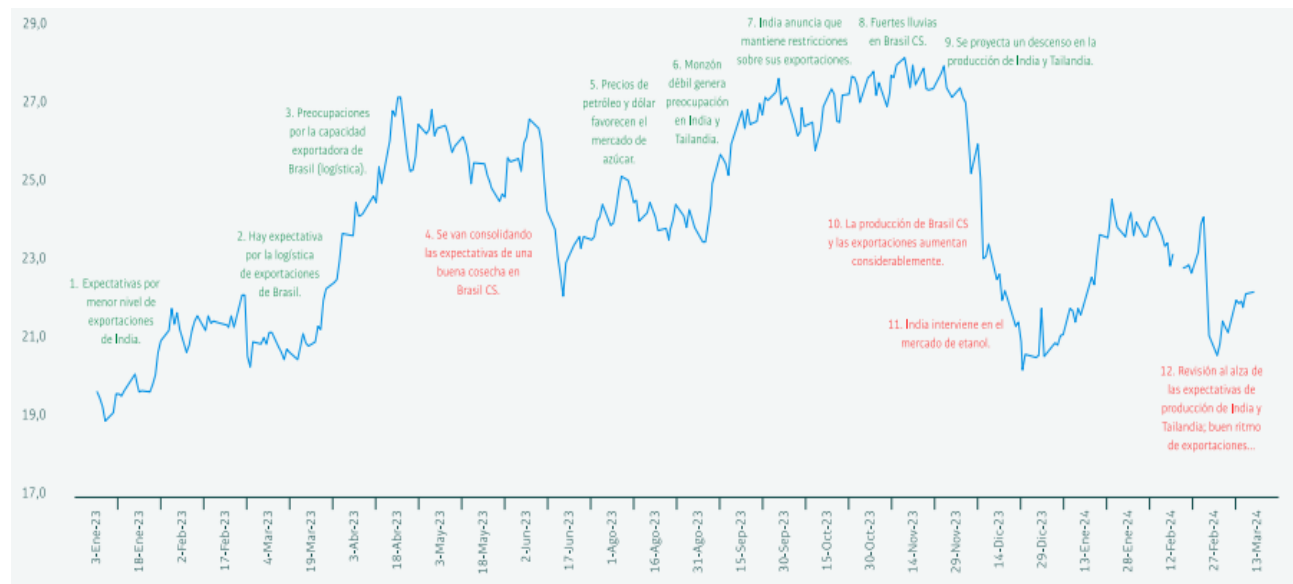
*Nota.* Elaboración propia a partir de información recopilada de una empresa productora de levadura en el Valle del Cauca, 2023.

Sin embargo, entre los años 2022-2023, la adquisición de jugos de caña se ha convertido en un desafío crítico para la empresa por el aumento de la demanda debido a la creciente producción de azúcar refinada y alcohol, lo que ha incrementado drásticamente el uso de jugos de caña en el mercado y como consecuencia de esta se han presentado periodos de desabastecimiento y alza de precios. En la **Tabla 1** se puede evidenciar que son pocos los proveedores activos en 2023 que pueden suministrar materia prima para los procesos.

Según (Asocaña, 2024) en 2023 los precios internacionales del azúcar crudo se ubicaron en un nivel promedio de USD 24,08 centavos la libra, un crecimiento del 27,94% frente al 2022. El precio mínimo de 2023 se registró el seis de enero con USD 18,96 centavos la libra y el máximo fue de USD 27,95 centavos la libra, el 6 de noviembre, un precio que no se presentaba desde el 15 de septiembre de 2011, como se muestra en la **Figura 1**. El azúcar blanco, por su parte, exhibió un precio promedio de 663,23 dólares la tonelada, un aumento del 23,13% con respecto al 2022. En la **Figura 1** también se pueden evidenciar las fluctuaciones del precio en el mercado dependiendo de las condiciones socioeconómicas de los países en el mundo que se dedican a la producción y comercialización de este producto. La variación de precios en el mercado se puede evidenciar desde 2013 según la **Tabla 2**. Donde mes a mes los valores tienen una variación, y en algunas ocasiones unas más significativas que otras.

**Figura 1**

*Precio internacional diario del azúcar crudo en la Bolsa de Nueva York. Contrato N.º 11, enero de 2023–marzo de 2024 (centUSD/libra)*



*Nota.* Tomado de *Informe anual del sector azucarero colombiano 2023–2024*, por Asociación de Cultivadores de Caña de Azúcar de Colombia, 2024, <https://www.asocana.org>

**Tabla 2**

*Precio internacional del azúcar crudo 2014-2023 (centUSD/libra)*

Año	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sept	Oct	Nov	Dic	$\bar{x}$
2014	15,42	16,28	17,58	17,01	17,5	17,22	17,18	15,89	14,6	16,48	15,88	14,99	16,34
2015	15,06	14,52	12,84	12,93	12,7	11,75	11,88	10,67	11,32	14,14	14,89	15	13,14
2016	14,29	13,31	15,43	15	16,68	19,34	19,69	20,01	21,35	22,92	20,87	18,83	18,14
2017	20,54	20,41	18,06	16,32	15,69	13,53	14,12	13,8	13,93	14,23	14,97	14,43	15,83
2018	13,98	13,57	12,83	11,82	11,83	12,06	11,16	10,46	10,78	13,18	12,79	12,55	12,25
2019	12,68	12,93	12,47	12,54	11,83	12,44	12,13	11,56	11,16	12,46	12,69	13,34	12,35
2020	14,17	15,07	11,81	10,05	10,64	11,83	11,9	12,81	12,44	14,29	14,93	14,67	12,88
2021	15,92	17	15,81	16,24	17,2	17,21	17,71	19,38	19,26	19,62	19,75	19,17	17,86

2022	18,46	18,2	19,11	19,68	19,27	18,8	18,35	18,06	18,19	18,3	19,4	20,02	18,82
2023	19,95	21,4	20,96	24,63	25,75	24,68	24,04	24,19	26,6	26,9	27,31	22,22	24,05

*Nota.* Precio internacional del azúcar crudo 2014–2023 (centUSD/libra). Tomado de *Informe anual del sector azucarero colombiano 2023–2024*, por Asociación de Cultivadores de Caña de Azúcar de Colombia, 2024, <https://www.asocana.org>

El impacto del cambio climático y las condiciones meteorológicas extremas, como fuertes lluvias y olas de calor, han afectado los cultivos de caña de azúcar, reduciendo aún más la disponibilidad de los jugos de caña. Según (Asocaña, 2024) a nivel interno, durante el 2023 Colombia se vio afectada por condiciones climáticas extremas que desafiaron la producción de caña y azúcar. Las lluvias intensas al inicio del año y la saturación del suelo debido al prolongado fenómeno de la niña limitaron la producción.

Las Toneladas de Caña por Hectárea (TCH) cosechadas pasaron de 117,8 en 2022 a 102,0 en 2023, una disminución de 13,3% como se muestra en la **Figura 2**. Como consecuencia, la molienda de caña de azúcar de los ingenios azucareros colombianos resultó fuertemente impactada, totalizando una producción de 20,9 millones de toneladas, 9,2% menos que en 2022 (23,0 millones de toneladas) ver **Figura 3**. Entretanto, las Toneladas de Azúcar por Hectárea (tah) se ubicaron en 10,8, es decir, 12,5% por debajo de la cifra de 2022. (Asocaña, 2024).

## **Figura 2**

*Productividad de caña de azúcar (TCH) y rendimiento de azúcar por hectárea (TAH) en el periodo 2014–2023*



*Nota.* TCH = toneladas de caña por hectárea; TAH = toneladas de azúcar por hectárea.

Tomado de Informe anual del sector azucarero colombiano 2023–2024, por Asociación de Cultivadores de Caña de Azúcar de Colombia, 2024, <https://www.asocana.org>

**Figura 3**

*Producción de caña molida en Colombia y promedio de los últimos diez años (2014–2023)*

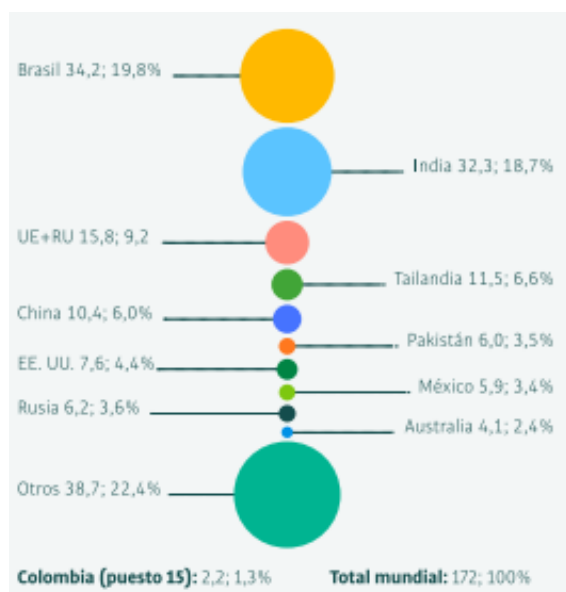


*Nota.* t = toneladas. Promedio de 10 años de caña molida = 23.516.761 t. Tomado de *Informe anual del sector azucarero colombiano 2023–2024*, por Asociación de Cultivadores de Caña de Azúcar de Colombia, 2024, <https://www.asocana.org>

Se puede evidenciar que Colombia tiene una baja incidencia en el mercado internacional, aunque ocupó la posición número 15 entre los principales productores, en el periodo de referencia (promedio 2018-2022), su participación de mercado fue apenas de 1,3%, un porcentaje demasiado bajo frente a la demanda que se tiene de este producto, como se puede observar en la **Figura 4**.

#### **Figura 4**

*Producción mundial de azúcar por país*



*Nota.* UE = Unión Europea; RU = Reino Unido; EE. UU. = Estados Unidos. Tomado de *Informe anual del sector azucarero colombiano 2023–2024*, por Asociación de Cultivadores de Caña de Azúcar de Colombia, 2024, <https://www.asocana.org>

Ante esta situación, la empresa se ha visto obligada a implementar medidas de contingencia que han generado nuevos problemas como la diversificación de proveedores, lo que ha resultado en la adquisición de jarabes de caña de calidad variable, la flexibilización de parámetros de aceptación, donde para asegurar el suministro, se han tenido que aceptar lotes de jugos de caña que no cumplen con los estándares óptimos de calidad, y dada a esta variabilidad en la calidad de estos jarabes se ha afectado las características del producto terminado impactando la calidad del producto final, además un aumento de la carga orgánica en efluentes de PTAR lo que implica sobrecostos en el tratamiento de aguas residuales.

Esta problemática multifacética no solo pone en riesgo la calidad y consistencia de los productos de la compañía, sino que también amenaza la sostenibilidad económica y ambiental de sus operaciones. Se hace evidente la necesidad urgente de encontrar una fuente alternativa de carbono que sea estable, económicamente viable y ambientalmente sostenible para garantizar la continuidad y eficiencia de los procesos productivos de la empresa.

El uso del jarabe de azúcares fermentables de arroz en los procesos fermentativos para el crecimiento de levadura y su uso en panadería y bio-ingredientes no ha sido explorado, ya que la mayoría de los estudios publicados se enfocan a elaboración de bioetanol a partir de hidrolizados de cereales como maíz. La hidrólisis enzimática del almidón con  $\alpha$ -amilasa y glucoamilasa es un proceso eficiente que permite obtener jarabes con un alto contenido de glucosa o también llamada Dextrosa Equivalente (D.E. superior a 96). Esto implica un aumento considerable en los rendimientos en dextrosa o conversión casi completa del almidón. Este proceso ha sido demostrado en investigaciones realizadas por diferentes autores, como (Acosta-Pavas et al., 2020), (Ruiz et al., 2011) y (Casas et al., 2013).

La literatura disponible sobre el uso de derivados del arroz en la producción de levadura industrial es aún limitada y, en su mayoría, indirecta. Existen estudios que abordan el uso de subproductos como el salvado de arroz o sus hidrolizados como medios de cultivo para *Saccharomyces cerevisiae*, así como investigaciones en el contexto cervecero que emplean arroz como adjunto. Sin embargo, son escasos los trabajos que analicen específicamente el jarabe de arroz como sustrato definido para la producción de levadura panadera. Por ejemplo, se ha reportado que en salvado de arroz desgrasado estabilizado, *S. cerevisiae* incrementó su población de 1.5 a 7.2 Log CFU/mL en 42 horas, lo que sugiere su potencial como medio de bajo costo. Asimismo, en hidrolizados de salvado de arroz, el crecimiento microbiano fue comparable al de medios comerciales bajo ciertas condiciones, observándose una correlación entre la tasa de crecimiento y la concentración de glucosa (Lee et al., 2015; Webber et al., 2014). No obstante, estos estudios no abordan directamente el uso del jarabe de arroz como sistema independiente.

Uno de los principales vacíos en el conocimiento radica en la caracterización nutricional del jarabe de arroz para la levadura. No se dispone de información consistente sobre la presencia y concentración de compuestos clave como aminoácidos libres, nitrógeno amino libre (FAN), vitaminas esenciales (biotina y pantotenato), minerales traza y compuestos azufrados. Esta limitación es crítica, ya que estudios previos han demostrado que la sustitución de fuentes tradicionales como la melaza por otros sustratos, como el jarabe de maíz, puede alterar significativamente la fisiología de la levadura. En particular, la disponibilidad limitada de micronutrientes como cobre, hierro, zinc y azufre puede afectar la formación de reservas intracelulares y la integridad de las membranas celulares (Chen et al., 2025).

Otro aspecto aún no resuelto es si el jarabe de arroz puede actuar como fuente única de carbono o si necesariamente requiere suplementación con nitrógeno y minerales para sostener un

crecimiento óptimo de la levadura. Algunos estudios en fermentación cervecera han mostrado que mostos con arroz pueden aportar mayores niveles de nitrógeno soluble total (TSN), FAN y péptidos asimilables en comparación con jarabes de maltosa (Agu, 2006). Sin embargo, estos resultados no son directamente extrapolables a sistemas de propagación de levadura panadera, donde las condiciones y requerimientos metabólicos pueden diferir considerablemente.

Adicionalmente, existe una falta de información sobre el diseño de proceso específico para el uso de jarabe de arroz, incluyendo variables críticas como pH, aireación, temperatura, estrategias de alimentación y densidad celular. Aunque estudios relacionados sugieren que estos factores tienen un impacto significativo en el crecimiento y rendimiento de la levadura, la evidencia disponible se basa en otros sustratos y no en jarabe de arroz como medio principal (Chen et al., 2025; Lee et al., 2015).

Finalmente, el desempeño de la levadura obtenida a partir de jarabe de arroz en etapas posteriores del proceso industrial es aún poco conocido. No se cuenta con datos suficientes sobre parámetros clave como la capacidad de levado, producción de CO<sub>2</sub>, tolerancia al secado o viabilidad del producto final. Investigaciones sobre sustitución de melaza por jarabe de maíz destacan que la comprensión de la fisiología de la levadura durante procesos de deshidratación sigue siendo limitada, lo que sugiere que este es también un punto crítico para el caso del jarabe de arroz (Chen et al., 2025).

En conjunto, el principal vacío de conocimiento no radica en la capacidad de la levadura para crecer en sustratos derivados del arroz, sino en la definición precisa de la composición óptima del jarabe de arroz, los requerimientos mínimos de suplementación y su impacto en la calidad tecnológica de la levadura producida. Una revisión más exhaustiva de la literatura podría

ampliar y profundizar en estos vacíos, contribuyendo al desarrollo de procesos más eficientes y estandarizados para su aplicación industrial.

Finalmente, ¿cómo influyen la concentración de sólidos del sustrato y la dosis de enzimas para obtener una concentración adecuada de azúcares fermentables en el jarabe de arroz que pueda reemplazar las fuentes de carbono convencionales?

