

Artículo Original

***ESTRATEGIA EXPERIMENTAL ASOCIADA A LA OPTIMIZACIÓN
DE LA HIDRÓLISIS DE SACAROSA***

***EXPERIMENTAL STRATEGY ASSOCIATED WITH
SUCROSE HYDROLYSIS OPTIMIZATION***

Claudia María Suarez Pargas^{1*} <https://orcid.org/0009-0005-4500-9636>

Omar Pérez Navarro¹ <https://orcid.org/0000-0001-6963-1327>

María Karla Muñoz del Valle¹ <https://orcid.org/0009-0005-7913-5825>

Richard Moya Olivera² <https://orcid.org/0009-0004-7920-1012>

Sheila María Acosta Rodríguez¹ <https://orcid.org/0009-0004-1292-3109>

Isabel Cabrera Estrada¹ <https://orcid.org/0000-0002-5307-1502>

¹Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Química y Farmacia. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

²Instituto Cubano de Investigaciones de los derivados de la caña de azúcar (ICIDCA), Sede Territorial Zona Central, Villa Clara, Cuba.

Recibido: Noviembre 20, 2025; Revisado: Diciembre 2, 2025; Aceptado: Diciembre 14, 2025

RESUMEN

Introducción:

Aprovechando la necesidad de aumentar la eficiencia de la hidrólisis y buscando una alternativa sostenible para la producción de glucosa, se desarrolló un estudio centrado en optimizar la hidrólisis enzimática de la sacarosa mediante la incorporación de biomasa de células muertas de *Komagataella*.

Objetivo:

Evaluar la influencia de variables operativas sobre el rendimiento de la hidrólisis enzimática, usando la actividad retenida en el periplasma celular.

Materiales y Métodos:

Se utilizó un diseño factorial Plackett-Bürman evaluando cinco variables (temperatura, grados Brix, concentración de enzima, relación biomasa/sobrenadante y velocidad de agitación) sobre la concentración de reductores totales (g/L) y el porcentaje de inversión. La cuantificación se realizó mediante el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico. La



Este es un artículo de acceso abierto bajo una Licencia *Creative Commons* Atribución-No Comercial 4.0 Internacional, lo que permite copiar, distribuir, exhibir y representar la obra y hacer obras derivadas para fines no comerciales.

* Autor para la correspondencia: Claudia M. Suarez, Email: cspargas@uclv.cu



experimentación se llevó a cabo a escala de laboratorio, controlando las condiciones de reacción para el posterior análisis estadístico.

Resultados y Discusión:

Los resultados indican que grados Brix y relación biomasa/sobrenadante son estadísticamente significativos (85 %). El modelo confirmó la influencia positiva de ambas variables. La máxima concentración de reductores totales (1020 g/L) se logró con 75 % Brix y una relación 70/30 mL/g. Se debatió la necesidad de equilibrar el rendimiento de la hidrólisis con la viabilidad de operaciones posteriores.

Conclusiones:

La integración de biomasa constituye una estrategia efectiva que mejora la eficiencia catalítica demostrando ser una alternativa eficiente y sostenible para mejorar la producción de glucosa. La relación biomasa/sobrenadante y los grados Brix son los parámetros operativos críticos para la optimización del proceso.

Palabras clave: Biomasa/sobrenadante; diseño de Plackett-Bürman; glucosa; grados Brix; hidrólisis enzimática; *Komagataella*

ABSTRACT

Introduction:

Taking advantage of the need to increase hydrolysis efficiency and seeking a sustainable alternative for glucose production, a study was developed focused on optimizing the enzymatic hydrolysis of sucrose by incorporating *Komagataella* dead cell biomass.

Objective:

To evaluate the influence of operational variables on the yield of enzymatic hydrolysis, using the retained activity in the cellular periplasm.

Materials and Methods:

A Plackett-Bürman factorial design was used to evaluate five variables (temperature, Brix degrees, enzyme concentration, biomass/supernatant ratio, and stirring speed) on the total reducing sugar concentration (g/L) and the percentage of inversion. Quantification was performed using the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) method. The experiment was conducted at laboratory scale, controlling reaction conditions for subsequent statistical analysis.

