

Caracterización química del agua de maceración del maíz de la UEB Glucosa Cienfuegos y la obtenida empleando *Green Sulf*

Chemical characterization of the corn steep water of UEB Glucose Cienfuegos and the one obtained using Green Sulf

*MSc. David Velázquez-Torres, MSc. Elisa Chou-Rodríguez,
Dr. C. Juan José Cabello-Eras*

dvelazquez@ucf.edu.cu, echou@ucf.edu.cu, jcabello@ucf.edu.cu

Universidad de Cienfuegos, Cienfuegos, Cuba

Recibido: 10 de julio de 2014

Aprobado: 21 de diciembre de 2014

Resumen

El presente trabajo tiene como objetivo realizar un análisis de caracterización química del agua de maceración del maíz obtenida en la UEB Glucosa Cienfuegos y la obtenida empleando *Green Sulf*. El estudio de laboratorio comprendió la caracterización del maíz (materia prima) y la realización de un diseño 2^3 factorial a escala de laboratorio que determinó las mejores condiciones de maceración dentro del rango estudiado empleando *Green Sulf*. El agua obtenida de ambos procesos se sometió a una serie de ensayos quimicofísicos que caracterizan la calidad de la maceración, con vistas a comparar los resultados y obtener, si es posible, el cambio de tecnología, manteniendo o aumentando los rendimientos de almidón de la empresa.

Palabras clave: caracterización química, agua de maceración, *Green Sulf*.

Abstract

This paper entitled "Chemical characterization of corn steep water UEB Glucose Cienfuegos and obtained using Green Sulf" aims to make an analysis of chemical characterization of raw materials and water corn steep UEB Glucose Cienfuegos and obtained using Green Sulf. The laboratory study included the characterization of corn and the realization of a 2^3 factorial design laboratory scale that determined the best conditions of maceration within the range studied using Green Sulf. The steep water both processes are subjected to a series of chemical tests - characterizing the physical quality of maceration, in order to compare the processes and get if changing technology while maintaining or increasing yields starch company may.

Keywords: chemical characterization, steep water, *Green Sulf*.

Introducción

Los principios de Producción Más Limpia tienen muchas aplicaciones en las industrias de alimentos, de hecho, son necesarios para asegurar la calidad y la productividad sin deteriorar el medioambiente.

De los problemas planteados en la Estrategia Ambiental del Ministerio de la Industria Alimentaria [1], sobre los principales problemas ambientales que presenta este sector, como la contaminación de las aguas terrestres y marinas, la contaminación atmosférica y el elevado consumo de agua, la UEB Glucosa Cienfuegos no queda excluida, pues con sus actividades, productos y servicios genera impactos significativos sobre el medioambiente.

En el año 2012 la empresa emitió 29 839,49 kg de SO₂ (g) a la atmósfera en el proceso de obtención de agua sulfurosa (H₂SO₃ (ac)), además del derrame de 115,76 kg de azufre sólido y 3 224 261,18 kg de agua de remojo, lo que provocó numerosos impactos ambientales que afectaron directamente la salud de los trabajadores y a los asentamientos poblacionales que la rodean.

Lo anterior demuestra que esta fábrica es uno de los mayores contaminantes de la Bahía de Cienfuegos y de los diferentes ecosistemas que la rodean, ya que no cumple con los límites máximos permisibles para las concentraciones de las descargas de sus aguas residuales, con lo que viola la Legislación Ambiental vigente en el país [2] a la vez que no cumple con los Lineamientos de la Política Económica y Social del Partido y la Revolución aprobados en el VI Congreso del PCC [3].

Por lo tanto, se hace necesario buscar alternativas de Producción Más Limpias que contribuyan a la reducción de los impactos medioambientales provocados por la empresa, proporcionando una base para la investigación de nuevas mejoras, con el objetivo de lograr una estrecha interrelación entre la economía y el medioambiente, al poner de manifiesto los puntos del proceso de maceración en los que sería prioritaria una innovación tecnológica que permitiera simultáneamente una mejora ambiental del proceso y de su competitividad.

Una alternativa es la sustitución del azufre en la etapa de maceración del maíz, de ahí que el objetivo de este estudio sea develar las ventajas de la sustitución del azufre sólido por el *Green Sulf* en la obtención de agua sulfurosa para el proceso de

maceración del maíz en la UEB Glucosa Cienfuegos, teniendo en cuenta la estrecha relación del proceso de obtención de SO₂ en ambas industrias.