## Justificación

El presente proyecto se fundamenta en la necesidad de ampliar el conocimiento en el campo de la biotecnología industrial, particularmente en el desarrollo de rutas alternativas para la obtención de fuentes de carbono fermentables. En este contexto, se propone la hidrólisis enzimática de harina de arroz como estrategia para la producción de jarabe rico en azúcares fermentables. Este enfoque contribuye a profundizar la comprensión de los procesos de conversión de almidón y su aprovechamiento en sistemas fermentativos, abordando una brecha identificada en la literatura relacionada con el uso de hidrolizados de arroz como sustrato para el crecimiento de levaduras en aplicaciones de panificación y producción de bioingredientes.

Desde el punto de vista metodológico, la investigación se sustenta en un diseño experimental robusto, basado en un diseño factorial completo y el uso de herramientas analíticas como cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), lo que permite evaluar de manera sistemática el efecto de variables críticas como la concentración de sólidos y la dosis de enzima. Asimismo, la caracterización fisicoquímica de la harina de arroz (humedad, proteína, cenizas, grasa y pH) proporciona una base técnica sólida para determinar la idoneidad de la materia prima en el proceso de hidrólisis. En conjunto, estos elementos permiten generar conocimiento confiable sobre la relación entre las condiciones del proceso y la obtención de azúcares fermentables.

Desde una perspectiva aplicada, este estudio responde a la problemática asociada a la alta dependencia de fuentes tradicionales de carbono, como los jugos de caña, en la industria de fermentación. Esta dependencia puede generar vulnerabilidades en términos de disponibilidad, costos y estabilidad del suministro. En este sentido, el desarrollo de jarabe de arroz como

alternativa potencial representa una estrategia para diversificar las materias primas utilizadas en procesos industriales.

La evaluación del jarabe de arroz mediante análisis cromatográfico permitirá determinar su composición de azúcares fermentables y compararla con otras fuentes convencionales, lo que constituye un paso clave para establecer su viabilidad tecnológica. Si bien los resultados de esta investigación se desarrollan a escala experimental, estos podrían servir como base para futuros estudios de escalamiento y validación industrial. En ese contexto, la posible implementación de esta alternativa podría contribuir a mejorar la resiliencia operativa de las industrias fermentativas, aunque su impacto económico y productivo deberá ser evaluado en estudios posteriores más específicos.

Desde el punto de vista ambiental, la diversificación de materias primas hacia fuentes alternativas como el arroz podría contribuir a mejorar la sostenibilidad de los procesos industriales, especialmente si se considera el uso de cultivos con cadenas de suministro más estables. No obstante, es importante señalar que afirmaciones relacionadas con la reducción de emisiones de carbono o impactos ambientales específicos requieren ser sustentadas mediante análisis detallados, como evaluaciones de ciclo de vida, que no forman parte del alcance del presente estudio.

El uso de jarabe de arroz como fuente alternativa de carbono en procesos de fermentación puede enmarcarse dentro de las tendencias actuales hacia bioprocesos más sostenibles basados en biomasa renovable y principios de economía circular; sin embargo, su contribución directa a los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS 9, 12 y 13) debe interpretarse con cautela. Diversos estudios sugieren que la sustitución de materias primas convencionales por fuentes renovables podría favorecer la producción responsable y, potencialmente, la reducción de emisiones (Adebo

et al., 2025; Kumar et al., 2022), así como la valorización de subproductos y residuos en esquemas de economía circular (Capozzi et al., 2021; Ioannidou et al., 2020; Ebrahimian et al., 2023). No obstante, estos beneficios han sido documentados principalmente en sistemas generales de bioprocesamiento y no específicamente para el jarabe de arroz, por lo que su extrapolación debe realizarse con precaución. En este sentido, factores como el origen de la materia prima, el consumo energético del proceso y la eficiencia global del sistema condicionan su impacto real, siendo necesarios estudios específicos

En cuanto a las políticas públicas, si bien es cierto que la implementación de innovaciones tecnológicas en biotecnología requiere marcos de apoyo adecuados, como infraestructura, transferencia tecnológica y capacitación, el presente estudio se limita a una fase experimental. Por lo tanto, cualquier implicación en términos de política industrial o sostenibilidad a gran escala debe interpretarse como una proyección potencial y no como un resultado demostrado.

En conjunto, esta investigación aporta evidencia científica sobre el uso potencial del jarabe de arroz como fuente alternativa de carbono en procesos fermentativos, al tiempo que establece una base técnica para futuras evaluaciones a escala industrial y ambiental. Si bien los resultados permiten vislumbrar posibles beneficios en términos de diversificación de materias primas, su impacto en sostenibilidad, economía y políticas públicas deberá ser confirmado mediante estudios complementarios.

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

Analizar el efecto de la concentración de sólidos del sustrato y la concentración de enzimas sobre las variables de respuesta del proceso de hidrólisis enzimática de la harina de arroz.

### **Objetivos específicos:**

Evaluar las propiedades fisicoquímicas de la harina de arroz, incluyendo humedad, proteína, cenizas, grasas, carbohidratos y pH mediante análisis gravimétrico para caracterizar la materia prima.

Determinar el efecto de la concentración de sólidos del sustrato y la concentración de enzimas sobre la cantidad de azúcares fermentables obtenidos del proceso de hidrólisis enzimática de la harina de arroz.

Evaluar la composición de azúcares fermentables del jarabe producido por medio de análisis cromatográfico, para determinar el potencial del jarabe de harina de arroz como sustrato para procesos fermentativos.

## **Marco conceptual y teórico**

La hidrólisis enzimática del almidón de arroz representa una estrategia prometedora para obtener jarabes con alto contenido de azúcares fermentables que pueden servir como fuente alternativa para el crecimiento de levaduras, estudios recientes demuestran que el análisis de estos parámetros puede a futuro permitir obtener jarabes con perfiles glucídicos comparables a los de fuentes convencionales como la sacarosa de caña (J. Li et al., 2021). A continuación, se abordarán en 3 ejes fundamentales abarcando la caracterización fisicoquímica de la harina de arroz, la función de las enzimas en la hidrólisis y la composición de azúcares fermentables obtenidos en el producto final.

### **Caracterización fisicoquímica de la harina de arroz**

#### ***Composición de la harina de arroz***

La harina está compuesta principalmente por materia seca que se encuentra entre 85-90%, lo que asegura una alta concentración de carbohidratos disponibles para el proceso (Ronie & Hasmadi, 2022) y carbohidratos, que son principalmente almidón y constituye entre el 70-80% del peso seco, siendo el componente clave para la producción de azúcares fermentables (Suklaew et al., 2020). En menor proporción, pero no menos importantes se encuentran la proteína esta entre un 7-10%, que puede influir en las propiedades funcionales durante la hidrólisis (Yu et al., 2024), el contenido lipídico, generalmente inferior al 2%, lo que minimiza interferencias en el proceso enzimático y las cenizas representan entre el 0.5-1%, indicando baja presencia de minerales que podrían inhibir las enzimas (Ronie & Hasmadi, 2022).

### ***Factores que afectan las propiedades del sustrato***

La humedad, el pH y la temperatura de procesamiento son factores críticos (Yu et al., 2024), estas propiedades son críticas para evaluar la calidad del sustrato y optimizar las condiciones operativas del proceso. Por ejemplo, según el estudio de (Yu et al., 2024) la reducción en el tamaño promedio de partícula mediante molienda semi-seca incrementa hasta un 22% la digestibilidad del almidón, es decir, que facilita su descomposición y absorción en azúcares más simples, como glucosa, que luego pueden ser utilizados en procesos de fermentación. Así mismo, el contenido proteico puede formar complejos con el almidón, afectando su hidrólisis, mientras que los lípidos y cenizas en bajas cantidades minimizan interferencias enzimáticas. Estos hallazgos subrayan la necesidad de una caracterización detallada para predecir el comportamiento del sustrato en el proceso.

### ***Relevancia para la hidrólisis enzimática***

La composición fisicoquímica de la harina de arroz establece las condiciones iniciales del proceso de hidrólisis. Un alto contenido de almidón y una baja presencia de inhibidores (como minerales en cenizas) facilitan la conversión enzimática en azúcares fermentables, alineándose con el objetivo de determinar la idoneidad del sustrato para su uso industrial. La composición de la harina de arroz influye directamente en la eficiencia de la hidrólisis enzimática y en la cantidad de azúcares fermentables obtenidos (Xiao et al., 2023), cambios en su estructura molecular, como el aumento de la porosidad y la disminución de la cristalinidad, facilitan el acceso de las enzimas al almidón, mejorando la liberación de azúcares (Amin et al., 2024); La caracterización también permite ajustar variables como tipo y concentración de enzimas, temperatura y tiempo de reacción para maximizar la producción de azúcares fermentables (Hoang & Duc, 2022).

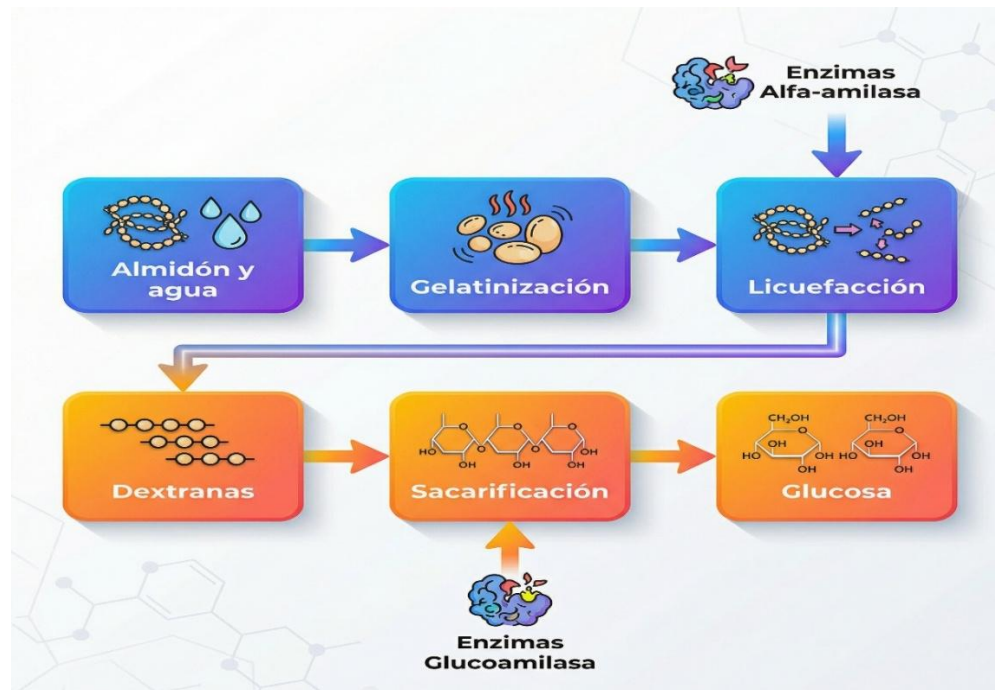
## Hidrólisis enzimática del almidón de arroz

### *Principios del proceso enzimático*

La hidrólisis enzimática se lleva a cabo en dos etapas principales: licuefacción, donde la  $\alpha$ -amilasa rompe los enlaces  $\alpha$ -1,4-glucosídicos, y sacarificación, donde la glucoamilasa convierte las dextrinas en glucosa libre (Radzlin et al., 2024) como se puede observar en la **Figura 5**. Este proceso es eficiente para obtener jarabes con alto contenido de azúcares fermentables, como se evidencia en estudios de (J. Li et al., 2021), quienes lograron un 92% de conversión a glucosa con 30% de sólidos y 60 U/g de  $\alpha$ -amilasa.

### **Figura 5**

*Proceso de conversión del almidón en glucosa mediante licuefacción y sacarificación.*



*Nota.* Imagen generada con inteligencia artificial mediante Lovart AI a partir de una imagen del autor, 2026.

### ***Enzimas claves y condiciones operativas***

Como se mencionaba, las enzimas clave utilizadas en este proceso son la  $\alpha$ -Amilasa que es la enzima que cataliza la ruptura inicial del almidón crudo y genera dextrinas solubles. En estudios recientes, se ha identificado una  $\alpha$ -amilasa termoestable derivada de *Jeotgalibacillus malaysiensis* con actividad específica de 68.4 U/mg a 50°C y pH 6.5, ideal para licuefacción industrial (Radzlin et al., 2024), por otro lado la glucoamilasa que opera a 60°C y pH 4.0-4.5 también juega un papel importante ya que esta convierte las dextrinas generadas por la  $\alpha$ -amilasa en glucosa libre, mejorando significativamente el rendimiento global del proceso maximizando la producción de glucosa (Z. Li et al., 2023). Su combinación con  $\alpha$ -amilasa mejora el rendimiento global, como mencionaba en su estudio (Witasari et al., 2024), donde la hidrólisis de alcanzó una mayor área superficial.

### ***Variables críticas***

**Concentración de sólidos.** La concentración de sólidos afecta la viscosidad y la eficiencia enzimática. (Hoang & Duc, 2022) optimizaron la hidrólisis de arroz germinado con un 0.8% (v/w) de enzima, logrando 24.5 mg/mL de azúcares reductores.

Las altas concentraciones de sólidos pueden reducir la eficiencia de la hidrólisis debido a factores como una mezcla insuficiente, limitaciones en la transferencia de masa y el aumento de las concentraciones de inhibidores (Modenbach & Nokes, 2014).

En el estudio realizado por (Molaverdi et al., 2019), se observó que un proceso con 15% y 30% de sólidos, se la producción de azúcares totales fue mayor a 15%, pero a 30% solo se mantuvo alta si se aumentó también la dosis de enzima.

Dentro del proceso de hidrólisis se ha encontrado que operar con altos niveles de sólidos totales reduce el consumo de agua y minimiza la generación de efluentes, lo que se traduce en menores costos de producción (Fockink et al., 2016).

Si bien las altas concentraciones de sólidos pueden mejorar la eficiencia y el rendimiento de la hidrólisis, también plantean desafíos en términos de viscosidad y actividad enzimática. Por lo tanto, se debe lograr un equilibrio preciso para optimizar eficazmente el proceso de hidrólisis enzimática.

**Dosis de enzimas.** La dosis de enzima influye en la velocidad y el grado de conversión; (J. Li et al., 2021) usaron 60 U/g para alta carga de sustrato, mientras que (Weiss et al., 2025) reportaron un 92% de conversión con enzimas de hidrólisis granular.

Dosis más altas de enzima pueden aumentar la velocidad de reacción, pero este efecto es más pronunciado a concentraciones más bajas de sólidos, donde la disponibilidad de sustrato no es un factor limitante (Kim et al., 2014).

En la hidrólisis enzimática del almidón de arroz, se han identificado concentraciones óptimas de enzima mediante la metodología de superficie de respuesta, con condiciones específicas que producen la máxima producción de glucosa. Por ejemplo, se determinó que una concentración de enzima del 1,34 % era óptima con una concentración de almidón del 8,17 % (K.Tamilarasan et al., n.d.).

La dosis de enzima no solo afecta el rendimiento, sino también la calidad del producto final. Por ejemplo, la variación de las concentraciones de  $\alpha$ -amilasa y glucoamilasa influyó en las características reológicas y espectroscópicas de la harina de arroz (Amin et al., 2024).

Las concentraciones excesivas de enzimas pueden inhibir el producto final, lo que limita el grado de hidrólisis. Este fenómeno se observó en estudios donde altas concentraciones de almidón dificultaron la hidrólisis completa; además, la presencia de gránulos de almidón resistentes puede plantear desafíos, lo que requiere un enfoque equilibrado para la dosificación de enzimas (Lei et al., 2012).

## **Composición y análisis de azúcares fermentables**

### ***Perfil glucídico del jarabe de arroz***

El jarabe producido mediante hidrólisis contiene un perfil glucídico compuesto principalmente por glucosa (75-85%), maltosa (10-15%) y trazas menores de maltotriosa y otros oligosacáridos (Fatourehchi et al., 2022) además según estudios como el de (Turini et al., 2021) reportaron un 70% de conversión de almidón en subproductos de arroz.

