UCLV
Universidad Central
"Marta Abreu" de Las Villas

FQF
Facultad de
Química y Farmacia

Departamento de Ingeniería Química

"Propuesta tecnológica para la etapa de hidrólisis enzimática en la producción de glucosa a partir de azúcar refino"

Autora: Alejandra Paret González

Tutor: MsC. Mariano Cortés Falcón

2018-2019

, junio 2019

UCLV
Universidad Central
"Marta Abreu" de Las Villas

FQF
Facultad de
Química y Farmacia

Departament of Chemical Engineering

DIPLOMA THESIS

"Technological proposal to the enzymatic hydrolysis in glucose production using refined sugar".

Author: Alejandra Paret González

Tutors: MsC. Mariano Cortés Falcón

2018-2019

Santa Clara, june 2019

Copyright©UCLV

Este documento es Propiedad Patrimonial de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, y se encuentra depositado en los fondos de la Biblioteca Universitaria “Chiqui Gómez Lubian” subordinada a la Dirección de Información Científico Técnica de la mencionada casa de altos estudios.

Se autoriza su utilización bajo la licencia siguiente:

Atribución- No Comercial- Compartir Igual

Para cualquier información contacte con:

Dirección de Información Científico Técnica. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Carretera a Camajuaní. Km 5½. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP. 54 830

Teléfonos: +53 01 42281503-1419

PENSAMIENTO

"El aprendizaje es experiencia, todo lo demás es información."

Albert Einstein

DEDICATORIA

- ***A mi madre, quien ha sido mi amiga, mi confidente, quien me ha entregado su esfuerzo, tiempo y recursos con el propósito de ver en mi a una persona madura, capaz y preparada.***
- ***A mi ángel de la guarda, Amanda, por darme su amor entrañable, su apoyo incondicional y por estar a mi lado en todo momento, gracias por existir tata.***
- ***A mi hermosa familia, por confiar en mí y estar presente en cada etapa de mi vida.***

AGRADECIMIENTOS

* ***Agradezco a Dios por darme esta linda oportunidad y las fuerzas que necesité para culminar esta etapa de mi vida.***
* ***Agradezco a mi mamá Tamara González, quien me animó a mantenerme fuerte, quien me ha hecho reír y ha secado mis lágrimas, a ella por ser el tesoro más hermoso que la vida me regaló.***
* ***Agradezco a mi hermana Amanda Paret, por ser mi motor impulsor en todos estos años y a pesar de la distancia entre nosotros siempre estuvimos unidas por el corazón.***
* ***Agradezco a mi Abuela Olimpia que, aunque no esté presente físicamente me cuida desde el cielo y colaboró a mi educación en los primeros años de mi vida.***
* ***Agradezco a mi abuelo Jose por su comprensión, aliento, ayuda y estar a mi lado hasta el final.***
* ***Agradezco infinitamente a mi tía Nilda Novas porque me ha tratado como su nieta, por sus consejos y palabras de sabiduría y por estar presente en todas las etapas de mi vida y hacer que este día fuese especial para mí.***
* ***Agradezco a mi padre por estar presente en mi vida y por su apoyo durante estos cinco años.***
* ***Agradezco a mi hermano pequeño Bastián, a mis abuelos Noris y Roberto a mis primos y tío, porque ustedes también son parte importante de esta victoria.***
* ***Agradezco a mi tutor Mariano Cortés Falcón quien me ayudó en todo momento y alentó en varias ocasiones cuando pensé que no lo lograría.***

* ***Agradezco a Mario Sergio, Mario Octavio y Ana Celia por permitirme trabajar en sus laboratorios.***
* ***Agradezco a mis compañeros de aula, con los que compartí varias experiencias estos cinco años de estudio.***
* ***Agradezco a todos los profesores que contribuyeron a mi formación como profesional, porque a ellos les debo el conocimiento que adquirí en esta etapa.***
* ***Agradezco a todo aquel que ha puesto un granito de arena en la realización de este trabajo.***

A todos, muchas gracias.