Materiales y métodos

Pruebas realizadas a nivel de laboratorio para la comparación de la maceración de maíz empleando azufre sólido y Green Sulf

Con el objetivo de demostrar la eficacia del empleo del *Green Sulf* en la obtención del agua sulfurosa para el proceso de maceración, se realizó una serie de análisis de laboratorio que determinan la calidad de este proceso, cuyos resultados se compararon con los obtenidos del análisis del agua de maceración de la UEB Glucosa Cienfuegos. Para ello, se realizó una caracterización química al agua de maceración de la fábrica y a la misma obtenida por el uso del *Green Sulf*.

Teniendo en cuenta la importancia que representa la calidad y composición de las materias primas en la obtención de análisis confiables y que los mismos se refieren al maíz seco, fueron determinados en el laboratorio la humedad, materia seca, materia seca residual, ceniza total, viabilidad, fibra y el porcentaje de germinación del Maíz Yellow. Para el desarrollo de las técnicas de laboratorios usadas para la caracterización de las materias primas y agua de maceración se tuvo en cuenta el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* [4].

Diseño de experimento

Para el estudio de la influencia de las variables seleccionadas (tabla 1) en la maceración empleando *Green Sulf* para la obtención de agua sulfurosa, se aplica un diseño 2³ factorial a escala de laboratorio. Este y otros diseños factoriales han sido usados efectivamente en aplicaciones de desarrollo de procesos complejos y desarrollo de productos [5, 6].

TABLA 1. VARIABLES Y RANGOS ANALIZADOS PARA REALIZAR EL DISEÑO

Variables influyentes	Nivel inferior	Nivel superior
X1 temperatura (°C)	49	53
X2 Concentración H ₂ SO ₃ (ppm)	1 545,6	2 032
X3 tiempo (horas)	40	60
Variables no influyentes		
Presión		
Relación sólido líquido		

Un acercamiento lineal es considerado suficiente para la selección de las variables (1):

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i \quad (i = 1, \dots, k) \quad (1)$$

donde

Y: respuesta predicha

β_i : efectos de las variables consideradas.

Tres variables representan los factores analizados en la etapa de tratamiento.

Las variables estudiadas y sus niveles fueron seleccionados teniendo en cuenta el proceso de maceración del maíz empleado en la UEB Glucosa Cienfuegos y según la bibliografía consultada. Cada punto del experimento se realizó a presión ambiental y una relación sólido-líquido de 15 g de maíz/17,5 mL de agua sulfurosa, ya que en el proceso real se utilizan 30 000 kg de maíz macerado/35 m³ de agua sulfurosa. Las interacciones entre las variables son consideradas. Los resultados fueron procesados con la herramienta *Statgraphics Centurion*.

El parámetro respuesta analizado Y1 (concentración de proteínas), se escogió de acuerdo con uno de los objetivos que persigue la maceración: obtener una solubilización eficiente de las sustancias solubles del maíz. La concentración de proteínas fue determinada por el método espectrofotométrico con reactivo de Biuret. La tabla 2 muestra la matriz experimental del diseño.

TABLA 2. MATRIZ EXPERIMENTAL DEL DISEÑO

Exp.	X1	X2	X3
1	+	+	+
2	+	+	-
3	+	-	+
4	+	-	-
5	-	+	+
6	-	+	-
7	-	-	+
8	-	-	-

Análisis de laboratorio realizados al agua de maceración de la UEB Glucosa Cienfuegos y a la obtenida empleando Green Sulf

Al agua de maceración obtenida de la combustión de azufre sólido en la UEB Glucosa Cienfuegos y a la obtenida empleando *Green Sulf* se les realizó una caracterización quimicofísica con la que se asegura una evaluación confiable para la comparación de ambos productos. Los ensayos comprenden: residuo total (sólido total), residuo

filtrable (sólido filtrable) y no filtrable (sólido no filtrable), residuo fijo (sólido fijo, total, filtrable y no filtrable), concentración de SO_2 , carbohidratos totales por el método fenol-sulfúrico, determinación de pH y proteínas por el método de Biuret; con este último se determinó la calidad del proceso de maceración empleando *Green Sulf* [7-9].