El perfil glucídico varía según el tipo de arroz (malteado o no malteado), las condiciones de germinación y las enzimas empleadas. El arroz malteado tiende a producir jarabes con mayor contenido de maltosa (Ofoedu et al., 2019).

En el estudio realizado por (Schirner et al., 1991) informó que la hidrólisis podría producir concentraciones de glucosa del 96-98 % al utilizar una combinación de alfa-amilasa y glucoamilasa en condiciones controladas. Las condiciones óptimas de hidrólisis, como una temperatura de 60 °C y concentraciones específicas de enzimas, pueden mejorar significativamente la producción de glucosa (Amin et al., 2024).

Diversos estudios han optimizado las condiciones enzimáticas y tecnológicas para maximizar el rendimiento y la pureza del jarabe, empleando métodos como la hidrólisis

enzimática, el uso de membranas cerámicas para clarificación y tecnologías avanzadas de separación (Hang et al., 2024).

La hidrólisis enzimática puede producir altas concentraciones de glucosa, el porcentaje específico puede variar considerablemente según el método y las condiciones utilizadas. Esta variabilidad resalta la importancia de optimizar los parámetros de hidrólisis para alcanzar los niveles de glucosa deseados.

## **Técnicas Analíticas**

### ***Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)***

Los azúcares fermentables son aquellos carbohidratos que poseen un grupo carbonilo libre capaz de reducir iones metálicos en solución alcalina, siendo cuantificables mediante técnicas como el método DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) (Ayala-Armijos et al., 2020), además, son el producto principal de la hidrólisis del almidón y constituyen la base para procesos fermentativos subsecuentes.

Este perfil glucídico también puede ser analizado mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), una técnica más avanzada y precisa para determinar su calidad y viabilidad como fuente alternativa de carbono. El análisis de la composición de azúcares se realizará mediante HPLC con detector de índice de refracción (RID), una técnica validada por (Tiwari et al., 2023) para cuantificar glucosa, fructosa y otros azúcares con un RSD <2%. Además, estudios han demostrado que estos jarabes son eficaces en procesos fermentativos con *Saccharomyces cerevisiae*, logrando rendimientos cercanos a los obtenidos con fuentes convencionales como sacarosa o jarabes comerciales (Almeida et al., 2019).

Un jarabe con alto contenido de azúcares fermentables, obtenido gracias a una hidrólisis eficiente, favorece el crecimiento y la productividad de las levaduras en procesos fermentativos (Hoang & Duc, 2022).

## **Brechas del conocimiento**

### *Avances actuales*

La literatura recopilada recientemente con estudios que van desde el año 2018 hasta el año 2025, muestran un enfoque predominante en la hidrólisis de cereales para bioetanol (Paika et al., 2025), (Hans et al., 2023) y (Myburgh et al., 2019) con menos atención al uso de jarabes de arroz para el crecimiento de levadura en aplicaciones alimentarias.

El análisis bibliográfico revela un marcado énfasis en aplicaciones orientadas a la producción de bioetanol. (Hans et al., 2023) Documentaron procesos a escala industrial capaces de producir 280 L de etanol por tonelada de materia prima, evidenciando la madurez tecnológica en este sector. Sin embargo, las aplicaciones en la industria alimentaria, particularmente en el desarrollo de medios de cultivo para levaduras, han recibido una atención comparativamente menor, pero se ha observado que la concentración de azúcares en el hidrolizado influye en el rendimiento de la fermentación, ya que concentraciones excesivamente altas pueden inhibir el crecimiento de la levadura (Chen et al., 2021).

Diversos estudios han demostrado la viabilidad de utilizar residuos de arroz (paja, cascarilla, arroz cocido) como materia prima para la obtención de azúcares fermentables mediante hidrólisis enzimática y además el uso de pretratamientos alcalino, por ejemplo, con NaOH ha mostrado ser especialmente efectivo para eliminar lignina y hemicelulosa, facilitando la acción enzimática y aumentando el rendimiento de glucosa (Mperiju et al., 2018). También

existen otros métodos, como el pretratamiento con ácido diluido, que han mostrado mejorar la disponibilidad de azúcares, aunque requieren optimización para minimizar la formación de inhibidores.

La producción de bioetanol a partir de biomasa celulósica, como cáscaras y paja de arroz, es un área de investigación activa. El estudio de (Purwoko et al., 2017) mostró que la hidrólisis enzimática de cáscaras de arroz con multienzimas produjo concentraciones de azúcares de 6.54-6.81 mg/mL, superando otros tratamientos. Otro estudio realizado por (Prajapati & Kango, 2023) reportó un rendimiento de bioetanol de 16.15 g/L utilizando *Candida shehatae* para fermentar azúcares derivados de paja de arroz, destacando su capacidad para metabolizar xilosa, además también se encontró que el uso de cócteles enzimáticos producidos por microorganismos como *Aspergillus tubingensis* ha mostrado mejoras significativas en la sacarificación de paja de arroz.

La hidrólisis enzimática convencional ha demostrado ser la más eficiente para la obtención de azúcares fermentables a partir de cascarilla y paja de arroz, superando tecnologías alternativas como el uso de CO<sub>2</sub> supercrítico o ultrasonido (Moscon et al., 2014).

La escasez de estudios centrados en la optimización específica de parámetros de hidrólisis para obtener perfiles de carbohidratos adaptados al crecimiento de levaduras para aplicaciones alimentarias representa una oportunidad significativa para la innovación. Los trabajos de (Suklaew et al., 2020) sobre propiedades funcionales de harinas de arroz y (J. Li et al., 2021) sobre sacarificación de arroz glutinoso proporcionan bases conceptuales valiosas, pero no abordan específicamente la optimización de procesos para la industria de levaduras alimentarias.

## **Contribución de la investigación**

Existe una brecha en la optimización de la hidrólisis enzimática de harina de arroz para fines distintos al bioetanol, particularmente en la industria de levaduras y bioingredientes. Esta investigación llenará este vacío al caracterizar el sustrato, optimizar el proceso con un diseño factorial y validar el jarabe como alternativa viable, contribuyendo al conocimiento en biotecnología alimentaria y a la sostenibilidad industrial. La harina de arroz tiene características fisicoquímicas que la hacen apta para convertirse en azúcares fermentables a través de la hidrólisis enzimática. Al ajustar factores como la cantidad de sólidos y la dosis de enzimas, es posible producir jarabes con perfiles de carbohidratos que son ideales para usos industriales sostenibles reemplazando las fuentes de carbono convencionales.

## **Metodología**

Para la producción de jarabe de arroz se empleó la harina de arroz blanco HARITEC la cual es suministrada por DIANA CORPORACIÓN S.A.S. Los análisis se realizaron basados en métodos AOAC, utilizando materiales como crisoles de porcelana, papel filtro, viales de 2 mL, frascos Schott, balones aforados; reactivos como ácido sulfúrico 96% (Merck), ácido bórico (Merck), cloroformo grado absoluto (Merck), metanol grado absoluto (Merck), agua destilada y tabletas Kjeldahl (Merck); y equipos como, estufa de aire (Memmert), mufla (Ivymen), sistema Kjeldahl (destilador, digestor y Scrubber Buchi), pHmetro (Mettler toledo), autoclave (Matachana), equipo Soxhlet (Buchi) y HPLC con detector IR (Waters).

### **Caracterización fisicoquímica de la harina de arroz como materia prima para la obtención de jarabe de azúcares fermentables**

#### ***Análisis de humedad***

Basado en la AOAC, 18th ed. 925.10 se describe la metodología empleada para realizar la cuantificación utilizando una estufa de aire Memmert.

Se tomó un recipiente de aluminio y se pesó en balanza analítica; se registró el dato y se taró el valor del vaso para proceder a pesar  $2 \text{ g} \pm 0,2 \text{ g}$  de muestra. Se introdujo el recipiente con la muestra en una estufa de aire a  $131,5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1,5 \text{ }^\circ\text{C}$  durante  $45 \text{ min} \pm 2 \text{ min}$ . Transcurrido este tiempo, se retiró el recipiente y se dejó enfriar en el desecador por  $10 \text{ min} \pm 2 \text{ min}$ .

Posteriormente, se extrajo el recipiente del desecador y se pesó nuevamente a temperatura ambiente. El cálculo se realizó según la ecuación (1) y para expresar el dato en %Sólidos se calculó según la ecuación (2):

$$\%Humedad = \frac{A + B - C}{B} \times 100 \quad (1)$$

$$\%Sólidos = \frac{C - A}{B} \times 100 \quad (2)$$

Donde:

A: es el peso en gramos del recipiente.

B el peso en gramos de la muestra húmeda

C: el peso en gramos del recipiente con la muestra seca.

### ***Análisis de proteína***

Basado en la AOAC, 18th ed. 2001.11 se describe la metodología empleada para realizar la cuantificación utilizando un sistema de digestión Kjeldahl que se compone de un destilador Buchi, un digestor Buchi y un Scrubber Buchi.

Se preparó una cápsula de papel y se pesaron  $0,6 \text{ g} \pm 0,06 \text{ g}$  de muestra. La cápsula se llevó a un tubo de digestión y se agregó una tableta Kjeldahl. Posteriormente, se adicionaron  $22 \text{ mL} \pm 2 \text{ mL}$  de ácido sulfúrico concentrado y los tubos se colocaron en el digestor. Se encendió el equipo y el Scrubber, permitiendo la digestión hasta obtener una coloración verde esmeralda. Luego, se apagó el digestor y se dejó enfriar durante 45 minutos; posteriormente, se apagó el Scrubber y se retiraron los tubos.

Por otra parte, se preparó en un matraz Erlenmeyer una solución que contenía  $75 \text{ mL} \pm 5 \text{ mL}$  de ácido bórico al 2% y se añadieron de 3 a 4 gotas de indicador mixto púrpura de metilo. El Erlenmeyer se llevó al destilador; posteriormente, se colocó el tubo de digestión, se adicionaron

20 mL ± 5 mL de agua destilada y NaOH al 30% hasta obtener una coloración azul, y se destiló durante 3 minutos.

Finalmente, con ayuda de una bureta digital, se tituló con ácido sulfúrico 0,2 N hasta observar el viraje de verde a morado y registre el dato del nitrógeno calculado según la ecuación (3) y, a partir del dato de nitrógeno, se calculó el %Proteína según la ecuación (4):

$$\%N: \frac{V(mL) * N \left(\frac{meq}{ml}\right) * 1.4 \left(\frac{g}{meq}\right)}{P (g)} \quad (3)$$

$$\%Proteina: \%N * 6.25 \quad (4)$$

Donde:

V: es el volumen en mL de ácido sulfúrico gastado en la titulación

N: es la normalidad del ácido sulfúrico en meq/mL

P: es el peso de la muestra en g.

### ***Análisis de cenizas***

Basado en la AOAC, 18th ed. 923.03 se describe la metodología empleada para realizar la cuantificación utilizando una mufla Ivymen

Se tomó un crisol de porcelana y se pesó en balanza analítica; se registró el dato y se taró el valor del crisol para proceder a pesar 6 g ± 0,06 g de muestra. Posteriormente, la muestra se pre-calcinó en una estufa dentro de una cabina de extracción hasta que no se observara desprendimiento de vapores. Se apagó el horno, se dejó en reposo durante 30 minutos, se retiró el crisol y se llevó a una mufla.

La temperatura de la mufla se elevó a  $600\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 50\text{ }^{\circ}\text{C}$  y se mantuvo durante  $4\text{ h} \pm 15\text{ min}$ , hasta que las cenizas presentaron tonos homogéneos entre blanco y gris. Luego, se dejó enfriar la mufla y el crisol se trasladó a un desecador por  $35\text{ min} \pm 5\text{ min}$ . Finalmente, se extrajo el crisol del desecador y se pesó nuevamente a temperatura ambiente. El %Ceniza se calculó según la ecuación (5) :

$$\%Cenizas = \frac{A - B}{C} \times 100 \quad (5)$$

Donde:

A: es el peso en gramos de la muestra + cápsula después de calcinar

B: es el peso en gramos de la cápsula

C: es el peso en gramos de la muestra.

### ***Análisis de grasa***

Basado en la AOAC 920.39 15th ed. se describe la metodología empleada para realizar la cuantificación utilizando un extractor de grasas Buchi y una estufa de aire binder.

Se pesó  $1\text{ g} \pm 0,07\text{ g}$  de muestra en papel filtro y se ubicó dentro del dedal del equipo Soxhlet. Se pesó el vaso de solvente y se registró este valor; posteriormente, se tomaron  $120\text{ mL} \pm 5\text{ mL}$  de la solución extractora cloroformo-metanol (2:1) y se depositaron en el vaso.

Los elementos se colocaron dentro del equipo, se cerró el sistema Soxhlet y se inició la extracción automática, la cual consistió en 30 minutos de precalentamiento, 3 horas de extracción y 30 minutos de secado. Finalizado este proceso, el Beaker se colocó en una estufa de aire a  $100\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante  $45\text{ min} \pm 2\text{ min}$ , con el fin de eliminar el solvente residual.

Posteriormente, se retiró el recipiente y se trasladó a un desecador por 20 min ± 5 min. Finalmente, se extrajo del desecador y se pesó nuevamente a temperatura ambiente; el contenido de %Grasa se cuantificó según la ecuación (6):

$$\%Grasa = \frac{A - B}{C} \times 100 \quad (6)$$

Donde:

A: es el peso del Beaker después de la extracción.

B es el peso del Beaker vacío.

C: es el peso de la muestra.

### ***Análisis de carbohidratos***

Basado en la AOAC 996.04 18th ed. se describe la metodología empleada para realizar la cuantificación utilizando una autoclave Matachana y un HPLC Waters con detector IR.

Se pesó 1 g ± 0,07 g de muestra en un tubo de ensayo de vidrio; posteriormente, se adicionaron 1 mL de agua destilada y 1,5 mL de ácido sulfúrico al 75%. La mezcla se agitó adecuadamente y se trasladó a un frasco Schott de 100 mL; el tubo se enjuagó con 30 mL de agua destilada para asegurar la transferencia completa.

Las muestras se colocaron en la autoclave durante 1 hora a 121 °C. Finalizado este proceso, se retiraron y se filtraron a través de papel filtro cualitativo en balones de 50 mL, aforando posteriormente con agua destilada.

Se realizó una segunda filtración de la solución utilizando una jeringa y filtros Millipore de 0,22 µm; el filtrado se depositó en viales de 2 mL. Finalmente, el equipo HPLC se

acondicionó de acuerdo con los métodos establecidos, se ubicaron los viales en el automuestreador y las muestras fueron inyectadas y cuantificadas mediante el software Empower 3.

### ***Análisis de pH***

Basado en la AOAC 945.1 17th ed. se describe la metodología empleada para realizar la cuantificación utilizando un pHmetro Mettler Toledo.

Para las muestras líquidas el pH se tomó de forma directa, tomando el electrodo y sumergiéndolo en la muestra, para las muestras secas se preparó una solución al 5% peso a volumen en un Beaker y posteriormente se introdujo el electrodo, se toma la lectura y se registra el valor.

### **Determinación del efecto de la concentración de sólidos del sustrato y concentración de enzimas mediante un diseño factorial completo**

Para llevar a cabo los procesos enzimáticos se utilizaron las enzimas comerciales suministradas por el proveedor Merquiand:  $\alpha$ -amilasa SPEZYME® FRED y gluco-amilasa OPTIMAX® 4060 VHP (condiciones de operación pH, temperatura y tiempo de reacción sugeridos en ficha técnica).