RESUMEN

En el presente trabajo se realiza un estudio del proceso de producción de glucosa por inversión ácida a partir de azúcar refino C en la UEB “Chiquitico Fabregat“, el mismo presenta elevado consumo de materia prima, debido a la baja conversión en la hidrólisis, bajo rendimiento en cristales por no alcanzar el enfriamiento necesario, formación de productos coloreados con presencia de cenizas y subproductos no deseados debido al empleo de ácido fosfórico a elevadas temperaturas. Se propone la sustitución de la etapa de hidrólisis ácida por la enzimática empleando enzima invertasa sumergida. Se realizó una evaluación a escala de laboratorio a partir de un diseño experimental del tipo Placket-Burman 2^{K-P}, se tomaron las variables con 2 niveles; del diseño se tomó como referencia el Experimento 2, el cual reportó los mejores resultados en el nivel de reductores totales y a partir de él se trazó un plan de mejoras para optimizar las variables del proceso, empleando el procedimiento de paso ascendente. Los parámetros óptimos son, reductores totales (1 102,34 g/L); concentración de sacarosa (X_1) = 70%; concentración de enzima (X_2) = 14,64 mL/100g de refino; pH(X_3) =4,6; temperatura(X_5)= 86^0C y tiempo de reacción 3h; trabajando con azúcar refino C; pero si se sustituye por azúcar refino A, el nivel de reductores totales asciende a 1 327,4 g/L, lo que indica la influencia de la calidad del azúcar refino en la etapa de inversión. El diseño y escalado del reactor para la hidrólisis requiere de una capacidad de 0,130 m^3 y un costo de 5 143,05USD.

.

Palabras claves:

Azúcar refino, enzima invertasa, glucosa, hidrólisis, optimización, reactor.

ABSTRACT

In the following work we intend to make a study of the glucose production process by acid inversion from refined sugar C in the UEB “Chiquitico Fabregat” It presents a high consumption of raw material, due to the low conversion in hydrolysis, low yiled in crystals for not reaching the necessary cooling, formation of colored products with the presence of ashes and unwanted by products due to the use of phosphoric acid at high temperatures. The replacement of the acid hydrolysis stage with the enzymatic one is proposed using submerged invertase enzyme. A laboratory scale evaluation was necessary based on an experimental design of the Placket-Burman 2k-p type, the variables with 2(two) levels were taken, from the formal design, it was taken as reference the Experiment Number 2(two), which reported the best results at the level of total reducers, and from it, an improvement plan was created to optimize the process variables, using the step up procedure. The optimal parameters are, total reducers(1102,34 g/l), sucrose concentration(x1)=70%, enzyme concentration(x2)=14,64 ml/100g refining,Ph(x3)=4,6,temperature(x5)=86ºC and reaction time 3h,working with refined sugar C, but if substituted by refined sugar A, the level of total producers amounts to 1327,4g/l, which inficates the influences of the refined sugar quality in the inversion stage. The design and scaling of the reactor for hydrolysis requires a capacity of o, 130 m^3 and a cost of 5143,05 USD.