Proteínas. Método de Biuret

El método comprende un ensayo colorimétrico de un paso donde se cuantifica la formación de un complejo estable entre proteínas y cobre (II). El complejo presenta un color violeta característico, que se puede observar a 310 nm o 540-560 nm, el cual se da por la coordinación de un átomo de cobre con cuatro átomos de nitrógeno. El complejo se basa en la desprotonación de los grupos amida para formar el enlace con el cobre (II) o por el establecimiento de un enlace coordinado entre el metal y los pares de electrones libres de los átomos de oxígeno y de nitrógeno del péptido (figura 1).

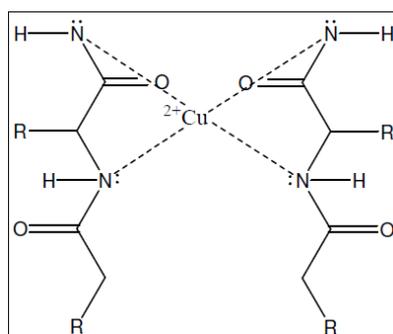


Figura 1. Estructura del complejo entre el cobre y los enlaces peptídicos

Después de la adición del reactivo de cobre se requiere de tiempo para desarrollar una coloración de Biuret estable; es necesario considerar la posible influencia de aminoácidos libres que forman *buffer* en configuración tris y amoniaco [10-11].

Resultados y discusión

Resultado de los análisis de laboratorio

A continuación se muestran los resultados del análisis de laboratorio realizado al Maíz Yellow, *Green Sulf*, agua de maceración de la UEB Glucosa Cienfuegos y agua de remojo luego de aplicar un diseño 2^3 factorial con agua sulfurosa obtenida del *Green Sulf*.

Resultados de la caracterización del Maíz Yellow

Los resultados de la caracterización del Maíz Yellow se muestran en la tabla 3. Los ensayos se replicaron tres veces para asegurar la normalidad de las muestras en los análisis estadísticos.

TABLA 3. RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN REALIZADA A LOS PRINCIPALES PARÁMETROS DEL MAÍZ YELLOW

Ensayo %	H	MS	MSr	Ceniza	Viabilidad	Fibra I	Fibra I MS	Germinación
Media	10,63	91,56	95,73	1,85	55,96	2,02	2,20	55,69
S	0,465	0,390	0,582	0,218	1,528	0,049	0,053	1,380
S ²	0,185	0,131	0,291	0,041	2,0	0,002	0,002	1,633

Todos los ensayos realizados antes de someter el Maíz Yellow al proceso de maceración en el laboratorio tienen como objetivo determinar, según sus especificaciones, si el mismo se encuentra apto para el proceso.

Según los resultados de los ensayos de laboratorio (tabla 3), se demostró que la materia prima cumple con las especificaciones de calidad establecidas, por lo que se encuentra apta para el proceso de maceración.

La determinación de la humedad, materia seca y materia seca residual del maíz antes de su uso en la maceración es importante para la posterior cuantificación de sus componentes, ya que todos los cálculos se realizan sobre base seca. El contenido de cenizas presente en la muestra corresponde con lo reportado en la literatura para diferentes especies de maíz y coincide en la mayoría de los casos. No obstante, en todas las referencias el contenido de cenizas se encuentra por debajo del 1,9 %. Los resultados del análisis de la viabilidad y germinación se hallan dentro de las normas establecidas. Este es un dato de interés, ya que un bajo porcentaje de los parámetros analizados indica daños por calor, hongos, vejez, etcétera, que afectan la propiedad del maíz y su utilidad en la molinación húmeda.

Resultados del diseño de experimento y análisis estadístico

Se estudiaron las variables relacionadas con el tratamiento del Maíz Yellow mediante un diseño factorial 2^3 con ocho experimentos replicados tres veces cada uno. Las variables seleccionadas: X1–temperatura, X2–concentración de SO₂ en el agua sulfurosa y X3–tiempo, fueron escogidas teniendo en cuenta el proceso de maceración del maíz empleado en la UEB Glucosa Cienfuegos y según la bibliografía consultada. Cada punto del experimento se realizó a una relación sólido líquido de 15 g de

maíz/17,5 mL de agua sulfurosa, simulando las relaciones del proceso real, 30 000 kg de maíz macerado/35 m³ de agua sulfurosa y a presión normal.