En la etapa de licuefacción, se ajustaron las condiciones de operación según lo recomendado por la ficha técnica, se realizó un ajuste de pH en un rango de 5,5 a 5,9, seguido de un control de temperatura en el biorreactor entre 90 y 95 °C durante un tiempo de reacción de 2 horas. Estas condiciones favorecieron la acción de la  $\alpha$ -amilasa en la ruptura de las cadenas de almidón, permitiendo la reducción de la viscosidad del sistema y la formación de dextrinas.

Posteriormente, en la etapa de sacarificación, se ajustó el pH a un rango de 4,0 a 4,2, y se estableció una temperatura de operación entre 60 y 62 °C durante 38 horas. La selección de este tiempo de reacción se fundamentó en la ficha técnica de la enzima glucoamilasa, la cual indica que es posible alcanzar rendimientos de conversión a glucosa superiores al 96 % en un intervalo de 26 a 48 horas; en este sentido, se eligió un tiempo intermedio que permitiera asegurar una hidrólisis avanzada sin prolongar innecesariamente el proceso. Bajo estas condiciones, la glucoamilasa catalizó la hidrólisis de las dextrinas generadas en la etapa previa, promoviendo la liberación de azúcares fermentables, principalmente glucosa.

Se realizó un proceso enzimático de licuefacción y sacarificación para obtener jarabe de azúcares fermentables a partir de harina de arroz, con el objetivo de determinar el efecto de la concentración de sólidos del sustrato y concentración de enzima glucoamilasa en la concentración de azúcares fermentables obtenidos en el proceso de sacarificación.

A continuación, se describen las siguientes variables independientes:

- Cantidad de sólidos en la solución de harina de arroz
- Dosis de enzima glucoamilasa

y como variable dependiente:

- Concentración de azúcares fermentables en el proceso de sacarificación

El diseño experimental correspondió a un diseño factorial completo 3 niveles de sólidos y 3 niveles de dosis de enzima, es decir  $3^2$  ( $3 \times 3$ ), que permitió evaluar todas las combinaciones posibles entre los niveles de los factores, para un total de 9 tratamientos. Cada tratamiento fue realizado por triplicado, alcanzando un total de 27 unidades experimentales. Con el fin de

minimizar sesgos experimentales, las corridas fueron ejecutadas bajo un esquema de aleatorización completa, asignando de manera aleatoria el orden de ejecución de los tratamientos.

- Niveles de sólidos en solución: 10%, 20%, 30%.
- Niveles de dosis de enzima: 0.61 mL/kg, 0.92 mL/kg, 1.23 mL/kg.

En la **Tabla 3** se presenta un resumen con las combinaciones experimentales:

**Tabla 3**

*Diseño experimental propuesto*

Experimento	% Sólidos Solución	Dosis de Enzima (mL/kg)
1	10%	0.61
2	10%	0.92
3	10%	1.23
4	20%	0.61
5	20%	0.92
6	20%	1.23
7	30%	0.61
8	30%	0.92
9	30%	1.23

*Nota.* Elaboración propia, 2025.

### **Evaluación de la composición de azúcares fermentables del jarabe**

La cuantificación de azúcares fermentables se realizó mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), asegurando la trazabilidad metrológica a través del uso de estándares

certificados de glucosa, curvas de calibración lineales y control de calidad instrumental. Se verificaron parámetros como la estabilidad del tiempo de retención y la calibración y calificación del equipo, garantizando la confiabilidad y comparabilidad de los resultados analíticos obtenidos.

Basado en la AOAC 996.04 18th ed. se describe la metodología empleada para realizar la cuantificación utilizando un cromatógrafo líquido Waters Acquity Arc con detector IR, Columna: Biorad; Membranas para Filtración: HVLP 0.45  $\mu\text{m}$  (13 mm, 25 mm, 47 mm)). Los materiales y reactivos involucrados en la metodología de análisis se enlistan en la **Tabla 4**:

**Tabla 4**

*Materiales y Reactivos Determinación de Azúcares Fermentables*

Material/Reactivo	Características/Descripción
Agua tipo I (Desionizada)	Resistividad: 18 +/- 0.2 M $\Omega$ .cm
Puntas para micropipeta	Disponibles para micropipetas
Jeringas Desechables	Volumen: 2 mL a 5 mL
Estándar de glucosa	Pureza > 99.9% Reactivo específico para cromatografía
Viales	Material de vidrio con capacidad de 2 mL
Balones aforados	Material de vidrio con aforo de 100 mL, 50 mL y 10 mL
Solución Fase Móvil Biorad	Utilizada en la columna Biorad

*Nota.* Elaboración propia, 2025.

Para aplicar la metodología de cuantificación de azúcares fermentables fue necesario preparar una curva con estándares para el sistema de cromatografía:

- Estándar 1: Se pesaron  $0,259 \pm 0,01$  g de glucosa en un matraz de 100 mL; posteriormente, se disolvieron con agua tipo I y se aforó a 100 mL.

- Estándar 2: Se tomaron 8 mL del estándar 1 con pipeta volumétrica y se transfirieron a un matraz de 10 mL; posteriormente, se aforó con agua tipo I.
- Estándar 3: Se tomaron 4 mL del estándar 1 con pipeta volumétrica y se transfirieron a un matraz de 10 mL; luego, se aforó con agua tipo I.
- Estándar 4: Se tomaron 1 mL del estándar 1 con pipeta volumétrica y se transfirieron a un matraz de 10 mL; posteriormente, se aforó con agua tipo I.

Cuando ya se tenían todos los estándares preparados, se transfirió cada estándar a viales de vidrio.

Luego se preparó la muestra de jarabe de azúcares a analizar midiendo 1 mL +/- 0.05 g en un matraz aforado de 10 mL con agua tipo I y homogenizando. Posteriormente, se filtró la muestra a través de un filtro de HVLP 0.45 µm usando una jeringa desechable 5 mL. Luego se transfirió la muestra a un vial de vidrio.

Posteriormente, se ubicó cada vial en el automuestreador y el software programado inició la secuencia de inyección.

Todos los datos fueron procesados por el software Empower 3 que maneja los parámetros de integración y cuantificación. De acuerdo con una curva de calibración, realizada con los estándares previamente preparados, por regresión lineal se obtienen los valores de las muestras.

Esta técnica fue validada en el año 2023 por los analista del laboratorio donde se realizaron los ensayos. En relación con la calibración del método, se reporta una ecuación de regresión lineal que describe la relación entre la concentración teórica y la concentración real de glucosa:  $\text{Concentración real (mg/mL)} = 0,122934 + 0,836072 \times \text{concentración teórica (mg/mL)}$ . Asimismo, el método presenta una adecuada linealidad, evidenciada por un coeficiente de

correlación ( $r$ ) de 0,991666 y un coeficiente de determinación ajustado ( $r^2$ ) de 98,2611 %, lo cual indica una fuerte relación lineal dentro del rango evaluado. El rango de trabajo validado corresponde al 80 %–120 % del valor nominal, equivalente a concentraciones entre 1,20 y 1,80 mg/mL, evaluado en cinco niveles de concentración preparados por quintuplicado (Gómez Bedoya et al., 2019).

Por otra parte, dado que el protocolo original no reporta los valores de límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC), se procedió a su estimación siguiendo las directrices de la guía ICH Q2(R1). Para ello, se emplearon los datos de respuesta de los blancos (promedio = 315; desviación estándar  $\sigma = 80,11$ ) y la pendiente de la curva de calibración (factor de respuesta promedio = 238395). Como resultado, se obtuvieron valores de LD = 0,074 % y LC = 0,224 % respecto al valor nominal. Estos valores se encuentran significativamente por debajo del límite inferior del rango de trabajo (1,20 mg/mL), lo que demuestra una adecuada sensibilidad del método analítico para la detección y cuantificación de glucosa.

Finalmente, la incorporación de estos parámetros permite anexar al presente estudio una validación mínima complementaria del método cromatográfico, incluyendo la verificación de la curva de calibración, la secuencia de inyección y el control del orden de análisis. En conjunto, estas acciones fortalecen la robustez analítica del método y garantizan la confiabilidad de los resultados obtenidos en la cuantificación de azúcares fermentables.

## Resultados y discusión

### Caracterización fisicoquímica de la harina de arroz como materia prima para la obtención de jarabe de azúcares fermentables

Los resultados fisicoquímicos de la harina de arroz muestran un contenido de humedad del 6.30%, grasa 2.07%, cenizas 0.86%, proteína 8.12%, carbohidratos (glucosa) 78.98% y un pH de 6.40 como se muestran en la **Tabla 5**, valores que se encuentran dentro del rango reportado en estudios previos sobre harinas de arroz. El contenido de humedad obtenido corresponde a un 93.7% de sólidos, lo que representa un valor relativamente bajo y sugiere una adecuada condición de secado y estabilidad de la materia prima. En la literatura científica, se reporta que las harinas de arroz blanco presentan contenidos de humedad que oscilan generalmente entre el 5 % y el 14 %, dependiendo de las condiciones de procesamiento y almacenamiento. Diversos estudios han documentado valores dentro de este rango para muestras secas, lo cual respalda la variabilidad observada en este tipo de materia prima. Por ejemplo, se han reportado contenidos de humedad de 10,85 % (Thakur et al., 2020), entre 8,39 % y 8,68 % (Mustapha et al., 2024), y valores más bajos en el rango de 5,46 % a 7,08 % (Jamal et al., 2016), evidenciando la influencia de factores tecnológicos y ambientales sobre esta propiedad fisicoquímica. Adicionalmente un estudio coreano sobre variedades procesadas reporta 12.92–13.07% (Jung & Choi, 2014). Esta variación es crítica: humedades superiores al 12–13% comprometen la estabilidad durante el almacenamiento y pueden afectar la eficiencia de la hidrólisis enzimática por dilución del sustrato. En efecto, valores de humedad elevados pueden acortar la vida útil de la harina y favorecer degradaciones (ej. enranciamiento de lípidos si existiesen enzimas lipasas activas). Por el contrario, una harina seca como la evaluada garantiza mejor conservación y además concentra más sólidos fermentables por unidad de peso. Desde el

punto de vista de proceso, menor agua significa que, al preparar los mostos o suspensiones para licuefacción, se podrá agregar más agua de proceso de forma controlada para ajustar la concentración de sólidos deseada. Por otro lado, Ngo et al. reportaron proteínas entre 6.94% y 10.21% y grasas entre 1.68% y 3.16% en harinas de arroz tailandés, similares a los valores aquí obtenidos, lo que indica una composición nutricional comparable (Van Ngo et al., 2024). En contraste, Thakur et al. encontraron menores contenidos de proteína (6.25%) y grasa (0.58%) en harina de arroz, posiblemente debido a diferencias varietales o métodos de procesamiento, la proteína bruta determinada implica que la harina aporta nitrógeno orgánico que, en el contexto de usar esta harina para producir levadura u otros fermentos, puede ser beneficioso como nutriente. En procesos de fermentación con *S. cerevisiae*, suele agregarse una fuente de nitrógeno (ej. sales amónicas o aminoácidos); el uso de una materia prima con 8% de proteína significa que parte de ese requerimiento podría ser cubierto intrínsecamente, contribuyendo a la nutrición del microorganismo. Por otra parte, en la etapa puramente de sacarificación a jarabe, la presencia de proteína no interfiere directamente con la conversión de almidón, aunque quedará como sólido residual (bagazo protéico) tras la hidrólisis, y la grasa cruda de 2.08% sugiere que la harina retiene algo del germen de arroz. Este dato no compromete su uso como sustrato fermentable, pero indica que la composición es más completa (no ultra-refinada). Es recomendable verificar la estabilidad oxidativa de esta grasa si la harina se almacena largos periodos, aunque en nuestro estudio no se detectaron olores de rancidez.

La alta proporción de carbohidratos, principalmente glucosa, coincide con la función principal del almidón en el arroz como fuente energética, similar a lo descrito por Yu et al., quienes relacionan el contenido de amilosa con propiedades funcionales del almidón y harina (Yu et al., 2012), lo que confirma que la harina HARITEC es rica en almidón y, por tanto, es un

excelente sustrato para producir jarabe de glucosa. En la producción de jarabes, se busca materias primas con la mayor concentración posible de polisacáridos convertibles; en comparación, otras fuentes no convencionales (yuca, papa) tienen contenidos similares de almidón (>75%), mientras que cereales integrales con más fibra podrían tener ligeramente menos almidón disponible. El contenido obtenido de carbohidratos muestra que, teóricamente, de 100 kg de harina podríamos obtener del orden de 78 kg de equivalentes a glucosa (rendimiento máximo si todo el almidón se hidroliza completamente). El pH cercano a la neutralidad también es consistente con otros estudios que reportan valores entre 6 y 7 para harinas no fermentadas, favoreciendo la estabilidad química durante procesos industriales (Kraithong et al., 2017), es decir, la harina no contiene ácidos libres en cantidad; esto es esperable en un producto no fermentado. Las diferencias observadas entre estudios pueden atribuirse a factores como la variedad del arroz, condiciones de cultivo, grado de molienda y tratamientos previos como fermentación o parboilización que afectan la composición final.

## **Tabla 5**

### *Resultados fisicoquímicos harina de arroz*

Parámetro	Resultado
%Humedad	6,30%
%Grasa	2,07%
%Cenizas	0,86%
%Proteína	8,12%
%Carbohidratos (Glucosa)	78,98%
pH	6,40%

*Nota.* Elaboración propia, 2025.

## **Determinación del efecto de la concentración de sólidos del sustrato y concentración de enzimas mediante un diseño factorial completo**

A partir del análisis de los datos completos de los ensayos 1 a 27 que se muestran en la **Tabla 10** (véase Anexo 1), podemos observar que la hidrólisis de almidón de la harina de arroz con diferentes dosis enzimáticas (0.61, 0.92 y 1.23) y concentraciones de sólidos (10%, 20% y 30%) influye significativamente en la producción de azúcares fermentables, concluyendo que la dosis enzimática y la concentración de sólidos en el sustrato de arroz afectan directamente la cantidad de azúcares liberados durante la hidrólisis como se puede ver en la **Tabla 6** a través del análisis de varianza. La concentración de azúcares fermentables aumenta a medida que se incrementa el porcentaje de sólidos en la mezcla, como se puede apreciar en la **Figura 6**, esto indica que una mayor cantidad de sustrato disponible favorece la hidrólisis del almidón y, por lo tanto, la liberación de azúcares fermentables durante el proceso de sacarificación. **Figura 6**, se aprecia que las líneas de la gráfica correspondientes a las diferentes dosis de enzima no son completamente paralelas, lo que evidencia la presencia de interacción entre el porcentaje de sólidos y la dosis de enzima. Esto significa que el efecto de la dosis de glucoamilasa sobre la producción de azúcares fermentables depende del nivel de sólidos presente en el sistema, además, a niveles bajos de sólidos (10 %), las diferencias entre las dosis de enzima son pequeñas, lo que sugiere que el aumento de la cantidad de enzima no produce un cambio considerable en la concentración de azúcares fermentables. Sin embargo, a niveles más altos de sólidos (30 %), las diferencias entre las dosis de enzima se amplían, observándose mayores concentraciones de azúcares fermentables cuando se emplean dosis más altas de enzima, particularmente 1.23 mL/kg. La optimización del proceso enzimático, incluyendo tiempo,

temperatura y tipo de enzima, es clave para maximizar el rendimiento de azúcares fermentables a partir del arroz.