TABLA DE CONTENIDOS

PENSAMIENTO i

DEDICATORIA ii

AGRADECIMIENTOS iii

RESUMEN v

ABSTRACT vi

INTRODUCCIÓN 1

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 3

1.1 Generalidades 3

1.2 Edulcorante 3

1.2.1 Clasificación de los edulcorantes. 5

1.2.2 Características de los principales edulcorantes. 6

1.2.3 Edulcorantes derivados del almidón 8

1.2.4 Tendencias de consumo de los edulcorantes 9

1.3 Producción de glucosa 9

1.3.1 Características de las materias primas 10

1.3.2 Obtención de glucosa a partir de almidón de maíz. 10

1.3.3 Obtención de glucosa a partir de azúcar refino. 12

1.4 Enzimas. 13

1.4.1 Invertasa o Sacarosa 15

1.5 Inmovilización de enzimas 16

1.5.1 Ventajas de la inmovilización de enzima. 17

1.5.2 Desventajas de la inmovilización de enzima. 17

1.5.3 Métodos de inmovilización de enzima. 17

CAPÍTULO 2. ESTUDIO DE LA INVERSIÓN DE LA SACAROSA A PARTIR DE AZÚCAR REFINO 21

2.1 Descripción del Proceso de obtención de glucosa por vía ácida. 21

2.1.1 Características de la materia prima 21

2.1.2 Etapa de disolución del azúcar refino. 22

2.1.3 Etapa de inversión de la sacarosa. 22

2.1.4 Etapa de enfriamiento. 22

2.1.5 Primera cristalización. 22

2.1.6 Filtración 23

2.1.7 Etapa de disolución de la masa glucosa. 23

2.1.8 Segunda cristalización. 23

2.1.9 Centrifugación. 23

2.1.10 Envase 24

2.2 Características de la glucosa. 24

2.3 Resultados de la revisión tecnológica al proceso de obtención de glucosa. 25

2.4 Medidas propuestas para la intensificación del proceso de obtención de glucosa. 26

2.5 Procedimiento para la inversión de la sacarosa por vía enzimática en la obtención de glucosa a partir de azúcar refino a escala de laboratorio. 27

CAPÍTULO 3. Escalado del equipamiento para la etapa de hidrólisis en la producción de glucosa por vía enzimática a nivel de planta piloto. Análisis económico preliminar. 33

3.1 Diseño y escalado del reactor para la hidrólisis enzimática. 33

3.1.1 Diseño del reactor de hidrólisis enzimática. 33

3.2 Selección y escalado del agitador. 34

3.3 Análisis económico preliminar. 37

3.3.1 Costo de adquisición del equipamiento..... 37

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... **¡Error! Marcador no definido.**

Conclusiones..... 39

Recomendaciones..... 40

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 42

INTRODUCCIÓN

Una de las áreas donde ha tenido mayor impacto la biotecnología, no solo desde el punto de vista tecnológico sino económico y social, es la producción de edulcorantes. En la actualidad existen diferentes tipos de edulcorantes, algunos de estos se encuentran de forma natural en los alimentos, tal es el caso de la sacarosa. Este edulcorante se agrega a diferentes tipos de alimentos, bebidas y jarabes.

La sacarosa es el azúcar de mesa que se obtiene de la caña y de la remolacha y es el compuesto orgánico de mayor producción en forma pura.

La glucosa es una aldohexosa, fuente de energía en el metabolismo del ser humano y precursor metabólico de prácticamente todos los azúcares, incluyendo los amino azúcares. A pesar de tener solo el 80% de la fuerza edulcorante de la sacarosa, es utilizada ampliamente en la industria alimentaria y puede ser convertida en fructosa potenciando su capacidad edulcorante.

La fructosa tiene el doble poder edulcorante de la sacarosa, razón por la cual se prefiere en muchos procesos alimentarios que requieren un endulzado o para disminuir la cantidad utilizada de otros azúcares.

El jarabe de glucosa es un líquido altamente viscoso que se obtiene a partir de la hidrólisis ácida o enzimática, del almidón o la sacarosa; la hidrólisis enzimática ha desplazado industrialmente a la ácida y ha ganado ventaja en su aplicación.

En la UEB " Chiquitico Fabregat " existe una planta productora de glucosa y fructosa a partir de la inversión ácida de la sacarosa. La glucosa obtenida en dicha planta es empleada como materia prima en la obtención de sorbitol. Este proceso presenta dificultades en su tecnología, lo cual afecta el rendimiento y calidad de la glucosa obtenida. Investigaciones anteriores demuestran que la obtención de glucosa por vía

enzimática ofrece mayores ventajas que la glucosa obtenida por inversión ácida. La obtención por vía enzimática implica cambios en las etapas del proceso de disolución e inversión, lo cual conduce al siguiente problema científico.