Análisis del diseño de experimento

Los resultados obtenidos del diseño experimental para la concentración de proteína/100 g de materia prima como respuesta y la temperatura, concentración de SO₂ y tiempo como variables de entrada aparecen reportados en la tabla 4.

TABLA 4. MILIGRAMOS DE PROTEÍNAS POR 100 g DE MATERIA PRIMA INICIAL EN EL TRATAMIENTO DEL MAÍZ YELLOW APLICANDO EL DISEÑO 2³ FACTORIAL

Exp.	Variables independientes			Variable dependiente
	X1	X2	X3	mg Prot/100g de MP
1	1	1	1	22,83
2	1	1	-1	18,99
3	1	-1	1	19,54
4	1	-1	-1	22,91
5	-1	1	1	24,36
6	-1	1	-1	21,50
7	-1	-1	1	28,95
8	-1	-1	-1	22,14

Cada ensayo se replicó tres veces

Como puede observarse, la mayor concentración de proteínas respecto a 100 gramos de materia prima inicial se obtuvo con el nivel más bajo de temperatura y concentración de SO₂ y el nivel más alto del tiempo.

La tabla 5 presenta las estimaciones para cada uno de los efectos considerados y las interacciones. También se muestra el error estándar de cada uno de estos efectos, el cual mide su error de muestreo. El factor de inflación de varianza (V.I.F.) mayor es igual a 1,0; factores de 10 o más se interpretan como indicativos de confusión seria entre los efectos, por lo que no se exhibió gran error de muestreo y no existe confusión entre los efectos.

TABLA 5. EFECTOS ESTIMADOS PARA EL PARÁMETRO RESPUESTA (mg DE PROTEÍNA/100 g MP)

Efecto	Estimado	Error estándar	V.I.F.
promedio	22,645	0,340 767	
A: temperatura	-3,176 67	0,681 535	1,0
B: conc. SO ₂	-1,525	0,681 535	1,0
C: tiempo	2,548 33	0,681 535	1,0
AB	1,138 33	0,681 535	1,0
AC	-2,285	0,681 535	1,0
BC	0,793 333	0,681 535	1,0

Errores estándar basados en el error total con 17 g.L

La ecuación 2 describe los miligramos de proteína por 100 g de materia prima inicial (mg de Prot/100 g de MP) en función de las variables del proceso.

$$Y1 = 22,645 - 3,176\ 67\ X1 - 1,525\ X2 + 2,548\ 33\ X3 + 1,138\ 33\ X1\ X2 - 2,285\ X1\ X3 + 0,793\ 333\ X2\ X3 \quad (2)$$

La ecuación (2) revela que en el rango estudiado la temperatura y el tiempo de maceración son las variables con mayor influencia sobre la concentración de proteína. El signo negativo de los respectivos coeficientes en la ecuación evidencia que la concentración de proteínas decrece con el incremento de estas variables.

La figura 2 exhibe el comportamiento de las variables independientes que influyen en el diseño de experimento.

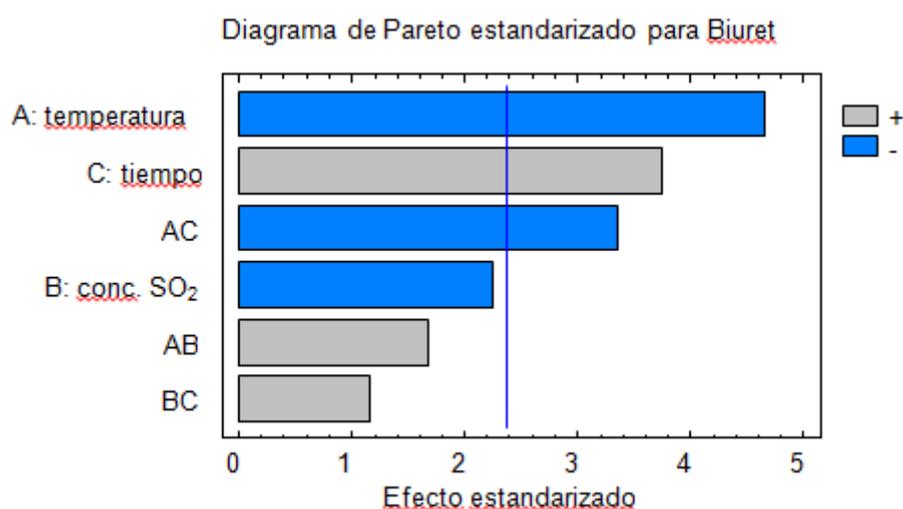


Figura 2. Gráfico de significación de las variables independientes sobre los mg de proteína/100 g de MP