**Tabla 6**

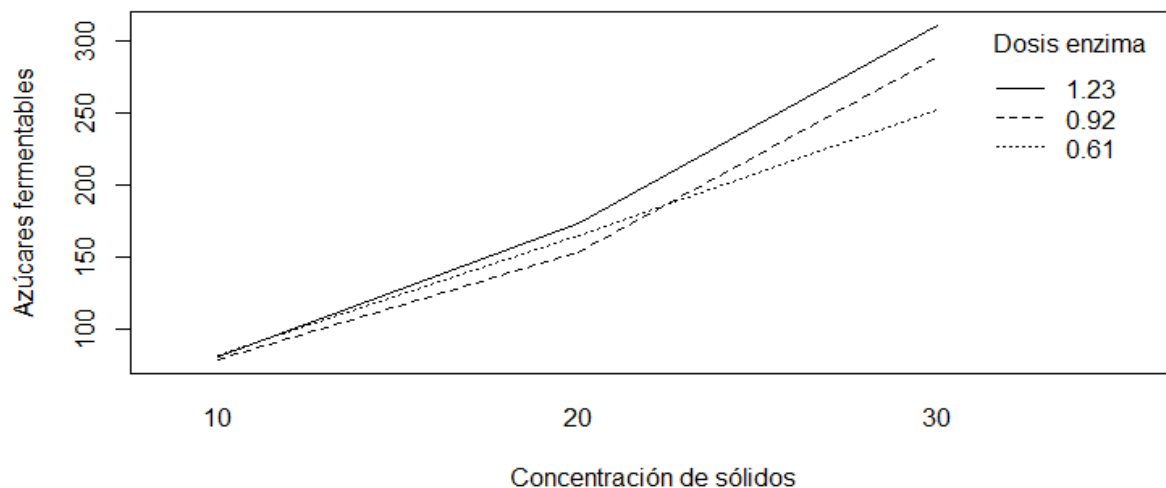
*Análisis de varianza (ANOVA)*

Factor	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	Significancia
% Sólidos	2	188107	94054	1159.23	2,00E-16	Efecto muy altamente significativo
Dosis enzima	2	2198	1099	13.55	0.000257	Altamente significativo
%Sólidos × Dosis enzima	4	3623	906	11.16	9.89e-05	Interacción altamente significativa
Residuales	18	1460	81	—	—	—

*Nota.* Elaboración propia a partir del análisis estadístico realizado en RStudio con los datos experimentales obtenidos en el proceso de sacarificación, 2026.

**Figura 6**

*Gráfica de interacción entre el %sólidos y la dosis de enzima sobre la concentración de (AF g/L) obtenidos durante la sacarificación de harina de arroz.*



*Nota.* Elaboración propia a partir del análisis estadístico realizado en RStudio con los datos experimentales obtenidos en el proceso de sacarificación, 2026.

En la **Tabla 7** se pueden muestran los resultados de las medias estimadas de azúcares fermentables (AF g/L) para cada combinación de porcentaje de sólidos y dosis de glucoamilasa, donde se observa que la concentración de azúcares fermentables aumenta considerablemente al incrementar el porcentaje de sólidos, independientemente de la dosis de enzima utilizada. Por ejemplo, con una dosis de 0.61 mL/kg, el aumento de sólidos de 10 % a 30 % incrementa la producción de azúcares fermentables de aproximadamente 82 g/L a 252 g/L; asimismo, se observa que las dosis más altas de enzima generan mayores concentraciones de azúcares fermentables cuando la concentración de sólidos es alta. El tratamiento con 30 % de sólidos y 1.23 mL/kg de enzima presentó la mayor producción estimada de azúcares fermentables (310.9 g/L).

Los intervalos de confianza relativamente estrechos indican una buena precisión en las estimaciones del modelo, lo cual respalda la confiabilidad de los resultados obtenidos.

**Tabla 7**

*Medias estimadas e intervalos de confianza al 95 % para la concentración de (AF g/L) en función del % sólidos y la dosis de enzima durante la sacarificación de harina de arroz.*

	Dosis	Media	Error		Límite	Límite
% Sólidos	enzima	estimada	estándar	df	inferior	superior
	(mL/kg)	AF (g/L)	(SE)		IC95%	IC95%
10	0.61	82.1	5.2	18	71.2	93.1

20	0.61	164.8	5.2	18	153.8	175.7
30	0.61	252.3	5.2	18	241.4	263.3
10	0.92	78.7	5.2	18	67.7	89.6
20	0.92	153.3	5.2	18	142.4	164.2
30	0.92	288.0	5.2	18	277.0	298.9
10	1.23	80.4	5.2	18	69.4	91.3
20	1.23	172.9	5.2	18	162.0	183.8
30	1.23	310.9	5.2	18	300.0	321.8

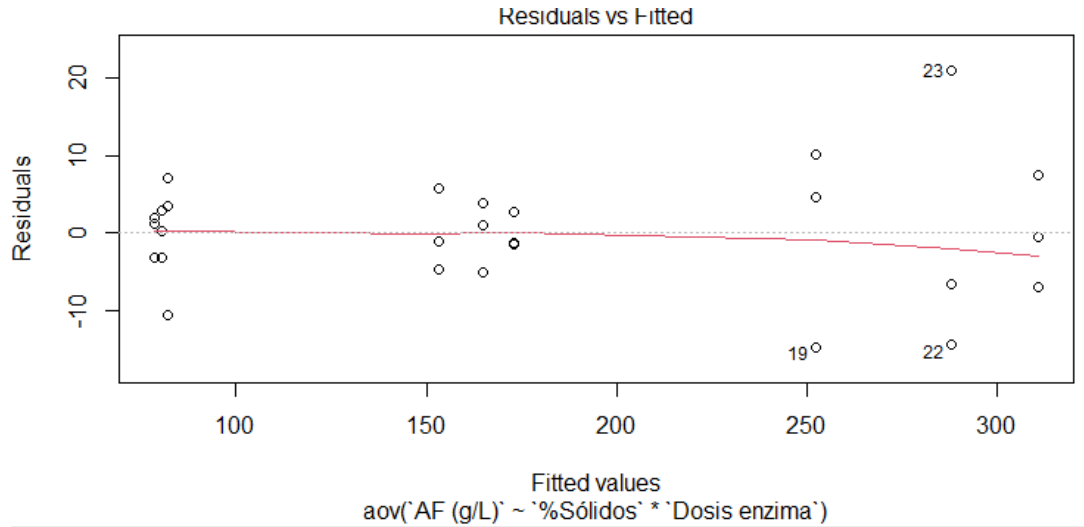
*Nota.* Elaboración propia a partir del análisis estadístico realizado en RStudio con los datos experimentales obtenidos en el proceso de sacarificación, 2026.

Previo a la interpretación del análisis de varianza (ANOVA), se evaluó el cumplimiento de los supuestos estadísticos del modelo mediante el análisis de los residuos. La normalidad de los residuos se verificó utilizando la prueba de Shapiro–Wilk, obteniéndose un valor de  $W = 0.963$  y  $p = 0.4343$ , lo que indica que no se rechaza la hipótesis nula de normalidad ( $p > 0.05$ ). Por lo tanto, los residuos del modelo presentan una distribución aproximadamente normal. Asimismo, la homogeneidad de varianzas entre los tratamientos fue evaluada mediante la prueba de Levene, la cual arrojó un valor de  $F = 0.8031$  y  $p = 0.6081$ , indicando que no existen diferencias significativas entre las varianzas de los grupos ( $p > 0.05$ ). De manera complementaria, como se puede observar en la **Figura 7** gráfico de residuos vs valores ajustados mostró una dispersión aleatoria de los residuos alrededor de la línea horizontal en cero, sin evidenciar patrones sistemáticos ni cambios en la dispersión de los puntos a lo largo de los valores ajustados. En conjunto, estos resultados confirman que los supuestos de normalidad, independencia y homocedasticidad de los residuos se cumplen adecuadamente, validando así la aplicación del modelo ANOVA para evaluar el efecto del porcentaje de sólidos y la dosis de

enzima glucoamilasa sobre la concentración de azúcares fermentables obtenidos en el proceso de sacarificación de harina de arroz.

**Figura 7**

*Residuos vs valores ajustados*



*Nota.* Elaboración propia a partir del análisis estadístico realizado en RStudio con los datos experimentales obtenidos en el proceso de sacarificación, 2026.

A través del modelo lineal ajustado ver **Tabla 8**, se evaluó el efecto del porcentaje de sólidos y la dosis de enzima glucoamilasa sobre la concentración de azúcares fermentables (g/L) mostró un excelente ajuste estadístico, con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0.9925$  y un  $R^2$  ajustado de 0.9892 como se puede ver en la **Tabla 9**, lo que indica que más del 99 % de la variabilidad observada en la respuesta es explicada por el modelo. El modelo se representa según la ecuación (7).

$$A.F = \beta_0 + \beta_1(Sólidos) + \beta_2(Enzima) + \beta_3(Sólidos \times Enzima) \tag{7}$$

Donde:

A.F: azúcares fermentables en g/L.

$\beta_0$ : intercepto.

$\beta_1$ : efecto de los sólidos.

$\beta_2$ : efecto de la enzima.

$\beta_3$ : interacción sólidos  $\times$  enzima.

El intercepto representa la media estimada del tratamiento de referencia correspondiente a 10 % de sólidos y 0.61 mL/kg de enzima, con un valor aproximado de 82.14 g/L de azúcares fermentables. Los coeficientes asociados a los niveles de 20 % y 30 % de sólidos presentan valores positivos y altamente significativos ( $p < 0.001$ ), evidenciando que el incremento del contenido de sólidos en el sustrato genera un aumento significativo en la producción de azúcares fermentables. Por el contrario, los coeficientes correspondientes a la dosis de enzima evaluada de manera independiente no resultaron estadísticamente significativos ( $p > 0.05$ ), lo que sugiere que su efecto depende del nivel de sólidos presente en el sistema. Esto se confirma mediante la interacción significativa observada entre 30 % de sólidos y las dosis de enzima de 0.92 y 1.23 mL/kg, indicando que el efecto de la enzima se intensifica a mayores concentraciones de sustrato. En conjunto, estos resultados demuestran que el porcentaje de sólidos es el factor predominante en la producción de azúcares fermentables, mientras que la influencia de la dosis de enzima se manifiesta principalmente en condiciones de alta concentración de sólidos,

evidenciando una interacción entre ambos factores en el proceso de sacarificación de harina de arroz.

**Tabla 8**

*Coefficientes del modelo lineal del diseño factorial para la producción de azúcares fermentables (g/L) en la sacarificación de harina de arroz.*

Parámetro	Estimate	Std. Error	t value	p-value	Significancia
Intercepto	82.137	5.200	15.794	5.42E-12	efecto altamente significativo
%Sólidos 20	82.623	7.355	11.234	1.45E-09	efecto altamente significativo
%Sólidos 30	170.207	7.355	23.143	7.65E-15	efecto altamente significativo
Dosis enzima 0.92	-3.487	7.355	-0.474	0.64114	efecto no significativo
Dosis enzima 1.23	-1.763	7.355	-0.240	0.81323	efecto no significativo
%Sólidos20 × Dosis0.92	-7.980	10.401	-0.767	0.45289	efecto no significativo
%Sólidos30 × Dosis0.92	39.110	10.401	3.760	0.00143	efecto muy significativo
%Sólidos20 × Dosis1.23	9.880	10.401	0.950	0.35474	efecto no significativo
%Sólidos30 × Dosis1.23	60.307	10.401	5.798	1.71E-05	efecto altamente significativo

*Nota.* Elaboración propia a partir del análisis estadístico realizado en RStudio con los datos experimentales obtenidos en el proceso de sacarificación, 2026.

**Tabla 9***Estadísticas del modelo*

Estadístico	Valor
Error estándar residual	9.007
Grados de libertad residuales	18
R <sup>2</sup>	0.9925
R <sup>2</sup> ajustado	0.9892
F del modelo	298.8
p-value del modelo	< 2.2E-16

*Nota.* Elaboración propia a partir del análisis estadístico realizado en RStudio con los datos experimentales obtenidos en el proceso de sacarificación, 2026.

**Evaluación de la composición de azúcares fermentables del jarabe**

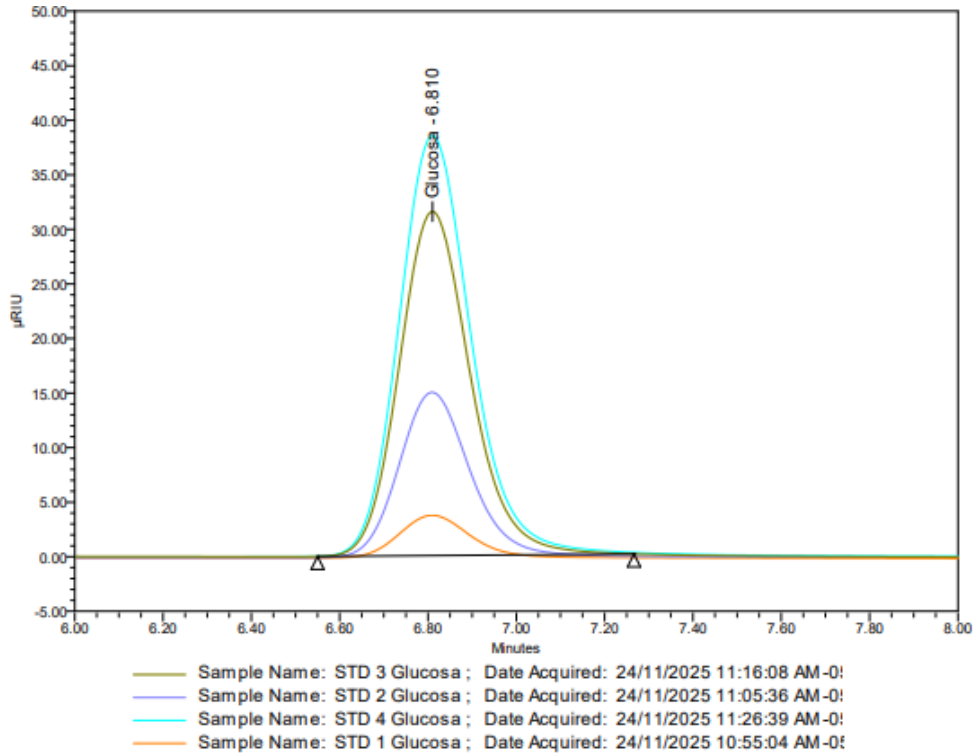
En la **Tabla 10**, podemos observar que en general, un aumento en la dosis enzimática y en el porcentaje de sólidos conduce a una mayor liberación de azúcares fermentables, alcanzando valores máximos cercanos al 28% AF y más de 300 g/L en los ensayos con mayor dosis y sólidos (ensayos 19-27). Estos resultados confirman que optimizar la dosis enzimática junto con el tiempo y concentración de sólidos es clave para maximizar la producción eficiente de azúcares a partir del arroz mediante procesos enzimáticos controlados. La concentración de glucosa alcanzada en la hidrólisis enzimática del almidón de harina de arroz varía según las condiciones del proceso y las enzimas utilizadas. En un estudio que optimizó la hidrólisis con  $\alpha$ -amilasa y glucoamilasa, se lograron concentraciones óptimas con 0.040 % de  $\alpha$ -amilasa, 0.070 % de glucoamilasa y una temperatura de incubación de 60 °C, aunque no se reporta un valor exacto de glucosa, sí se indica una acumulación significativa de azúcares totales entre 5.5-6 % en otros

trabajos similares (Medvid et al., 2019). Otro estudio sobre hidrólisis enzimática con  $\alpha$ -amilasa mostró que la producción de glucosa aumenta con el tiempo hasta estabilizarse, y que factores como la concentración del sustrato, pH y temperatura afectan significativamente el rendimiento (Olosunde et al., 2023). En conjunto, los resultados indican que la concentración final de glucosa depende fuertemente del tipo y concentración enzimática, tiempo e intensidad del proceso, así como del tratamiento previo del sustrato, mostrando valores típicos en el rango aproximado del 5-6 % en azúcares totales o alrededor de 0.25 g/L para glucosa específica bajo condiciones controladas.