Problema Científico:

No se dispone de una tecnología técnica y económicamente pertinente para la etapa de hidrólisis enzimática en la obtención de glucosa a partir de azúcar refino.

Hipótesis:

El diseño de una tecnología técnica y económicamente favorable para la etapa de hidrolisis enzimática permitirá mejorar los indicadores del proceso de producción de glucosa a partir de azúcar refino.

Objetivo General: Proponer una tecnología para la etapa de hidrólisis enzimática en la producción de glucosa a partir de azúcar refino.

Objetivos Específicos:

1. Efectuar revisión bibliográfica sobre el proceso de obtención de glucosa.
2. Identificar las diferentes tecnologías para la obtención de glucosa a partir de azúcar refino.
3. Establecer la tecnología para la hidrólisis enzimática en la producción de glucosa a partir de azúcar refino a escala piloto.
4. Evaluar técnico y económicamente la tecnología de la hidrólisis de la sacarosa por vía enzimática para la producción de glucosa.

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Generalidades.

El ser humano siempre ha sido atraído por el sabor dulce; quizás éste, fue uno de los métodos que empleó el hombre primitivo en la selección de alimento seguro. Probablemente el primer edulcorante utilizado fue la miel de abeja, al menos de este edulcorante se tiene referencias que datan de hace más de 20000 años: en pinturas rupestres de una cueva encontrada en Arana, España, se muestra a un hombre recogiendo miel de un panal. Los azúcares representan la forma más común y conocida de los edulcorantes, ampliamente distribuidos en la naturaleza se encuentran en frutas, vegetales, miel y leche (Duran, 2007).

La glucosa es el principal azúcar que integran carbohidratos más complejos conocidos como polisacáridos, entre los que se encuentran: la celulosa, el almidón, las pectinas, el glucógeno y las fructanas, entre otros. Estos polisacáridos pueden formar parte de la estructura firme del producto que lo contiene y no es digerible, o bien, pueden fungir como carbohidratos de reserva energética (García, López, & Quintero, 2000).

1.2 Edulcorante

Hoy en día, la sacarosa enfrenta fuertes presiones que atentan contra la preferencia que ha ostentado por casi 500 años de liderazgo en el mercado nacional y mundial de los edulcorantes, entre los factores que han contribuido a la disminución del consumo de la sacarosa se tienen los siguientes: cambios en los hábitos de alimentación, demanda de alimentos especiales para diabéticos, descubrimiento y síntesis química de edulcorantes no calóricos de alta intensidad, la funcionalidad, disponibilidad y precio de los edulcorantes competentes, finalmente el desarrollo de la biotecnología para la producción comercial de edulcorantes naturales como los jarabes de alta fructosa y la fructosa cristalina (Fleming, 1979) y (Fuchs, 1987).

Respecto a los edulcorantes sintéticos, hay estudios que demuestran que son nocivos para la salud. Los edulcorantes calóricos proporcionan el sabor dulce y el volumen al alimento al cual se le han añadido. Así mismo proporcionan frescura y contribuyen a la calidad del producto. Los edulcorantes calóricos actúan como conservantes en las mermeladas y gelatinas, y dan un sabor más intenso a las carnes procesadas. Proporcionan fermentación para los panes y salsas agridulces, aumentan el volumen de las cremas heladas y dan cuerpo a las bebidas carbonatadas. Algunos edulcorantes calóricos se fabrican al procesar los compuestos del azúcar y otros se producen de manera natural.

En algunos casos, los edulcorantes no calóricos se emplean en lugar de los calóricos. Ellos no proporcionan calorías, pero sí el sabor dulce. Todos los edulcorantes no calóricos son químicamente procesados.

La variedad de edulcorantes tiene incidencia diferente en enfermedades como la diabetes. Conviene siempre leer la composición de los edulcorantes que están en el mercado, ya que casi siempre suelen ser mezclas de varios productos, y así saber lo que estamos tomando.