Results and Discussion:

Results indicate that Brix degree and the Biomass/Supernatant Ratio are statistically significant (85 %). The model confirmed the positive influence of both variables. The maximum concentration of total reducing sugars (1020 g/L) was achieved with 75 % Brix and a 70/30 mL/g ratio. The necessity of balancing hydrolysis yield with the viability of subsequent operations was discussed.

Conclusions:

The integration of biomass constitutes an effective strategy that enhances catalytic efficient and sustainable alternative to improve glucose production while reducing operating costs. The biomass/supernatant ratio and Brix degrees are the critical operating parameters for process optimization.

Keywords: Biomass/Supernatant ratio; Plackett-Bürman design; Glucose; Brix degrees;

Enzymatic hydrolysis; *Komagataella*.

1. INTRODUCCIÓN

La producción de azúcares invertidos, obtenida primariamente por la hidrólisis de soluciones de sacarosa, es un proceso de creciente importancia estratégica y económica global. La glucosa, aunque con un poder edulcorante ligeramente inferior a la sacarosa, es un insumo crucial en las industrias alimentaria, farmacéutica y química (Acosta, 2021). Esto impulsa la optimización de los métodos de obtención. A nivel mundial, la glucosa proviene del azúcar refinado y del almidón de maíz, hidrolizados mediante técnicas como la hidrólisis ácida, el intercambio iónico, o la moderna hidrólisis enzimática con invertasa (Díaz et al., 2020).

En Cuba, la Unidad Empresarial de Base (UEB) Derivados “Chiquitico Fabregat” fabrica glucosa y jarabes de fructosa usando azúcar refinado. Históricamente, ha abastecido a entidades claves como Sorbitol Camagüey y la industria alimentaria. Actualmente, la instalación opera bajo el esquema de hidrólisis ácida. A pesar de su uso, el proceso de hidrólisis ácida presenta serias limitaciones operacionales y de calidad que restringen la eficiencia y el potencial de diversificación. Se caracteriza por bajos rendimientos, alto consumo de materia prima, generación de subproductos indeseados (coloraciones y sabores atípicos), corrosión de equipos y presencia de residuos ácidos en el producto final (Cortés, 2021).

La hidrólisis enzimática de la sacarosa ha emergido como una alternativa más eficiente, sostenible y con notables ventajas operativas (Cortés et al., 2020). Los avances biotecnológicos permiten usar enzimas superiores, como la β -Fructosidasa de *Thermotoga marítima* (BfrA). Esta invertasa es valiosa por su termoestabilidad y termoactividad, resistiendo la inhibición por sustrato y operando eficazmente hasta 85 °C (Cortés, 2021). Se ha demostrado que su implementación puede incrementar la producción hasta 1,83 veces respecto al método ácido (Suarez, 2024).

A pesar de sus beneficios, la implementación industrial de la hidrólisis enzimática requiere superar desafíos tecnológicos y económicos. Estudios previos han identificado la necesidad de optimizar el consumo de enzima, que ha sido reportado como elevado (28 U/g refino), para mejorar la rentabilidad (Acosta, 2021; Cortés, 2021).

Un enfoque innovador, propuesto por Martínez et al. (2014a), es utilizar biomasa de células muertas de *Komagataella* genéticamente modificadas para expresar la enzima BfrA en su espacio periplásmico. Este método implica extraer el contenido enzimático retenido y utilizarlo junto con el biocatalizador del sobrenadante. Un pretratamiento térmico a 70 °C durante 30 minutos favorece la liberación y el aprovechamiento de la actividad enzimática retenida.

Esta estrategia, que utiliza la actividad enzimática retenida, representa una alternativa sostenible y viable, que puede reducir los consumos de enzima (Muñoz, 2025) e incrementar el rendimiento general.

Atendiendo a estos desafíos y oportunidades, el objetivo principal de la investigación es evaluar la influencia de variables operativas sobre el rendimiento de la hidrólisis enzimática, usando la actividad retenida en el periplasma celular.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Revisión y selección de la metodología enzimática previo al diseño experimental

Se realizó una evaluación de las metodologías reportadas en la literatura para la hidrólisis enzimática de sacarosa. Las principales alternativas examinadas incluyeron el uso de invertasa termoestable de la UEB de Bioprocesos del ICIDCA (Cortés, 2021), la β -Fructosidasa de *Thermotoga marítima* (BfrA) expresada en *Komagataella* (anterior *Pichia Pastoris*) e inmovilizada en alginato de calcio (PpABfrA) (Acosta, 2021; Acosta et al. 2022), y un biocatalizador desarrollado a partir de BfrA recombinante y termoestable, obtenida por expresión optimizada en *Komagataella* (Menéndez et al., 2014).