Mediante análisis cromatográfico se permitió confirmar y cuantificar la presencia de glucosa en los hidrolizados obtenidos. En los cromatogramas correspondientes a la curva de calibración ver **Figura 8**, se observa un pico bien definido asociado a la glucosa con un tiempo de retención cercano a 6.8 minutos, el cual se mantiene constante a lo largo de las diferentes concentraciones del estándar, evidenciando la especificidad del método. Asimismo, se aprecia un incremento progresivo en el área del pico en función de la concentración, lo que respalda la linealidad de la curva de calibración utilizada para la cuantificación. Por otra parte, en los cromatogramas de las muestras correspondientes a los ensayos a las 38 horas ver **Figura 9**, se observa la presencia del mismo pico en el tiempo de retención característico de la glucosa, con variaciones en la intensidad y área de los picos entre tratamientos. Estas diferencias reflejan los cambios en la concentración de azúcares fermentables generados bajo las distintas condiciones experimentales. En conjunto, la consistencia en los tiempos de retención y la proporcionalidad entre el área del pico y la concentración permiten validar el uso de la curva de calibración para la cuantificación de glucosa en las muestras analizadas.

### Figura 8

*Cromatogramas curva de calibración de glucosa obtenida mediante HPLC*



**Amount Summarized by Name**  
Channel: W2414 RI

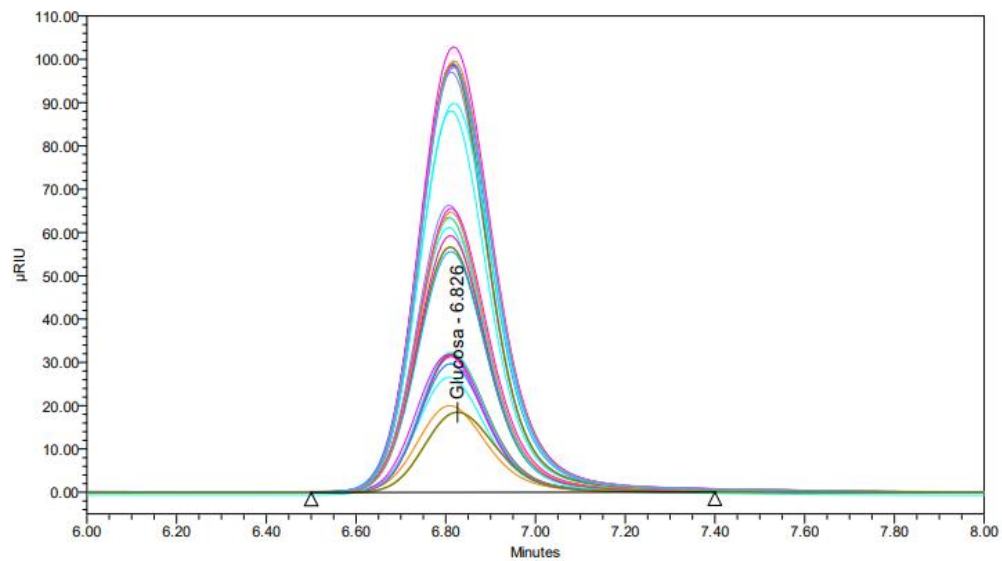
	SampleName	Inj	Channel	Vial	Glucosa
1	STD 1 Glucosa	1	W2414 RI	1:B,1	0.210
2	STD 2 Glucosa	1	W2414 RI	1:B,2	0.839

	SampleName	Inj	Channel	Vial	Glucosa
3	STD 3 Glucosa	1	W2414 RI	1:B,3	1.678
4	STD 4 Glucosa	1	W2414 RI	1:B,4	2.098

*Nota.* Imagen generada a través del software empower 3, 2025.

### Figura 9

*Cromatogramas de las muestras correspondientes a los ensayos del diseño experimental a las 38 horas de sacarificación*



*Nota.* Imagen generada a través del software empower 3, 2026.

## Conclusiones

La caracterización fisicoquímica de la harina de arroz permitió establecer las propiedades de la materia prima empleada en el proceso de hidrólisis enzimática. Los análisis gravimétricos de humedad, proteína, cenizas, grasa, carbohidratos y pH proporcionaron información fundamental sobre la composición del sustrato, confirmando su alto contenido de carbohidratos y su potencial como fuente de almidón para la producción de azúcares fermentables.

El análisis del diseño factorial demostró que el porcentaje de sólidos del sustrato influye significativamente en la producción de azúcares fermentables, evidenciando que el incremento en la concentración de sólidos favorece la liberación de azúcares durante el proceso de hidrólisis enzimática. Por otro lado, la dosis de enzima evaluada de manera independiente no presentó un efecto significativo, aunque se observó una interacción significativa entre ambos factores, lo que indica que el efecto de la enzima depende de la concentración de sólidos presente en el sistema.

El modelo estadístico obtenido presentó un alto coeficiente de determinación ( $R^2 = 0.9925$ ), lo que indica que el modelo explica la mayor parte de la variabilidad observada en la producción de azúcares fermentables. Además, las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas confirmaron que se cumplen los supuestos del modelo ANOVA, lo que valida la confiabilidad de los resultados obtenidos.

Las condiciones experimentales que presentaron la mayor producción de azúcares fermentables correspondieron a una concentración de 30 % de sólidos y una dosis de enzima de 1.23 mL/kg, alcanzando los valores más altos de azúcares fermentables durante el proceso de sacarificación. Esto indica que concentraciones elevadas de sustrato favorecen la eficiencia de la hidrólisis enzimática del almidón presente en la harina de arroz.

El análisis cromatográfico del jarabe obtenido permitió identificar y cuantificar los principales azúcares fermentables presentes en el producto en este caso glucosa, lo que permitió evaluar su composición y calidad como fuente de carbono potencial para procesos fermentativos. La presencia predominante de azúcares fermentables indica que el jarabe producido posee características adecuadas para su utilización como sustrato potencial en procesos biotecnológicos.

En conjunto, los resultados obtenidos demuestran que la harina de arroz constituye una materia prima viable para la producción de jarabes ricos en azúcares fermentables, lo que representa una alternativa potencial para su aplicación en procesos fermentativos en la industria alimentaria y biotecnológica.

## **Impacto**

### **Impacto Social**

La diversificación de fuentes de carbono puede contribuir a la estabilidad laboral y productiva de la compañía, lo que beneficia a los empleados y proveedores locales. Si la demanda de arroz para uso industrial está aumentando, puede afectar el precio y la disponibilidad de estos alimentos a la población y afectar a las comunidades vulnerables.

### **Impacto Ambiental**

El uso de arroz como materia prima podría tener un impacto ambiental más bajo en comparación con los jugos de caña de azúcar. Sin embargo, si la demanda industrial de arroz aumenta significativamente, puede contribuir a la expansión de la agricultura y al uso de recursos intensivos con los posibles efectos negativos del suelo y el agua, pero se espera que la reducción de la carga orgánica en aguas residuales y una mejor gestión de residuos industriales tengan un impacto positivo en el medio ambiente

### **Impacto Económico**

Reemplazar los jugos de caña con jarabe de arroz puede reducir los costos y los riesgos asociados con la volatilidad de los precios y el déficit de materias primas, lo que fortalece la viabilidad financiera de la compañía. Puede abrir nuevas oportunidades de negocios y mercado para la industria biotecnológica de alimentos.

### **Impacto legal**

No se identifican riesgos legales significativos en la implementación del proceso propuesto, siempre que se dé cumplimiento a la normativa vigente aplicable al uso de insumos

biotecnológicos y a la producción de insumos para la industria alimentaria. En este contexto, es importante diferenciar tres aspectos clave: cumplimiento regulatorio, bioseguridad y requisitos de importación.

En términos de cumplimiento regulatorio, el uso de enzimas industriales, incluidas aquellas obtenidas mediante microorganismos genéticamente modificados (OGM), está permitido en Colombia, siempre que dichas enzimas cumplan con los requisitos de inocuidad y calidad establecidos para insumos utilizados en procesos alimentarios. Esto implica verificar que los productos cuenten con certificaciones del fabricante y documentación técnica que respalde su uso seguro en aplicaciones industriales.

Respecto a la bioseguridad, Colombia es signataria del Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología, el cual regula el manejo, transporte y uso de organismos vivos modificados. En el ámbito nacional, la gestión de OGM se rige principalmente por el Decreto 4525 de 2005, que establece el marco para la evaluación y gestión del riesgo en actividades que involucren organismos vivos modificados. En este sentido, es necesario verificar si las enzimas empleadas corresponden a productos derivados de OGM (sin material genético viable) o si implican el uso de organismos vivos modificados, ya que esto determina el nivel de regulación aplicable.

En cuanto a los requisitos de importación, las enzimas deben cumplir con la normativa sanitaria y de comercio exterior vigente, lo que puede implicar registros, notificaciones o vistos buenos por parte de entidades como el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), dependiendo de su uso específico. Es importante aclarar que el Decreto 3930 de 2010 está enfocado en la gestión del recurso hídrico y vertimientos, por lo que no resulta

aplicable directamente a la regulación de OGM o enzimas industriales, y su mención en este contexto no es pertinente.

Finalmente, se recomienda utilizar enzimas provenientes de proveedores certificados que cumplan con la normativa nacional e internacional aplicable, asegurando trazabilidad, calidad e inocuidad del insumo, así como el cumplimiento de los requisitos regulatorios asociados a su uso en procesos biotecnológicos.

## **Recomendaciones**

Se sugiere ampliar el análisis cromatográfico del jarabe obtenido para identificar y cuantificar con mayor precisión los azúcares individuales, como glucosa, maltosa y otros oligosacáridos, con el fin de evaluar con mayor detalle su potencial para distintos procesos fermentativos.

Es aconsejable explorar el uso de otras fuentes enzimáticas o combinaciones de enzimas amilolíticas, que podrían mejorar la eficiencia de la hidrólisis del almidón y aumentar la liberación de azúcares fermentables a partir de la harina de arroz.

Se recomienda realizar ensayos de fermentación utilizando el jarabe producido como sustrato, con el propósito de evaluar directamente su desempeño en procesos biotecnológicos, como la producción de bioetanol, ácidos orgánicos u otros metabolitos de interés industrial.

## Referencias bibliográficas

- Adebo, O., Gieng, J., & Feng, X. (2025). Editorial: Enhancing nutrient profile, safety, and sustainability with fermentation technology. *Frontiers in Nutrition*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1571781>.
- Acosta-Pavas, J. C., Alzate-Blandon, L., & Ruiz-Colorado, A. A. (2020). Enzymatic hydrolysis of wheat starch for glucose syrup production. *DYNA*, 87(214), 173–182. <https://doi.org/10.15446/dyna.v87n214.82669>
- Agu, R. C. (2006). Fermentation studies of wort made using malt and different adjuncts: Rice and maltose syrup. *Technical Quarterly. Master Brewers Association of the Americas*, 43(4), 315–318. <https://doi.org/10.1094/TQ-43-0277>
- Almeida, R. L. J., dos Santos Pereira, T., de Andrade Freire, V., Santiago, Â. M., Oliveira, H. M. L., de Sousa Conrado, L., & de Gusmão, R. P. (2019). Influence of enzymatic hydrolysis on the properties of red rice starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 141, 1210–1219. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.072>
- Amin, T., Naik, H. R., Hussain, S. Z., Bashir, O., Rather, S. A., Naaz, S., Manzoor, S., Mir, S. A., Makroo, H. A., Bashir, A. A., Mufti, S., Ganaie, T. A., & Shah, I. A. (2024). Enzymatic hydrolysis method for development of low glycemic index rice flour from temperate grown rice (var. Jehlum): Numerical optimization, rheological and spectroscopic characteristics. *Carbohydrate Research*, 544, 109248. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2024.109248>
- AOAC International. (2005). *Official methods of analysis of AOAC International* (18th ed.). AOAC International.

- Asociación de Cultivadores de Caña de Azúcar de Colombia. (2024). *Informe anual del sector azucarero colombiano 2023–2024*. <https://www.asocana.org>
- Ayala-Armijos, J., Machuca-Loja, G., Benítez-Castrillón, P., & Alvarado-Cáceres, J. (2020). Hidrólisis enzimática de polvillo de arroz para la producción de etanol de segunda generación. *Revista Ciencia UNEMI*, 13(32), 41–50. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=582661898004>
- Bruszies, C. (2025). Conditions for developing agro-biotechnology innovation clusters: empirical evidence from Colombia based on critical success factors. *Revista de Economía e Sociología Rural*. <https://doi.org/10.1590/1806-9479.2025.283627>.
- Capozzi, V., Fragasso, M., & Bimbo, F. (2021). Microbial Resources, Fermentation and Reduction of Negative Externalities in Food Systems: Patterns toward Sustainability and Resilience. *Fermentation*, 7, 54. <https://doi.org/10.3390/fermentation7020054>.
- Caro, I., Marzo-Gago, C., Díaz, A. B., & Blandino, A. (2024). Modelling and optimization of simultaneous saccharification and fermentation of agro-food residues. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12(1), 111862. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111862>
- Casas, M., Vélez, J. R., & Acosta, A. (2013). Glucose syrup production using an enzyme complex in the hydrolysis of starch in cassava flour, sorghum and corn. *Hechos Microbiológicos*, 4(1), 12–22. <https://doi.org/10.17533/udea.hm.20092>
- Chen, H., Siebenmorgen, T. J., & Griffin, K. (1998). Quality characteristics of long-grain rice milled in two commercial systems. *Cereal Chemistry*, 75(4), 560–565. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1998.75.4.560>

Chen, X., Zhao, Y., Chen, B., Su, W., Zhang, Z., Liu, Y., Xu, X., Tang, J., Hou, P., & Han, W.

(2021). Effects of enzyme volumes on hydrolysis and fermentation for ethanol production from leftover cooked rice. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 631089.

<https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.631089>

Chen, B., Heng, Y. C., Almunawar, S. N. A., Wanjaya, E. R., Elejalde, U., & Kittelmann, S. (2025).

*Molecular responses of Saccharomyces cerevisiae to growth under conditions of increasing corn syrup and decreasing molasses. Fermentation*, 11(8), 432.

<https://doi.org/10.3390/fermentation11080432>

Cripwell, R., My, R., Treu, L., Campanaro, S., Favaro, L., Van Zyl, W., & Viljoen-Bloom, M. (2023).

Additional glucoamylase genes increase ethanol productivity on rice and potato waste streams by a recombinant amylolytic yeast. *Bioresource Technology*.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129787>

Ebrahimian, F., Khoshnevisan, B., Mohammadi, A., Karimi, K., & Birkved, M. (2023). A biorefinery

platform to valorize organic fraction of municipal solid waste to biofuels: An early environmental sustainability guidance based on life cycle assessment. *Energy Conversion and Management*. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2023.116905>.

Fatourehchi, F., Farrokhi, F., Eyvazzadeh, O., Bahadori, A., & Yaghoubi, A. S. A. (2022). Production

of glucose syrup through enzymatic hydrolysis of flint and floury corn flour mixtures and evaluating its properties as cost-effective syrup. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*,

19(129), 23–39. <https://doi.org/10.22034/fsct.19.129.23>

- Fockink, D. H., Urio, M. B., Chiarello, L. M., Sánchez, J. H., & Ramos, L. P. (2016). Principles and challenges involved in the enzymatic hydrolysis of cellulosic materials at high total solids. *Green Energy and Technology*, 147–173. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-30205-8\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-30205-8_7)
- Gómez Bedoya, C. A., Londoño Gordillo, A., & Osorio Quintero, H. F. (2023). *Protocolo validación técnica azúcares fermentables en glucosa* [Documento interno]. Compañía nacional de levaduras S.A.
- Hang, F., Xu, H., Xie, C., Li, K., Wen, T., & Meng, L. (2024). Pretreatment of Glucose–Fructose Syrup with Ceramic Membrane Ultrafiltration Coupled with Activated Carbon. *Membranes*, 14. <https://doi.org/10.3390/membranes14030057>
- Hans, M., Lugani, Y., Chandel, A. K., Rai, R., & Kumar, S. (2023). Production of first- and second-generation ethanol for use in alcohol-based hand sanitizers and disinfectants in India. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(9), 7423–7440. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01553-3>
- Hoang, V., & Duc, T. (2022). Response surface optimization of enzymatic hydrolysis of germinated brown rice for higher reducing sugar production. *Vietnam Journal of Food Control*, 5(4), 645–657. <https://doi.org/10.47866/2615-9252/vjfc.4011>
- Ioannidou, S., Pateraki, C., Ladakis, D., Papapostolou, H., Tsakona, M., Vlysidis, A., Kookos, I., & Koutinas, A. (2020). Sustainable production of bio-based chemicals and polymers via integrated biomass refining and bioprocessing in a circular bioeconomy context. *Bioresource technology*, 123093 . <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123093>.
- Jamal, S., Qazi, I. M., & Ahmed, I. (2016). Comparative studies on flour proximate compositions and functional properties of selected Pakistani rice varieties. *Proceedings of the Pakistan Academy of*

*Sciences: B. Life and Environmental Sciences*, 53(1), 47–56.