Actualmente existen en el mercado varios productos que presentan diversas propiedades funcionales tales como el poder edulcorante y aporte calórico, siendo éstos los aspectos más relevantes que determinan su utilización en la elaboración de una gran variedad de alimentos, bebidas y productos farmacéuticos. El poder edulcorante de una sustancia se refiere a su capacidad de producir la sensación de dulzor al interactuar con las papilas gustativas y se mide tomando como base de comparación el dulzor de la sacarosa, a la que se le atribuye un valor relativo de 1 o de 100; es decir, si una sustancia presenta un poder edulcorante de 2, significa que dicha sustancia es dos veces más dulce que la sacarosa, en términos de la misma cantidad de masa (Tabla 1.1) (Badui, 1997)

El dulzor que presentan los edulcorantes se ve afectado por varios factores como: la temperatura, la concentración y la presencia de otros compuestos; por ejemplo, cuando los azúcares se disuelven en agua, se presentan reacciones de mutarrotación y se produce una mezcla de tautómeros con diferente dulzor, esto se observa en las soluciones de fructosa recién preparadas, las que son más dulces que las soluciones de fructosa que se dejan en reposo y alcanzan su equilibrio tautomérico. La temperatura afecta de manera inversa la capacidad endulzante de los carbohidratos, un ejemplo claro es, que se ha comprobado que la fructosa es más dulce a temperaturas bajas, propiedad

que se aprovecha en la elaboración de bebidas refrescantes; por otro lado también se ha establecido que jarabes de glucosa y de sacarosa al 40% presentan el mismo grado de dulzor. Dentro de otros factores que influencian el dulzor se encuentran: la viscosidad, la presencia de sales, ácidos y algunos polímeros; por ejemplo, el alcohol aumenta el poder edulcorante de la sacarosa, mientras que la carboximetilcelulosa y el almidón lo reducen, el maltol y el etil maltol intensifican la dulzura de muchos azúcares.

Tabla 1.1. Poder edulcorante relativo de algunas sustancias

Edulcorantes calóricos	Poder edulcorante relativo	Edulcorantes no Calóricos	Poder edulcorante relativo
Glucosa	0,74	Dulcina	200
Xilitol	1	Aspartame	200
Sacarosa	1	Sacarina	400
Azúcar invertido	1,15	Prillartina	2000
HFCS al 55%	1,05	Monelina	2500
Fructosa	1,73	Osladina	3000

Fuente: (Badui, 1997)

1.2.1 Clasificación de los edulcorantes.

Existen varias formas de clasificar los edulcorantes, (Badui, 1993) entre las que destacan las siguientes:

- De acuerdo a su origen se clasifican en edulcorantes naturales y sintéticos.
- En base a su aporte calórico se clasifican en edulcorantes calóricos y no calóricos.
- En base al requerimiento de insulina se clasifican en insulina dependiente e insulina independiente.
- En base a su poder edulcorante se clasifican en edulcorantes de alta intensidad y de baja intensidad.

1.2.2 Características de los principales edulcorantes.

- Sacarosa

La sacarosa es el disacárido más ampliamente distribuido en la naturaleza, está constituida por glucosa y fructosa unidas a través de un enlace glucosídico α (1,2); es el edulcorante de mayor demanda mundial y su consumo percápita anual excede los 40 kg en el mundo occidental. Se obtiene a partir de la caña de azúcar, de la remolacha azucarera, del sorgo azucarero y del arce de Canadá. El complejo azucarero incluye una serie de productos definidos según sus características fisicoquímicas y su grado de procesamiento; su hidrólisis ácida o enzimática produce lo que se conoce como azúcar invertido, que es una mezcla integrada por cantidades equimolares de sus dos monosacáridos constituyentes (glucosa y fructosa). (García et al., 2000)

El azúcar constituye uno de los productos alimenticios de mayor desarrollo a nivel mundial. La producción en el período 1999-2000 superó los 133 millones de toneladas, un 2% más que el periodo inmediatamente anterior.