En el gráfico se muestra el diagrama con las variables lineales significativas: temperatura (X1), tiempo (X3) y la interacción entre temperatura y tiempo (X1X3). El signo positivo del coeficiente de X3 significa que al incrementar el tiempo de maceración se incrementa también la cantidad de proteína en el agua de macerado. El signo negativo de X1 significa que si se incrementa la temperatura disminuye la concentración de proteínas en el agua de maceración. El signo negativo de la interacción (X1X3) expresa la contribución negativa de esta interacción con la concentración de proteínas obtenidas.

Mediante el análisis de la ecuación 2 en *Statgraphics* para la combinación de los niveles que maximizan la concentración de proteína sobre la región indicada, se obtiene que es necesario establecer los límites alto y bajo, los cuales se muestran en la tabla 6.

TABLA 6. COMBINACIÓN DE LOS NIVELES DE LOS FACTORES QUE MAXIMIZAN LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	-1,0	1,0	-1,0
Conc. SO ₂	-1,0	1,0	-1,0
Tiempo	-1,0	1,0	1,0

Evaluando esta función se obtiene el gráfico de respuesta en forma de cubo (figura 3), donde se observa con mayor claridad que para obtener una concentración de proteínas de 28,973 3 mg/100 g de MP es necesario combinar los niveles de los factores de tal forma que la temperatura y la concentración de agua sulfurosa se analicen en el nivel más bajo y el tiempo en el más alto.

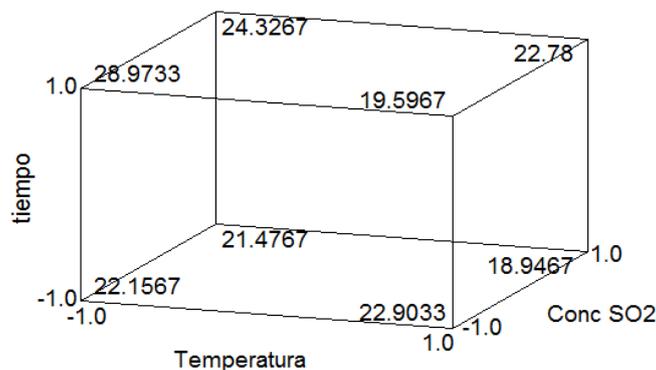


Figura 3. Gráfico de respuesta en forma de cubo para la ecuación 2

Resultados de la comparación del agua de maceración obtenida por la UEB Glucosa Cienfuegos (G) y el Green Sulf (GS)

Al experimento 7, donde se obtuvieron los mejores resultados del diseño de experimento con una concentración de proteínas de 28,95 mg/100 g de MP, se le realizó una caracterización química junto con el agua de maceración de la UEB Glucosa Cienfuegos, con vistas a comparar la composición química de ambas. Los resultados se muestran en la tabla 7.

TABLA 7. RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN DEL AGUA DE MACERACIÓN OBTENIDA POR LA UEB GLUCOSA CIENFUEGOS (G) Y EL GREEN SULF (GS)