<https://www.paspk.org/index.php/PPAS-B/article/view/363>

Jamir, L., Kumar, P., Kaur, J., Kumar, S., & Singh, H. (2021). Composition, valorization and therapeutical potential of molasses: a critical review. *Environmental Technology Reviews*, 10, 131 - 142. <https://doi.org/10.1080/21622515.2021.1892203>.

Jung, H. N., & Choi, O. J. (2014). The physicochemical characteristics of rice flour with different milling degree of rice cultivar “Deuraechan.” *Korean Journal of Food and Cookery Science*, 30(2), 139–145. <https://doi.org/10.9724/kfcs.2014.30.2.139>

Kim, M. J., Jung, Y. J., Lee, S. H., Lee, H., & Kim, J. C. (2014). Kinetic analysis and enzyme concentration effect relevant to dependence of amylolysis of starch granules on specific surface area concentration. *Food Science and Biotechnology*, 23(2), 475–481.

<https://doi.org/10.1007/s10068-014-0065-9>

Kraithong, S., Lee, S., & Rawdkuen, S. (2017). Physicochemical and functional properties of Thai organic rice flour. *Journal of Cereal Science*, 79, 259-266.

<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.10.015>.

Kumar, N., Sarkar, O., Chandrasekhar, K., Raj, T., Narisetty, V., Mohan, S., Pandey, A., Varjani, S., Kumar, S., Sharma, P., Jeon, B., Jang, M., & Kim, S. (2022). Upgrading the value of anaerobic fermentation via renewable chemicals production: A sustainable integration for circular bioeconomy.. *The Science of the total environment*, 806 Pt 1, 150312 .

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150312>.

- Lee, H., Lee, S., Ryu, J., Kim, H., & Lee, Y. (2015). Cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* using defatted rice bran hydrolyzed in near-critical water as a culture medium. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 53, 211–215. <https://doi.org/10.9713/kcer.2015.53.2.211>
- Lei, Y., Peng, H., Wang, Y., Liu, Y., Han, F., Xiao, Y., & Gao, Y. (2012). Preferential and rapid degradation of raw rice starch by an  $\alpha$ -amylase of glycoside hydrolase subfamily GH13-37. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94(6), 1577–1584. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4114-0>
- Lertsriwong, S., Khaosaart, P., Boonvitthya, N., Chulalaksananukul, W., & Glinwong, C. (2025). Enhancing 3-hydroxypropionic acid production from recombinant *Saccharomyces cerevisiae* using rice straw hydrolysate and sugar cane industrial waste as substrate. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 10, 1077–1086. <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2025.05.011>
- Li, J., Tang, X., Qian, H., Yang, Y., Zhu, X., Wu, Q., Mu, Y., & Huang, Z. (2021). Analysis of saccharification products of high-concentration glutinous rice fermentation by *Rhizopus nigricans* Q3 and alcoholic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* GY-1. *ACS Omega*, 6(12), 8038–8044. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05452>
- Li, Z., Kong, H., Li, Z., Gu, Z., Ban, X., Hong, Y., Cheng, L., & Li, C. (2023). Designing liquefaction and saccharification processes of highly concentrated starch slurry: Challenges and recent advances. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(3), 1597–1612. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13122>
- Medvid, I., Shydlovska, O., & Dotsenko, V. (2017). Influence of fermentative modification of rice flour starch on bread quality for patients with celiac disease. *Ukrainian Food Journal*, 6, 632–647. <https://doi.org/10.24263/2304-974x-2017-6-4-5>.

Modenbach, A. A., & Nokes, S. E. (2014). ChemInform abstract: Enzymatic hydrolysis of biomass at high-solids loadings — A review. *ChemInform*, 45(38), Article 274.

<https://doi.org/10.1002/chin.201438274>

Molaverdi, M., Karimi, K., Mirmohamadsadeghi, S., & Galbe, M. (2019). High titer ethanol production from rice straw via solid-state simultaneous saccharification and fermentation by *Mucor indicus* at low enzyme loading. *Energy Conversion and Management*, 182, 520–529.

<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2018.12.078>

Moscon, J. M., Priamo, W. L., Bilibio, D., Silva, J. R. F., Souza, M., Lunelli, F., Foletto, E. L., Kuhn, R. C., Cancelier, A., & Mazutti, M. A. (2014). Comparison of conventional and alternative technologies for the enzymatic hydrolysis of rice hulls to obtain fermentable sugars. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(4), 149–154. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2014.07.008>

Mperiju, T. M., Silas, K., Aji, M. M., Abdulhalim Musa Abubakar, Budianto, A., Indianraj, N., & Rezkallah, C. (2018). Effect of pretreatments on the production of fermentable sugars from rice husk. *Global Sustainability Research*, 2(4), 77–124. <https://doi.org/10.56556/GSSR.V2I4.621>

Musa, M. H., Agomuo, J. K., Dandago, M. A., Atanda, K. S., Nahemiah, D., & Terpase, A. (2024). Functional and micro-structural properties of starch and flour produced from one indigenous and three improved local rice (*Oryza sativa*). *Dutse Journal of Pure and Applied Sciences*, 10(2A), 38–49. <https://doi.org/10.4314/dujopas.v10i2a.4>

Myburgh, M. W., Cripwell, R. A., Favaro, L., & Van Zyl, W. H. (2019). Application of industrial amylolytic yeast strains for the production of bioethanol from broken rice. *Bioresource Technology*, 294, 122222. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122222>

Ofoedu, C. E., Osuji, C. M., & Ojukwu, M. (2019). Sugar profile of syrups from malted and unmalted rice of different varieties. *Journal of Food Research*, 8(1), 52.

<https://doi.org/10.5539/jfr.v8n1p52>

Olosunde, A., Kelechi, S., & Antia, O. (2023). Investigation into Optimal Conditions for Enzymatic Hydrolysis of Cassava Starch to Glucose by Amylase from Rice. *American Journal of Smart Technology and Solutions*. <https://doi.org/10.54536/ajsts.v2i2.1763>.

Paika, A., Katyal, P., Kumar, P., & Choudhary, M. (2025). Process optimization for ethanol production from damaged corn grains by separate hydrolysis and fermentation and simultaneous saccharification and fermentation. *Waste and Biomass Valorization*.

<https://doi.org/10.1007/s12649-025-02919-8>

Prajapati, B. P., & Kango, N. (2023). Rice straw saccharification using cellulolytic cocktail from *Aspergillus tubingensis* and structure alteration studies of the wall polymer. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(2), 961–975. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01237-4>

Purwoko, T., Sari, S. L. A., Mahadjoeno, E., & Sunarto, S. (2017). Bioethanol production from rice and corn husks after enzymatic and microbes hydrolysis and yeast fermentation. *Asian Journal of Tropical Biotechnology*, 14(1), 19–23. <https://smujo.id/bbs/article/view/1886>

Radzlin, N., Mohamad Ali, M. S., Goh, K. M., Yaakop, A. S., Zakaria, I. I., & Kahar, U. M. (2024). Exploring a novel GH13\_5  $\alpha$ -amylase from *Jeotgalibacillus malaysiensis* D5T for raw starch hydrolysis. *AMB Express*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-024-01722-3>

Ronie, M. E., & Hasmadi, M. (2022). Factors affecting the properties of rice flour: A review. *Food Research*, 6(6), 1–12. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.6\(6\).531](https://doi.org/10.26656/fr.2017.6(6).531)

- Ruiz, M. I., Sánchez, C. I., Torres, R. G., & Molina, D. R. (2011). Enzymatic hydrolysis of cassava starch for production of bioethanol with a Colombian wild yeast strain. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22(12), 2337–2343. <https://doi.org/10.1590/S0103-5053201100120001>
- Schirner, R. D., Roick, T., Maeder, A., & Krause, A. (1991). Starch hydrolysate rich in glucose preparation by hydrolysis of cereal enzyme extract using alpha-amylase and glucoamylase (German Patent No. DE4125971A1).
- Suklaew, P. O., Chusak, C., & Adisakwattana, S. (2020). Physicochemical and functional characteristics of RD43 rice flour and its food application. *Foods*, 9(12), 1912. <https://doi.org/10.3390/foods9121912>
- Tamilarasan, K., Subramanian, A., & Kumar, M. D. (2018). Optimization of enzymatic hydrolysis of rice starch by immobilized  $\alpha$ -amylase using response surface methodology. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1438337>
- Thakur, A., Vaidya, D., Kaushal, M., Verma, A., & Gupta, A. (2020). Mineral composition, physicochemical properties, FTIR spectra and scanning electron microscopy of rice flour. *Journal of Vitamins & Minerals*, 9(4). <https://www.hilarispublisher.com/open-access/mineral-composition-physicochemical-properties-ftir-spectra-and-scanning-electron-microscopy-of-rice-flour.pdf>
- Tiwari, M., Mhatre, S., Vyas, T., Bapna, A., & Raghavan, G. (2023). A validated HPLC-RID method for quantification and optimization of total sugars: Fructose, glucose, sucrose, and lactose in eggless mayonnaise. *Separations*, 10(3), 199. <https://doi.org/10.3390/separations10030199>

- Turini, C. da S., Nogueira, R. M., Pires, E. M., & Agostini, J. da S. (2021). Enzymatic hydrolysis of carbohydrates in by-products of processed rice. *Ciência Rural*, *51*(11), e20200522.  
<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200522>
- Webber, A., Webber, D. M., Sivarooban, T., Horax, R., & Hettiarachchy, N. S. (2014). *Heat-stabilized defatted rice bran (HDRB) as an alternative growth medium for Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Food and Nutrition*, *1*, 1–6. <https://doi.org/10.17303/jfn.2014.103>
- Weiss, T., Hong, S., Xiao, R., Wu, X., Li, Y., Tilley, M., & Wang, D. (2025). Assessment of granular starch hydrolysis enzyme on ethanol yield from partially swollen sorghum starch and analysis of extracted protein properties. *Journal of Agriculture and Food Research*, *19*, 101621.  
<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101621>
- Witasari, L. D., Nisrina, S., Yani, A. I. T., Heryadi, A. A., & Pranoto, Y. (2024). Characterization of porous starch produced from arrowroot (*Maranta arundinacea* L.) by enzymatic hydrolysis with  $\alpha$ -amylase and glucoamylase. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, *7*, 100445.  
<https://doi.org/10.1016/j.carpta.2024.100445>
- Xiao, W., He, H., Dong, Q., Huang, Q., An, F., & Song, H. (2023). Effects of high-speed shear and double-enzymatic hydrolysis on the structural and physicochemical properties of rice porous starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, *234*, 123692.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123692>
- Yu, T., Jing, S., Jiabin, L., Aixia, W., Mengzi, N., Xue, G., Lili, W., Liya, L., Fengzhong, W., & Litao, T. (2024). Effects of milling methods on rice flour properties and rice product quality: A review. *Rice Science*, *31*(1), 33–46. <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2023.11.002>

## Anexos

### Anexo 1 Resultados del diseño experimental

**Tabla 10**

*Resultados diseño experimental*

N.º Ensayo	Tiempo	%Sólidos	Dosis enzima (mL/kg)	ºBrix	Densidad	AF (%)	AF (g/L)
1	0	10	0,61	9	1,03	0,45%	4,69
1	1	10	0,61	9,8	1,04	4,01%	41,62
1	5	10	0,61	9,8	1,04	5,80%	60,2
1	10	10	0,61	9,4	1,04	7,08%	73,32
1	15	10	0,61	10	1,04	7,64%	79,3
1	20	10	0,61	10	1,04	7,92%	82,17
1	26	10	0,61	9,7	1,04	8,13%	84,29
1	30	10	0,61	10,3	1,04	8,07%	83,84
1	32	10	0,61	10,3	1,04	8,20%	85,21
1	35	10	0,61	10,1	1,04	8,19%	85,08
1	38	10	0,61	10	1,04	8,24%	85,57
2	0	10	0,61	10	1,04	0,16%	1,68
2	1	10	0,61	9,5	1,04	1,99%	20,58
2	5	10	0,61	9,7	1,04	4,73%	49,02
2	10	10	0,61	9,1	1,03	7,35%	76,04
2	15	10	0,61	10	1,04	8,21%	85,21
2	20	10	0,61	10	1,04	7,95%	82,55
2	26	10	0,61	9,5	1,04	8,59%	89

---

2	30	10	0,61	10,3	1,04	8,49%	88,19
2	32	10	0,61	10,3	1,04	8,59%	89,26
2	35	10	0,61	10,1	1,04	8,60%	89,28
2	38	10	0,61	10	1,04	8,60%	89,28
3	0	10	0,61	7,9	1,03	0,37%	3,81
3	1	10	0,61	7,9	1,03	3,64%	37,44
3	5	10	0,61	8,2	1,03	5,11%	52,63
3	10	10	0,61	8,3	1,03	6,05%	62,38
3	15	10	0,61	8,3	1,03	6,51%	67,17
3	20	10	0,61	8,2	1,03	6,73%	69,41
3	26	10	0,61	7,9	1,03	6,89%	70,93
3	30	10	0,61	8,4	1,03	6,91%	71,32
3	32	10	0,61	8,7	1,03	6,96%	71,92
3	35	10	0,61	8,7	1,03	6,89%	71,17
3	38	10	0,61	8,7	1,03	6,93%	71,56
4	0	10	0,92	8,7	1,03	0,37%	3,87
4	1	10	0,92	8,7	1,03	4,47%	46,12
4	5	10	0,92	8,9	1,03	6,26%	64,71
4	10	10	0,92	9,4	1,04	7,13%	73,79
4	15	10	0,92	9	1,03	7,31%	75,61
4	20	10	0,92	9,2	1,03	7,58%	78,47
4	26	10	0,92	8,5	1,03	7,65%	78,96
4	30	10	0,92	9,2	1,03	7,72%	79,84
4	32	10	0,92	9,4	1,04	7,66%	79,34
4	35	10	0,92	9,4	1,04	7,76%	80,33

---

---

4	38	10	0,92	9,4	1,04	7,71%	79,83
5	0	10	0,92	8,8	1,03	0,17%	1,8
5	1	10	0,92	8,8	1,03	4,60%	47,52
5	5	10	0,92	8,1	1,03	5,84%	60,14
5	10	10	0,92	8,9	1,03	6,67%	68,98
5	15	10	0,92	8,3	1,03	7,43%	76,59
5	20	10	0,92	9,4	1,04	7,50%	77,65
5	26	10	0,92	9,4	1,04	7,56%	78,26
5	30	10	0,92	9,6	1,04	7,56%	78,35
5	32	10	0,92	9,7	1,04	7,63%	79,14
5	35	10	0,92	9,7	1,04	7,66%	79,41
5	38	10	0,92	9,8	1,04	7,78%	80,7
6	0	10	0,92	8,8	1,03	0,16%	1,7
6	1	10	0,92	8,8	1,03	4,70%	48,6
6	5	10	0,92	8,2	1,03	6,02%	62,06
6	10	10	0,92	9	1,03	6,72%	69,43
6	15	10	0,92	9	1,03	6,94%	71,72
6	20	10	0,92	9,2	1,03	7,12%	73,66
6	26	10	0,92	9,2	1,03	7,16%	74,11
6	30	10	0,92	9,4	1,04	7,65%	79,21
6	32	10	0,92	9,5	1,04	7,27%	75,32
6	35	10	0,92	9,6	1,04	7,22%	74,78
6	38	10	0,92	9,7	1,04	7,27%	75,42
7	0	10	1,23	8,4	1,03	0,24%	2,52
7	1	10	1,23	8,4	1,03	4,12%	42,51