Los principales productores son Brasil, la Unión Europea, India, Estados Unidos y China, concentrando cerca del 55% de la producción mundial, como se puede observar en la Tabla 1.2. (mailxmail.com.)

Tabla 1.2. Producción mundial de azúcar.

Principales Países Productores	Producción 1999 (millones.ton)
Brasil	19,70
Unión Europea	19,55
India	18,94
Estados Unidos	8,24
China	7,20

- Fructuosa

La D-fructosa o levulosa, es un isómero estructural de la glucosa, manosa y galactosa, todas ellas presentan la misma fórmula molecular ($C_6H_{12}O_6$) pero la fructosa posee

diferente grupo funcional, es una cetosa a diferencia de los otros tres azúcares que son aldosas; las cuatro son D-azúcares debido a que tienen la misma configuración que el D-gliceraldehído en el penúltimo átomo de carbono. La fructosa es el azúcar más dulce de los edulcorantes naturales, tiene 1,73 veces el poder edulcorante de la sacarosa, su máximo dulzor se obtiene a pH neutro o ligeramente ácido y bajas temperaturas; la forma furanosa es más dulce que la forma piranosa; presenta una alta solubilidad en agua y una baja tendencia a la cristalización; se encuentra principalmente en las frutas y en la miel. (Hicks, 2001; Lehninger, 2005)

Los jarabes con alto contenido de fructosa son de importante valor comercial y se han logrado obtener por hidrólisis enzimática del almidón de maíz principalmente; estos jarabes están constituidos por una mezcla del 42 al 90% de fructosa y el resto de glucosa. El método tradicional para su producción requiere por lo menos de tres enzimas; α-amilasa (EC 3.2.1.1), glucoamilasa (EC 3.2.1.3) y glucosa isomerasa (EC 5.3.1.18); así como, de varias etapas de separación, purificación, conversión, decoloración y concentración, de esta manera se obtienen jarabes con una concentración de fructosa superior al 42% (Beynum, 1987; Marcelli, 2000)

- Glucosa

La glucosa es un monosacárido, tiene la fórmula $C_6H_{12}O_6$ (masa molar 180,16 g/mol). Es una aldohexosa y su estructura recibe el nombre de D-glucopiranosa porque al ciclarse forma un anillo de seis átomos, uno de ellos de oxígeno, puede cristalizar en el agua tanto en la configuración α, como en la β y estas dos formas están en equilibrio en solución a temperaturas inferiores a 50 °C, siendo la α-D-glucopiranosa la forma más estable. La glucosa anhidra forma cristales romboides que tienen un punto de fusión de 146 °C, y una densidad de 1544 kg/m^3.El monohidrato, de la glucosa ($C_6H_{12}O_6.H_2O$), produce un cristal monocíclico esfenoidal, posee un extremo que se disuelve con mucha más rapidez que su forma anhidra. Funde a 83 °C. La glucosa es menos soluble en agua que la sacarosa; aún a 30 °C, una solución saturada que contiene sólo un 57.6%. Es soluble en metanol e insoluble en éter. Las moléculas de glucosa se condensan de diferentes maneras para formar almidón, dextrana y celulosa. (C. P. CHEN, 1996)

La glucosa o dextrosa, es el azúcar más importante en el metabolismo de las células vivas, su aporte calórico es de 4 kcal/g y constituye la principal forma a la que otros azúcares son transformados en el cuerpo, de aquí que sea el azúcar más abundante encontrado en la sangre; está presente en muchas frutas y es la unidad base de la

celulosa, el almidón y el glucógeno. Se obtiene principalmente por hidrólisis ácida o enzimática del almidón de maíz o de la sacarosa; su poder edulcorante es menor al de la sacarosa y cuenta con un amplio mercado en el área de alimentos, bebidas y productos farmacéuticos. (Scriban, 1985; Vandamme, 1983)