Se determinó que la termoestabilidad es una propiedad operacional crítica para la aplicación en la industria azucarera. Se consideró la BfrA utilizada por Cortés (2021), la cual opera óptimamente a 85 °C y presenta un incremento de 1,83 veces en la producción respecto al método industrial actual (Suarez, 2024), aunque su principal desventaja económica es la no recuperación y separación del sistema de reacción (Cortés et al., 2020). Por otro lado, la PpABfrA inmovilizada puede operar entre 50-70 °C (Menéndez et al., 2014). En base a los antecedentes, el diseño experimental se enfocó en la hidrólisis enzimática, adaptando las variables identificadas en estudios previos como significativas, tales como la concentración de sacarosa (Bx), concentración de enzima, pH y temperatura (Cortés et al., 2020; Cortés, 2021; Acosta et al., 2022). Se incorporó la variable relación biomasa/sobrenadante al diseño experimental, dada la propuesta de utilizar un pretratamiento térmico: 70 °C durante 30 minutos, para favorecer la liberación y utilización de enzimas contenidas en el periplasma celular, según la metodología de Martínez et al. (2014b).

2.2. Diseño experimental y variables evaluadas

El estudio se basó en un diseño factorial completo tipo Plackett-Bürman (Plackett & Bürman, 1946) con el objetivo de evaluar la influencia de múltiples variables en la fase de hidrólisis para la obtención de glucosa por la ruta enzimática. Este diseño, seleccionado por su eficiencia en la minimización de réplicas y costos (de Armas, 2019; González & Castro, 2012), consistió en una matriz de ocho corridas experimentales y siete variables, de las cuales cinco fueron auténticas (X_1 , X_2 , X_3 , X_5 , X_6) y dos ficticias (X_4 y X_7). Las variables independientes y sus niveles de estudio se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. Niveles de estudio de las variables independientes seleccionadas en el diseño de Plackett-Bürman

<i>Variable</i>	<i>Unidad</i>	<i>Nivel inferior (-)</i>	<i>Nivel superior (+)</i>
X_1 (Temperatura)	°C	70	80
X_2 (Bx)	%	70	75
X_3 (Concentración de enzima)	U/g refino	20	30
X_5 (Relación biomasa/sobrenadante)	mL/g	54/46	70/30
X_6 (Velocidad)	rpm	450	600

Se seleccionaron dos variables de respuesta: Y_1 Concentración de reductores totales (g/L), (Miller, 1959) y Y_2 Porcentaje de inversión (%).

2.3. Ejecución experimental a escala de laboratorio

Tras definir los límites críticos de la experimentación, el protocolo se estructuró conforme a la metodología visualizada en la figura 1, donde se desglosan cada una de las fases del proceso de ejecución, así como la instrumentación, equipos y métodos aplicados.