No	Variable	Unidades	Promedio	Desviación estándar
1.1	Residuo total - G	ppm	8 639,74	0,525 257
1.2	Residuo total - GS	ppm	8 523,15	0,341 637
2.1	Residuo filtrable - G	ppm	8 499,34	0,827 58
2.2	Residuo filtrable - GS	ppm	8 452,99	0,606 355
3.1	Residuo no filtrable - G	ppm	140,405	1,030 05
3.2	Residuo no filtrable - GS	ppm	70,164	0,830 839
4.1	Residuo total fijo - G	ppm	4 779,18	0,565 317
4.2	Residuo total fijo - GS	ppm	4 682,55	0,394 238
5.1	Residuo filtrable fijo - G	ppm	4 641,27	1,729 52
5.2	Residuo filtrable fijo - GS	ppm	4 599,08	0,928 469
6.1	Residuo no filtrable fijo - G	ppm	0,092	0,031 198 3
6.2	Residuo no filtrable fijo - GS	ppm	0,067	0,035 292 4
7.1	Residuo total volátil - G	ppm	3 860,57	0,600 167
7.2	Residuo total volátil - GS	ppm	3 840,6	0,505 667
8.1	Residuo filtrable volátil - G	ppm	3 858,82	0,817 585
8.2	Residuo filtrable volátil - GS	ppm	3 853,91	1,119 09
9.1	Residuo no filtrable volátil - G	ppm	140,313	1,030 25
9.2	Residuo no filtrable volátil - GS	ppm	70,098	0,845 43
10.1	Concentración de SO ₂ - G	ppm	432,6	1,577 62
10.2	Concentración de SO ₂ - GS	ppm	554,8	2,347 58
11.1	Concentración de proteína - G	mg Prot/100 g de MP	28,735	0,028 382 3
11.2	Concentración de proteína - GS	mg Prot/100 g de MP	28,601	0,309 496
12.1	Concentración de carbohidratos - G	ppm	1 311,59	0,824 42
12.2	Concentración de carbohidratos - GS	ppm	8 353,41	1,688 16
13.1	pH - G	-	3,323	0,013 374 9
13.2	pH - GS	-	2,931	0,016 633 3

Cada ensayo fue replicado 10 veces

Se aprecia que existe poca diferencia en el valor numérico de los resultados; solo en los datos de la concentración de carbohidratos se observa una diferencia apreciable. Esto se debe a que el proceso de maceración con el *Green Sulf* a escala de laboratorio no se contaminó con bacterias lácticas y no se recirculó el agua de maceración como en el proceso de la UEB Glucosa Cienfuegos. Dichos factores evitaron la fermentación láctica y con ello la disminución en el agua de macerado de la concentración de carbohidratos (nutriente fundamental para la formación de ácido láctico) por la oxidación de monosacáridos.

La concentración de dióxido de azufre en el agua de maceración obtenida de la disolución del *Green Sulf* disminuyó menos que la obtenida del proceso de maceración de la empresa. La causa fundamental fue la falta de recirculación del agua. La inyección del agua sulfurosa se debe realizar en el depósito que contiene el maíz más viejo; la salida continua del agua de maceración tiene lugar en el depósito del maíz más nuevo. Este factor es importante pero no determinante en la obtención de los resultados. Ello provocó, además, el valor más bajo de pH para este experimento.

Las diferencias entre los análisis de sólidos se deben fundamentalmente a la cantidad de maíz tratado: 30 000 kg de maíz de un tanque de maceración de la UEB Glucosa Cienfuegos contra 15 g de maíz utilizado para cada experimento en el laboratorio.

Es lógico pensar que la manipulación de grandes cantidades de maíz hace que al proceso de maceración entren residuos del mismo en forma de partículas muy pequeñas que no continúan en el proceso de molienda y contribuyen al aumento de los análisis de residuos totales, no filtrables, fijos y volátiles.

Para tener una certeza de la significación de cada ensayo se aplicó la Prueba de Múltiple Rangos. Este procedimiento compara las medias y establece cuáles son significativamente diferentes. Los resultados pueden apreciarse en la tabla 8. Se observa una diferencia estadística en 10 de los 13 pares analizados, con un nivel de confianza del 95,0 %.

TABLA 8. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE MÚLTIPLES RANGOS APLICADA A LAS MEDIAS DE LOS ENSAYOS REALIZADOS AL AGUA DE MACERACIÓN OBTENIDA DE AMBOS PRODUCTOS

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Residuo total – G GS	*	116,591	0,837 053
Residuo filtrable – G GS	*	46,35	0,837 053
Residuo no filtrable – G GS	*	70,241	0,837 053
Residuo total fijo – G GS	*	96,622	0,837 053
Residuo filtrable fijo – G GS	*	42,189	0,837 053
Residuo no filtrable fijo – G GS		0,025	0,837 053
Residuo total volátil – G GS	*	19,969	0,837 053
Residuo filtrable volátil – G GS	*	4,911	0,837 053
Residuo no filtrable volátil – G GS	*	70,215	0,837 053
Concentración de SO ₂ – G GS	*	-122,2	0,837 053
Concentración de proteína – G GS		0,134	0,837 053
Concentración de carbohidratos – G GS	*	-7 041,82	0,837 053
pH – G GS		0,392	0,837 053

* indica una diferencia significativa

La comparación de los resultados de los ensayos de caracterización quimicofísica del agua de maceración obtenida por ambos procesos mostró que no hubo diferencia significativa en los experimentos de determinación de residuos no filtrables fijos, concentración de proteínas y pH.