- Sorbitol

El sorbitol es un polialcohol o alcohol polihídrico de azúcar descubierto por el francés Boussingault en 1872 en las bayas de Sorbus aucuparia L. (comúnmente llamado serbal de cazadores). (Escobar, 1995)

Es un alcohol hexacíclico de fórmula global $C_6H_8(OH)_6$ que se obtiene principalmente a partir de la hidrogenación catalítica de la dextrosa, seguido de un proceso de purificación con resinas de intercambio iónico y finalmente una etapa de evaporación. También se forma por vía fermentativa como subproducto principal de la producción de etanol, favoreciéndose cuando el medio contiene una mezcla de glucosa y fructosa. (Herryman, 1999)

Se encuentra en forma natural en las algas rojas y las frutas y en cantidades mínimas en las uvas, por lo que se utiliza su ensayo para detectar la adulteración del vino. En forma anhidra, es un polvo blanco de masa molecular 182,17 kg/kmol; inodoro y cristalino, muy soluble en agua, ligeramente soluble en etanol y casi insoluble en solventes orgánicos comunes. Es inerte ante ácidos diluidos y álcalis a 97 °C. (MINAZ, 1989)

El sorbitol es uno de los tres glúcidos principales producidos por la fotosíntesis en las hojas adultas de ciertas plantas de las familias Rosaceae y Plantaginaceae. Se emplea como edulcorante en los alimentos dietéticos, se le califica como edulcorante nutritivo porque cada gramo contiene 2,4 calorías, mucho menos que las 4 de la sacarosa o el almidón. Es el edulcorante que contienen generalmente los chicles "sin azúcar". (Tsuneyuki, 2002)

1.2.3 Edulcorantes derivados del almidón

Son edulcorantes como la glucosa, dextrosa y jarabes de alta fructosa. Los jarabes de alta fructosa son los edulcorantes de maíz más importantes desde el punto de vista industrial y comercial ya que al ser líquidos, poseen una ventaja práctica respecto al azúcar. La glucosa es un jarabe cristalino y viscoso, obtenido por hidrólisis ácida o enzimática del almidón de maíz. Tiene un poder edulcorante del 60 % (base azúcar). Se la emplea en conjunto con la sacarosa en diversos productos como dulces, mermeladas, helados,

productos lácteos, panificación y galletería, dentro de las propiedades que la caracterizan es su capacidad anticristalizante y humectante.

La dextrosa se obtiene por despolimerización completa del almidón y posterior cristalización. Posee un poder edulcorante del 60 % y 70 % (base azúcar). La maltodextrina es un polímero de dextrosa obtenido a partir del almidón, por procesos enzimáticos de buena solubilidad y bajo poder edulcorante. Es un polvo blanco que se emplea principalmente en alimentos para bebes, bebidas cítricas en polvo y similares.

La elaboración mundial de edulcorantes de maíz promedia los 14 millones de toneladas, Estados Unidos produce el 80 % del total, seguido por Francia, Canadá y Alemania. En 1 999 el comercio internacional de glucosa superó los dos millones de toneladas por un valor de USD 650 millones; en cuanto a las importaciones la Unión Europea es el principal comprador. El comercio internacional de fructosa y jarabe de fructosa alcanzó las 435 mil toneladas para un valor de USD 155 millones. Estados Unidos participó con más del 60 % de las ventas.