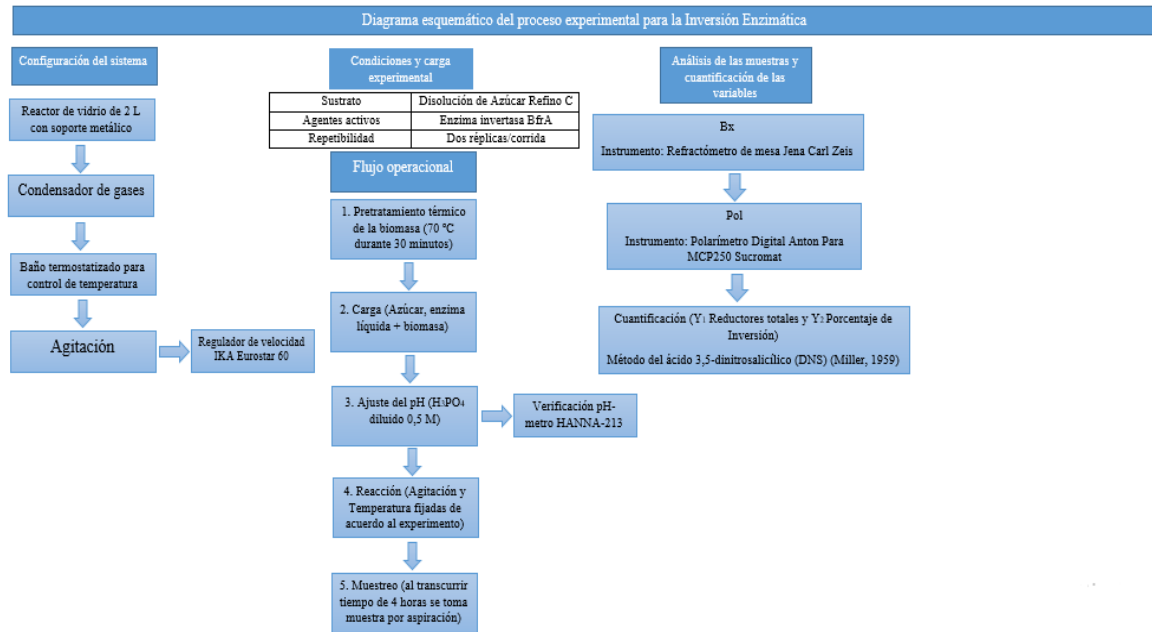


Figura 1. Diagrama esquemático del proceso experimental

2.4. Análisis estadístico y modelación

El análisis estadístico se llevó a cabo para determinar los coeficientes del modelo de primer orden que relaciona la respuesta con las variables codificadas. El modelo se formaliza mediante la ecuación 1.

$$Y = E_0 + \sum_{i=1}^7 E_i X_i \quad (1)$$

Donde Y es la variable de respuesta (Y_1 o Y_2), E_0 es el coeficiente central, E_i son los coeficientes de las variables codificadas, y X_i es el nivel codificado de la variable. Los coeficientes del modelo (E_i) se calcularon a partir de los datos experimentales obtenidos mediante las ecuaciones 2 y 3.

$$E_0 = \frac{\sum_{i=1}^N Y_i}{N} \quad (2)$$

$$E_i = \frac{\sum_{i=1}^N X_i Y_i}{N} \quad (3)$$

Donde Y_i es el valor de la respuesta en la corrida i , N es el número de corridas experimentales (8).

Para identificar las variables con influencia significativa, se aplicó el análisis del intervalo de confianza (Romaina, 2012; Issacson, 1970) y la prueba t de Student a niveles de significación del 95 %, 90 % y 85 % de probabilidad. Lo que permitió establecer los modelos definitivos simplificados.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El desarrollo del diseño multifactorial completo de Plackett-Bürman permitió una evaluación multifactorial con un mínimo de réplicas (de Armas, 2019; González & Castro, 2012; Cortés, 2021). La tabla 2 compila los resultados obtenidos.

Tabla 2. Resultados experimentales del diseño Plackett-Bürman

N	X_1	X_2	X_3	$X_4 (f_1)$	X_5	X_6	$X_7 (f_2)$	$Y_1 (g/L)$	$Y_2 (\%)$
1	+	+	+	-	+	-	-	1020	97,46
2	+	+	-	+	-	-	+	905	86,57
3	+	-	+	-	-	+	+	648,606	68,47
4	-	+	-	-	+	+	+	854,22	81,74
5	+	-	-	+	+	+	-	909,518	93,1
6	-	-	+	+	+	-	+	897,902	94,12
7	-	+	+	+	-	-	-	844,605	80,81
8	-	-	-	-	-	-	-	724,7	76,52

En el experimento 1 se registraron los valores más altos para ambas respuestas $Y_1 = 1020$ g/l; $Y_2 = 97,46$ %. Dichos resultados corresponden a la combinación de los niveles superiores (+) de las variables X_1 , X_2 , X_3 , y X_5 , y al nivel inferior (-) de X_6 .

El análisis de regresión, basado en los datos experimentales, permitió el cálculo de los coeficientes del modelo para cada variable respuesta, los mismos se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Coeficientes del modelo para variables respuesta (Y_1 y Y_2)

<i>Variable respuesta</i>	E_0	E_1	E_2	E_3	$E_4 (f_1)$	E_5	E_6	$E_7 (f_2)$
Y_1 (Reductores totales)	850,576	20,205	55,395	2,217	38,695	69,834	-36,324	-24,144
Y_2 (Porcentaje de Inversión)	84,849	1,551	1,796	0,336	3,801	6,756	-3,819	-2,124

En la tabla 4 se muestran los resultados estadísticos de las pruebas t de Student y la determinación de los intervalos de confianza.