Especial importancia presenta la no significancia estadística de los valores de concentración de proteínas en ambas muestras, ya que este ensayo fue usado como variable respuesta en el diseño de experimento empleado para determinar las mejores condiciones para la maceración con el *Green Sulf*.

Conclusiones

Los análisis de caracterización de la materia prima (Maíz Yellow) con la que se hicieron todos los experimentos, demostraron que cumplen con las especificaciones de calidad requeridas para el proceso de maceración.

El diseño experimental 2³ factorial aplicado en este estudio muestra que en los intervalos experimentales estudiados el efecto de la temperatura y el tiempo tiene una mayor influencia sobre la concentración de proteínas en el agua de maceración. En este caso, si disminuimos la temperatura y aumentamos el tiempo, se logrará mayor concentración de proteínas y se obtendrán mejores resultados en el proceso de maceración.

La máxima concentración de proteínas, correspondiente al experimento 7 (28,95 mg Prot/100g de MP), tuvo lugar cuando el Maíz Yellow fue tratado a 49 °C con una concentración de agua sulfurosa de 1 545,6 ppm durante 60 h. En las condiciones

probadas, el tratamiento produjo una concentración similar de proteínas, resultado que se encuentra en correspondencia con los datos obtenidos de la caracterización del agua de maceración de la UEB Glucosa Cienfuegos.

*La comparación del agua de maceración con ensayos de caracterización quimicofísica de ambos procesos mostró que no hubo diferencia significativa en los experimentos de determinación de residuos no filtrables fijos, concentración de proteínas y pH; en todos los demás ensayos existe una gran diferencia causada por la obtención de mejores resultados en la maceración empleando *Green Sulf* con un 95 % de confianza.*

Referencias bibliográficas

1. MINISTERIO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE, *Estrategia Ambiental Nacional*, La Habana, Ediciones GEO, 2011.
2. CUBA, Ley No. 81, *Gaceta Oficial de la Republica de Cuba*, Edición Extraordinaria, año XCV, núm. 7, 11 de julio de 1997,
3. PARTIDO COMUNISTA DE CUBA, Lineamientos de la política económica y social del Partido y la Revolución, La Habana, 2011.
4. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER ENVIRONMENT FEDERATION, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* [consulta: 10 de septiembre de 2014]. Disponible en: http://www.mwa.co.th/download/file_upload/SMWW_1000-3000.pdf
5. LEVINA, L.; FORCHIASSINA, F.; VIALEB, A., “Ligninolytic enzyme production and dye decolorization by *Trametes trogii*: application of the Plackett–Burman experimental design to evaluate nutritional requirements”, *Process Biochemistry*, 2005, 40(3), 1381-1387.
6. Ghanem, [N. B.](#); [YUSEF](#), H. H.; [MAHROUSE](#), H. K., “Production of *Aspergillus terreus* xylanase in solid-state cultures: application of the Plackett-Burman experimental design to evaluate nutritional requirements”, [Bioresource Technology](#), 2000, 73(2), 113-121.
7. VOGEL, A. I., *Análisis químico cualitativo*, 3.^a ed., Madrid, Editorial Paraninfo, 1985.

8. KIRK, R.; SAWYER, R.; EGAN, H., *Composición y Análisis de Alimentos de Pearson*, 2.^a ed., México, Compañía Editorial Continental, S.A., 1996.
9. Lezcano, E., Análisis de producto Cereales para el desayuno [consulta: 10 de septiembre de 2014]. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/sectores/farinaceos/Productos/CerealesDesayuno_2010_11Nov.pdf
10. Nollet, L. M. L., *Handbook of food analysis*, New York, M. Dekker, 1996.
11. Bradford, M., “A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding”, *Analytical Biochemistry*, 1976, 72, 248-254.
12. Curbelo Martínez, M. Propuesta para un procedimiento para la Gestión de la Ecología Industrial. Caso de estudio: Empresas de la Industria Alimenticia. Cienfuegos : s.n., 2013.
13. Restrepo Gallego, M., “Producción más Limpia en la Industria Alimentaria”, *Producción + Limpia*, 2006, 1(1), 87-101.