---

---

7	5	10	1,23	9	1,03	6,54%	67,64
7	10	10	1,23	8,5	1,03	7,35%	75,85
7	15	10	1,23	9,2	1,03	7,38%	76,41
7	20	10	1,23	9,4	1,04	7,30%	75,58
7	26	10	1,23	9,4	1,04	7,33%	75,89
7	30	10	1,23	9,4	1,04	7,54%	78,1
7	32	10	1,23	9,4	1,04	7,63%	79
7	35	10	1,23	9,5	1,04	7,48%	77,51
7	38	10	1,23	9,5	1,04	7,46%	77,27
8	0	10	1,23	8,6	1,03	0,26%	2,7
8	1	10	1,23	8,6	1,03	4,31%	44,46
8	5	10	1,23	9	1,03	6,75%	69,79
8	10	10	1,23	9,1	1,03	7,45%	77,05
8	15	10	1,23	9,2	1,03	7,53%	77,95
8	20	10	1,23	9,4	1,04	7,34%	76,04
8	26	10	1,23	9,4	1,04	7,63%	78,99
8	30	10	1,23	9,4	1,04	7,41%	76,75
8	32	10	1,23	9,4	1,04	7,68%	79,52
8	35	10	1,23	9,5	1,04	7,75%	80,29
8	38	10	1,23	9,5	1,04	7,78%	80,64
9	0	10	1,23	8	1,03	0,25%	2,61
9	1	10	1,23	8	1,03	5,38%	55,44
9	5	10	1,23	8,2	1,03	7,07%	72,87
9	10	10	1,23	8,4	1,03	7,64%	78,86
9	15	10	1,23	9	1,03	7,73%	79,91

---

---

9	20	10	1,23	9,3	1,04	7,83%	81,01
9	26	10	1,23	9,4	1,04	7,95%	82,33
9	30	10	1,23	8,8	1,03	7,81%	80,74
9	32	10	1,23	9,1	1,03	7,96%	82,32
9	35	10	1,23	8,8	1,03	7,94%	82,04
9	38	10	1,23	9	1,03	8,05%	83,21
10	0	20	0,61	17,9	1,07	0,76%	8,14
10	1	20	0,61	17,9	1,07	8,10%	86,81
10	5	20	0,61	18,2	1,07	12,40%	133,04
10	10	20	0,61	18,9	1,08	13,97%	150,26
10	15	20	0,61	19	1,08	14,52%	156,22
10	20	20	0,61	19,4	1,08	14,78%	159,31
10	26	20	0,61	19,3	1,08	15,04%	162,06
10	30	20	0,61	19,2	1,08	15,01%	161,67
10	32	20	0,61	20	1,08	15,13%	163,44
10	35	20	0,61	19,5	1,08	14,61%	157,55
10	38	20	0,61	19,5	1,08	15,38%	165,85
11	0	20	0,61	16,6	1,07	0,76%	8,12
11	1	20	0,61	16,6	1,07	8,02%	85,46
11	5	20	0,61	16,8	1,07	10,98%	117,08
11	10	20	0,61	17	1,07	12,46%	132,95
11	15	20	0,61	17,8	1,07	12,27%	131,35
11	20	20	0,61	18,1	1,07	14,22%	152,48
11	26	20	0,61	18	1,07	14,43%	154,69
11	30	20	0,61	18	1,07	13,94%	149,36

---

---

11	32	20	0,61	17,1	1,07	13,89%	148,29
11	35	20	0,61	17,1	1,07	14,61%	156,03
11	38	20	0,61	17,5	1,07	14,94%	159,76
12	0	20	0,61	17,9	1,07	0,81%	8,68
12	1	20	0,61	17,9	1,07	8,13%	87,13
12	5	20	0,61	17,5	1,07	11,63%	124,33
12	10	20	0,61	17,1	1,07	14,33%	153,03
12	15	20	0,61	18,2	1,07	14,95%	160,39
12	20	20	0,61	18,6	1,07	15,33%	164,73
12	26	20	0,61	18,1	1,07	15,63%	167,58
12	30	20	0,61	18,1	1,07	15,66%	167,91
12	32	20	0,61	18,3	1,07	15,60%	167,41
12	35	20	0,61	17,7	1,07	15,63%	167,28
12	38	20	0,61	17,9	1,07	15,75%	168,67
13	0	20	0,92	16,8	1,07	0,60%	6,36
13	1	20	0,92	16,8	1,07	12,23%	130,46
13	5	20	0,92	16,5	1,07	14,16%	150,88
13	10	20	0,92	17,3	1,07	14,92%	159,41
13	15	20	0,92	17,3	1,07	15,02%	160,5
13	20	20	0,92	17,6	1,07	14,98%	160,23
13	26	20	0,92	17,8	1,07	15,21%	162,87
13	30	20	0,92	17	1,07	14,83%	158,27
13	32	20	0,92	17,6	1,07	14,98%	160,24
13	35	20	0,92	17,8	1,07	15,23%	163,05
13	38	20	0,92	18,1	1,07	14,19%	152,14

---

---

14	0	20	0,92	16,6	1,07	0,72%	7,7
14	1	20	0,92	16,6	1,07	13,05%	139,05
14	5	20	0,92	16,4	1,06	13,05%	138,97
14	10	20	0,92	16,6	1,07	13,66%	145,6
14	15	20	0,92	17,3	1,07	14,02%	149,8
14	20	20	0,92	17,4	1,07	13,48%	144,06
14	26	20	0,92	17,8	1,07	13,44%	143,9
14	30	20	0,92	17	1,07	13,11%	139,88
14	32	20	0,92	17,7	1,07	13,69%	146,53
14	35	20	0,92	17,8	1,07	14,29%	153,01
14	38	20	0,92	18	1,07	13,87%	148,65
15	0	20	0,92	17	1,07	0,60%	6,41
15	1	20	0,92	17	1,07	11,53%	123,07
15	5	20	0,92	18,2	1,07	12,37%	132,72
15	10	20	0,92	18,3	1,07	14,94%	160,28
15	15	20	0,92	18,6	1,07	15,86%	170,42
15	20	20	0,92	18,6	1,07	14,72%	158,1
15	26	20	0,92	18,1	1,07	14,80%	158,66
15	30	20	0,92	17,4	1,07	14,45%	154,47
15	32	20	0,92	19	1,08	14,58%	156,93
15	35	20	0,92	19,1	1,08	14,05%	151,29
15	38	20	0,92	18,5	1,07	14,82%	159,09
16	0	20	1,23	17,2	1,07	0,59%	6,25
16	1	20	1,23	17,2	1,07	13,98%	149,32
16	5	20	1,23	19,2	1,08	14,70%	158,32

---

---

16	10	20	1,23	19,4	1,08	16,43%	177,06
16	15	20	1,23	19,7	1,08	14,19%	153,17
16	20	20	1,23	19,6	1,08	15,82%	170,69
16	26	20	1,23	18,5	1,07	16,16%	173,49
16	30	20	1,23	17,9	1,07	15,46%	165,56
16	32	20	1,23	19,4	1,08	14,80%	159,55
16	35	20	1,23	19,5	1,08	15,81%	170,46
16	38	20	1,23	19	1,08	15,93%	171,39
17	0	20	1,23	18,3	1,07	1,00%	10,72
17	1	20	1,23	18,3	1,07	12,89%	138,3
17	5	20	1,23	18,4	1,07	14,34%	153,93
17	10	20	1,23	18,5	1,07	15,50%	166,4
17	15	20	1,23	18,6	1,07	15,27%	164,04
17	20	20	1,23	18,8	1,08	17,39%	186,98
17	26	20	1,23	19,1	1,08	16,46%	177,23
17	30	20	1,23	19,1	1,08	15,19%	163,49
17	32	20	1,23	19,2	1,08	16,56%	178,32
17	35	20	1,23	19,3	1,08	16,58%	178,6
17	38	20	1,23	19,5	1,08	16,29%	175,66
18	0	20	1,23	16,9	1,07	0,22%	2,4
18	1	20	1,23	16,9	1,07	12,72%	135,72
18	5	20	1,23	17	1,07	13,91%	148,5
18	10	20	1,23	17,3	1,07	13,24%	141,47
18	15	20	1,23	17,6	1,07	13,57%	145,22
18	20	20	1,23	18	1,07	15,15%	162,37

---

---

18	26	20	1,23	18,1	1,07	14,44%	154,79
18	30	20	1,23	18,4	1,07	14,70%	157,77
18	32	20	1,23	18,4	1,07	15,50%	166,41
18	35	20	1,23	18,6	1,07	14,56%	156,46
18	38	20	1,23	18,5	1,07	15,98%	171,58
19	0	30	0,61	26,7	1,11	1,11%	12,37
19	1	30	0,61	26,7	1,11	11,71%	130,093
19	5	30	0,61	27,1	1,11	16,70%	185,88
19	10	30	0,61	27,2	1,11	19,22%	213,99
19	15	30	0,61	27,3	1,11	20,01%	222,88
19	20	30	0,61	27,5	1,11	20,14%	224,48
19	26	30	0,61	27,6	1,12	20,85%	232,5
19	30	30	0,61	27,8	1,12	22,17%	247,46
19	32	30	0,61	27,8	1,12	21,77%	242,93
19	35	30	0,61	27,8	1,12	21,58%	240,84
19	38	30	0,61	27,9	1,12	21,28%	237,61
20	0	30	0,61	26,6	1,11	1,20%	13,37
20	1	30	0,61	26,6	1,11	11,82%	131,21
20	5	30	0,61	27,3	1,11	17,95%	199,88
20	10	30	0,61	27,4	1,11	21,33%	237,7
20	15	30	0,61	27,1	1,11	21,75%	241,98
20	20	30	0,61	27,6	1,12	22,61%	252,17
20	26	30	0,61	27,8	1,12	22,77%	254,093
20	30	30	0,61	27,9	1,12	22,92%	255,88
20	32	30	0,61	27,9	1,12	22,89%	255,61

---

---

20	35	30	0,61	27,9	1,12	22,89%	255,62
20	38	30	0,61	28,1	1,12	22,99%	256,9
21	0	30	0,61	27,5	1,11	0,80%	8,96
21	1	30	0,61	27,5	1,11	9,39%	104,71
21	5	30	0,61	27,7	1,12	14,72%	164,27
21	10	30	0,61	27,9	1,12	20,66%	230,64
21	15	30	0,61	28,1	1,12	21,56%	240,96
21	20	30	0,61	27,8	1,12	22,26%	248,43
21	26	30	0,61	30,7	1,13	22,55%	254,78
21	30	30	0,61	30,5	1,13	22,84%	257,89
21	32	30	0,61	28,9	1,12	23,10%	259,02
21	35	30	0,61	27,9	1,12	23,32%	260,4
21	38	30	0,61	27,6	1,12	23,54%	262,52
22	0	30	0,92	29	1,12	0,90%	10,04
22	1	30	0,92	29	1,12	10,21%	114,5
22	5	30	0,92	27,2	1,11	16,49%	183,56
22	10	30	0,92	27,5	1,11	21,54%	240,07
22	15	30	0,92	27,7	1,12	22,48%	250,77
22	20	30	0,92	29,2	1,12	23,03%	258,51
22	26	30	0,92	29,5	1,12	24,04%	270,21
22	30	30	0,92	30,1	1,13	24,02%	270,65
22	32	30	0,92	28,8	1,12	24,33%	272,69
22	35	30	0,92	28,3	1,12	24,42%	273,13
22	38	30	0,92	28,5	1,12	24,43%	273,49
23	0	30	0,92	27,5	1,11	1,67%	18,6

---

---

23	1	30	0,92	27,5	1,11	21,95%	244,67
23	5	30	0,92	27,5	1,11	24,88%	277,33
23	10	30	0,92	27,7	1,12	26,11%	291,25
23	15	30	0,92	26	1,11	26,21%	290,28
23	20	30	0,92	29,3	1,12	26,46%	297,17
23	26	30	0,92	27,6	1,12	26,80%	298,89
23	30	30	0,92	28,4	1,12	27,14%	303,71
23	32	30	0,92	29,2	1,12	27,31%	306,56
23	35	30	0,92	29,2	1,12	26,76%	300,44
23	38	30	0,92	28,6	1,12	27,59%	308,98
24	0	30	0,92	26,4	1,11	2,14%	23,7
24	1	30	0,92	26,4	1,11	20,98%	232,82
24	5	30	0,92	26,3	1,11	23,23%	257,65
24	10	30	0,92	26,6	1,11	24,00%	266,47
24	15	30	0,92	26,3	1,11	24,49%	271,59
24	20	30	0,92	27,2	1,11	23,95%	266,58
24	26	30	0,92	29,3	1,12	24,43%	274,35
24	30	30	0,92	27,4	1,11	24,76%	275,83
24	32	30	0,92	27,5	1,11	24,72%	275,58
24	35	30	0,92	27,5	1,11	25,18%	280,72
24	38	30	0,92	27,5	1,11	25,25%	281,43
25	0	30	1,23	27,3	1,11	1,62%	18,08
25	1	30	1,23	27,3	1,11	21,82%	242,99
25	5	30	1,23	27,4	1,11	25,96%	289,24
25	10	30	1,23	27,6	1,12	26,67%	297,43

---

---

25	15	30	1,23	28,3	1,12	27,33%	305,67
25	20	30	1,23	28,5	1,12	28,28%	316,61
25	26	30	1,23	29,2	1,12	28,60%	321,11
25	30	30	1,23	29,2	1,12	28,32%	317,95
25	32	30	1,23	29,3	1,12	28,49%	320
25	35	30	1,23	29,3	1,12	28,29%	317,72
25	38	30	1,23	29,2	1,12	28,36%	318,44
26	0	30	1,23	26,4	1,11	1,87%	20,72
26	1	30	1,23	26,4	1,11	22,30%	247,44
26	5	30	1,23	27,7	1,12	25,56%	285,17
26	10	30	1,23	27,9	1,12	26,07%	291,12
26	15	30	1,23	27,9	1,12	27,87%	311,2
26	20	30	1,23	28	1,12	27,20%	303,83
26	26	30	1,23	28	1,12	27,15%	303,28
26	30	30	1,23	29,1	1,12	27,06%	303,67
26	32	30	1,23	28,7	1,12	27,52%	308,29
26	35	30	1,23	29,2	1,12	27,23%	305,73
26	38	30	1,23	28,7	1,12	27,71%	310,39
27	0	30	1,23	30,3	1,13	1,89%	21,32
27	1	30	1,23	30,3	1,13	20,76%	234,12
27	5	30	1,23	30,4	1,13	21,53%	277,47
27	10	30	1,23	27,4	1,11	25,28%	281,65
27	15	30	1,23	27,7	1,12	26,26%	292,99
27	20	30	1,23	27,2	1,11	26,56%	295,71
27	26	30	1,23	27,7	1,12	27,23%	303,83

---

---

27	30	30	1,23	28	1,12	27,31%	305,09
27	32	30	1,23	28	1,12	27,09%	302,56
27	35	30	1,23	27,9	1,12	26,99%	301,35
27	38	30	1,23	27,9	1,12	27,21%	303,83

---

*Nota.* Elaboración propia (2026)