Tabla 4. Resultados de las pruebas estadísticas para ambas variables

Prueba del intervalo de confianza										
Variables	Prob.	Δbj	E_0	E_1	E_2	E_3	E_4 (f_1)	E_5	E_6	E_7 (f_2)
Reductores totales	95 %	94,17	sí	no	no	no	no	no	no	no
	90 %	60,82	sí	no	no	no	no	sí	no	no
	85 %	44,69	sí	no	sí	no	no	sí	no	no
Porcentaje de Inversión	95 %	8,99	sí	no	no	no	no	no	no	no
	90 %	5,80	sí	no	no	no	no	sí	no	no
	85 %	4,26	sí	no	sí	no	no	sí	no	no
Prueba t de Student										
Variables	t Student		t_0	t_1	t_2	t_3	t_4 (f_1)	t_5	t_6	t_7 (f_2)
Reductores totales	t calc.		26,37	0,62	1,71	0,06	1,2	2,1	-1,1	-0,7
	2,92	95 %	sí	no	no	no	no	no	no	no
	1,88	90 %	sí	no	no	no	no	sí	no	no
	1,38	85 %	sí	no	sí	no	no	sí	no	no
Porcentaje de inversión	t calc.		27,55	0,5	0,58	0,11	1,23	2,19	-1,24	-0,69
	2,92	95 %	sí	no	no	no	no	no	no	no
	1,88	90 %	sí	no	no	no	no	sí	no	no
	1,38	85 %	sí	no	sí	no	no	sí	no	no

Los resultados revelaron que, a un nivel de significación del 85 %, solo las variables X_2 (Bx) y X_5 (relación biomasa/sobrenadante) resultaron ser estadísticamente significativas para ambas respuestas. La significación se confirmó porque sus respectivos coeficientes superaron el límite del intervalo de confianza (Δbj) y sus valores de t fueron superiores al valor tabulado. Esto implica que el modelo definitivo para la hidrólisis enzimática, bajo las condiciones estudiadas, se simplifica a la influencia de estas dos variables (Mesa, L., 2009), plasmándose en las ecuaciones 4 y 5.

$$Y_1 = 850,576 + 55,395 * X_2 + 69,834 * X_5 \quad (4)$$

$$Y_2 = 84,849 + 1,796 * X_2 + 6,756 * X_5 \quad (5)$$

El signo positivo de los coeficientes asociados a X_2 y X_5 en las ecuaciones 4 y 5 indican que el aumento de los grados Brix y la razón biomasa/sobrenadante dentro del rango estudiado, favorece tanto la concentración de reductores totales como el porcentaje de inversión. La relación biomasa/sobrenadante (X_5), con el coeficiente más alto en ambos modelos, es el factor más influyente. Una mayor proporción de biomasa, que contiene la enzima invertasa, en relación con el volumen de sustrato maximiza la disponibilidad de centros activos enzimáticos, acelerando la cinética de hidrólisis y, consecuentemente, mejorando la eficiencia del rendimiento. La concentración de sólidos solubles también es crítica. Sin embargo, desde una perspectiva de ingeniería de procesos, el incremento desmedido de Bx , aunque beneficioso para la reacción, podría comprometer seriamente

la viabilidad del escalado industrial. Una alta concentración de azúcares aumenta la viscosidad, lo que dificultaría operaciones unitarias posteriores como la cristalización, filtración y centrifugación, por lo que se requiere un equilibrio entre el rendimiento de la hidrólisis y la eficiencia de las fases de separación y purificación.

La literatura científica presenta hallazgos parcialmente coincidentes. Cortés (2021), en una investigación similar, identificó la concentración de enzima, la concentración de sacarosa y la temperatura como variables significativas. De forma análoga, Amaya et al., (2006) y Montserrat et al., (2011), al estudiar la hidrólisis con invertasa inmovilizada, concluyeron que la temperatura y la concentración de sacarosa tienen un efecto positivo. La diferencia en los resultados (donde X_1 , X_3 y X_6) no fueron significativas en este estudio puede atribuirse a: rango de evaluación inadecuado (los niveles de las variables seleccionados, basados en antecedentes, podrían no haber alcanzado el rango de operación crítico, donde su efecto se manifestaría plenamente) o efecto amortiguado del sistema (las condiciones operacionales inherentes al reactor de vidrio de 2 L podrían estar mitigando o suprimiendo el impacto potencial de estas variables).

Desde el punto de vista de la ingeniería de bioprocesos, estos resultados sugieren la necesidad de un enfoque holístico. La optimización debe considerar no solo el efecto inmediato de una variable sobre la reacción sino también sus efectos en cascada sobre todo el diagrama de flujo productivo.

Basándose en la robustez estadística de la variable X_5 , se implementó el método del paso ascendente, centrado en elevar la razón biomasa/sobrenadante, manteniendo los grados Brix constantes debido a las restricciones técnicas. Los resultados de estas validaciones confirmaron la predicción del modelo y se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados de las corridas correspondientes al método del paso ascendente

<i>Exp.</i>	X_1	X_2	X_3	$X_4 (f_1)$	X_5	X_6	$X_7 (f_2)$	$Y_1 (g/L)$	$Y_2 (%)$
1	+	+	+	-	+	-	-	1030	99,31
2	+	+	-	+	-	-	+	955	90,55

La corrida 1 del paso ascendente, con el nivel superior de X_5 , mostró un incremento en Y_1 (1030 g/L) y Y_2 (99,31 %) en comparación con el experimento 1 del diseño Plackett-Bürman (1020 g/L y 97,46 %). Esta concordancia entre el modelo de predicción y los datos empíricos valida la importancia de X_5 como factor limitante y clave en la optimización del proceso. Se sugiere que futuras investigaciones se centren en análisis de sensibilidad más exhaustivos, incluyendo la exploración de efectos sinérgicos y la evaluación del sistema bajo un régimen de alimentación continua para una mayor fidelidad a los escenarios industriales.

4. CONCLUSIONES

1. El uso del diseño Plackett- Bürman dentro de la ruta de optimización permitió establecer que la relación biomasa/sobrenadante (X_5) y el porcentaje Brix (X_2) son las variables de mayor impacto. La relevancia de ambos factores trascendió el análisis estadístico, validándose mediante la ejecución experimental como los pilares para obtener un alto rendimiento en el proceso hidrolítico.

2. El uso de biomasa de células muertas de *Komagataella* permitió alcanzar una concentración máxima de reductores totales de 1030 g/L y un porcentaje de inversión del 99,31 %. Sin embargo, un control estricto del porcentaje Brix es crucial para evitar problemas operacionales en etapas industriales posteriores.
3. La evaluación de las variables operativas confirmó que la incorporación de la actividad enzimática retenida en el periplasma de *Komagataella* constituye una alternativa eficiente y sostenible, logrando un rendimiento superior al 99 % de inversión y demostrando que la relación biomasa/sobrenadante es el parámetro clave para maximizar la hidrólisis y reducir el consumo de enzima.

REFERENCIAS

- Acosta, A. (2021). *Desarrollo y evaluación de tecnologías para la producción de glucosa por vía enzimática a partir de un biocatalizador termoestable en la UEB Derivados Chiquitico Fabregat*. [Tesis presentada en opción al título de Ingeniero Químico]. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Cuba. <https://dspace.uclv.edu.cu/handle/123456789/12998>
- Acosta, A., Pérez, O., Pérez, E. R., & Martínez, D. (2022). Optimización de parámetros operacionales, escalado y determinación de requerimientos para la inversión enzimática de sacarosa. *Centro Azúcar*, 49(2), 1-14. http://centrozucar.uclv.edu.cu/index.php/centro_azucar/article/view/697
- Amaya, L., Hidalgo, M. E., & Montes, M. C. (2006). Hydrolysis of sucrose by invertasa immobilized on nylon-6 microbeads. *Food Chemistry*, 99(2), 299-304. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.048>
- Cortés, M. F. (2021). *Efecto de la extracción del jugo de los filtros en los costos y en la calidad del azúcar crudo y refinado para la producción de glucosa*. [Tesis presentada en Opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Técnicas]. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Cuba.
- Cortés, M. F., Pérez, O., Alomá, I. C., & Leiva, J. (2020). La regresión óptima para la hidrólisis enzimática en la producción de glucosa. *ICIDCA*, 53(2), 17-25. <https://www.revista.icidca.azcuba.cu/wp-content/uploads/2020/05/articulo-91.pdf>
- De Armas, A. C. (2019) *Evaluación de esquemas de biorefinerías de segunda y tercera generación*. [Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Técnicas]. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Cuba.
- Díaz, L. R., Zumalacárregui, L., Pérez, O., & González, G. A. (2020). Evaluación del proceso de producción de glucosa a partir de Sacarosa en la UEB Argentina. *Tecnología Química*, 40(3), 611-626. <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v40n3/22246185-rtq-40-03-611.pdf>
- González, E., & Castro, E. (2012). Aspectos técnico-económicos de los estudios previos inversionistas para la producción de etanol de caña de azúcar. *Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico* (pp. 69-75). Editorial de la Universidad de Jaén.
- Issacson, W. B. (1970). Statistical Analyses for Multivariable Systems. *Chemical Engineering*, 29, 69-75.
- Martínez, D., Cutiño, B., Pérez, E. R., Menéndez, C., Hernández, L., & del Monte, A.
-

- (2014a). A thermoestable exo- β -fructosidase immobilized through rational design. *Food Chemistry*, 145, 826-831. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.073>
- Martínez, D., Menéndez, C., Echemendía, F. M., Pérez, E. R., Trujillo, L. E., Sobrino, A., Ramírez, R., Quintero, Y., & Hernández, L. (2014b). Complete sucrose hydrolysis by heat-killed recombinant *Pichia Pastoris* cells entrapped in calcium alginate. *Microbial Cell Factories*, 13(87). <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2859-13-87>
- Menéndez, C., Martínez, D., Trujillo, L. E., Ramírez, R., Sobrino, A., Cutiño, B. V., Basabe, L., del Monte, A., Pérez, E. R., & Hernández, L. (2014). Development of soluble and immobilized biocatalysts based on a recombinant thermoestable β -fructosidase enabling complete sucrose inversion at pasteurization temperatures. *Biotecnología Aplicada*, 31(4), 240-246. <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sciarttext&pid=S1027-28522014000400005>
- Mesa, L. (2009). *Estrategia investigativa para la obtención de etanol y coproductos de bagazo de la caña de azúcar*. [Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Técnicas]. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Cuba.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.
- Montserrat, G. M., Núñez, L., Islas, G., Cruz, P., & Valdés, H. (2011). Evaluación del efecto de la temperatura, la concentración y flujo volumétrico en la hidrólisis de sacarosa mediante invertasa inmovilizada en un reactor esférico. *Ingeniería, Investigación y Tecnología*, 12(3), 285-296. <https://doi.org/10.22201/fi.25940732e.2011.12n3.023>
- Muñoz, M. K. (2025). *Diseño óptimo de una planta de glucosa utilizando biocatalizador termoestable extraído del periplasma celular*. [Tesis presentada en opción al título de Ingeniero Químico]. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Cuba.
- Plackett, R. L., & Burman, J. P. (1946). The Design of Optimum Multifactorial Experiments. *Biometrika*, 33(4), 305-325. <https://doi.org/10.1093/biomet/33.4.305>
- Romana, J. C. (2012). *Estadística experimental: Herramientas para Investigación*. Fondo Editorial UPT-Perú. <http://www.iiap.org.pe/upload/Transparencia/Actualizaciones%2020112013/TRANSP632/20130129/CursoEstadistica/TEXTOS/estadisticaexperiment al.pdf>.
- Suarez, C. M. (2024). *Propuesta tecnológica para la producción de glucosa en la UEB Chiquitico Fabregat*. [Tesis presentada en opción al título de Ingeniero Químico]. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Cuba.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no existen conflictos de interés.

CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

- Ing. Claudia María Suarez Pargas. Investigación, Redacción - revisión y edición.
 - Dr.C. Omar Pérez Navarro. Gestión de proyectos, Análisis formal, Validación.
 - Ing. María Karla Muñoz del Valle. Investigación, Redacción - primera redacción.
 - M.Sc. Richard Moya Olivera. Investigación, Recursos, Metodología.
 - Ing. Sheila María Acosta Rodríguez. Investigación.
 - Dr.C. Isabel Cabrera Estrada. Supervisión, Metodología.
-