1.2.4 Tendencias de consumo de los edulcorantes

Desde que surgieron los jarabes de maíz con alto contenido de fructosa (HFCS) y los edulcorantes de alta intensidad (aspartame y sacarina) el consumo de la sacarosa ha venido perdiendo terreno en el mercado. Los HFCS se empezaron a producir en 1 967 y para 1979 se habían colocado en segunda posición de la demanda total de los edulcorantes representando un 17%, esta participación para 1985 alcanzó el 31% y para el 2005 llegó al 37%, de esta forma ocuparon el primer sitio, en segundo y tercer lugar los edulcorantes de alta intensidad y la sacarosa, respectivamente. En ese mismo período también se observó un incremento considerable en el consumo de edulcorantes no calóricos de alta intensidad como el aspartame y la sacarina, lo que entre otras causas, obedece a una tendencia actual hacia la disminución del consumo de edulcorantes calóricos como la sacarosa, a requerimiento de dietas controladas principalmente de enfermos diabéticos, etc. (Fuchs, 1987; INEGI, 2004)

1.3 Producción de glucosa

Las principales materias primas empleadas en Cuba para la obtención de glucosa son el almidón de maíz y el azúcar refino. La producción a partir almidón de maíz se lleva a cabo en la planta de Cienfuegos en la cual el proceso se realiza por hidrólisis ácida y enzimática. Utilizando el azúcar refino como materia prima se produce glucosa por

hidrólisis ácida en la UEB "Chiquitico Fabregat" Villa Clara y en el UEB "Argentina" de Camagüey.

1.3.1 Características de las materias primas

El almidón es producido por la mayoría de las plantas como una forma para almacenar energía, es por esto que se puede encontrar en diversas fuentes siendo el maíz y el trigo las más utilizadas industrialmente debido a su abundancia. Sin embargo últimamente se han venido empleando diferentes fuentes como el arroz, la papa, el plátano y la yuca.

Algunas de las principales características de las materias primas más comunes en la obtención de glucosa se evidencian en la Tabla 1.3.

Tabla 1.3. Principales características de las materias primas.

Materia prima	Celulosa	Almidón	Grasa	Azucares	Agua	Proteína	Ceniza
Pulpa de banano	0,80	18,40	0,62	2,1	74,45	3,10	0,53
Pulpa de plátano	2,40	35,66	0,38	1,85	57,37	1,15	1,19
Pulpa de yuca	0,59	26,24	0,30	1,09	69,31	0,79	1,68
Pulpa de maíz	7,90	58,20	3,48	2,10	19,00	8,34	1,10
Pulpa de ñame	0,56	12,10	0,06	3,23	79,90	3,31	0,84
Pulpa de papa	0,05	24,00	0,35	0,12	74,42	0,062	0,44

Como se puede observar en la Tabla 1.3, la pulpa de maíz es la que posee la mayor cantidad de almidón siendo la materia prima más empleada a nivel mundial para la producción de glucosa.

El azúcar refino posee también características favorables que la convierte en una fuente interesante de materia prima para la producción de glucosa sobre todo en los países productores de la misma.

1.3.2 Obtención de glucosa a partir de almidón de maíz.

La hidrólisis de almidón para la producción de jarabes de maíz se puede llevar a cabo por tres métodos diferentes

1. La conversión ácida.

Cuando el almidón es hidrolizado con ácido como catalizador, ocurren rupturas en las uniones -C-O-C- con lo cual se lleva a cabo la producción de glucosa y de muchos de sus polímeros. Al continuar la hidrólisis hay un aumento en el número de los azúcares de masa molecular baja. Si el proceso continúa, varios de los polímeros son hidrolizados hasta llegar sólo a remanentes de glucosa.

La producción de los jarabes de maíz por conversión ácida se lleva a cabo en un tanque de presión denominado "conversor". El almidón es mezclado con agua hasta formar una suspensión, que contiene de un 30-40% de almidón seco. Se agrega el HCl y se eleva la temperatura hasta 140-160ºC. La calefacción continúa durante un intervalo de 15-20 minutos. La cocción o gelatinización del almidón convierte primero a los polisacáridos más grandes. Conforme el proceso avanza se van produciendo otros azúcares. La conversión se puede continuar hasta llegar al grado de conversión deseado.

En ese momento, se debe detener el calentamiento y la hidrólisis debe ser detenida rápidamente por la introducción de cantidades equivalentes de un agente neutralizante. El pH debe ajustarse a un intervalo de 4,0 a 5,5.

Después de la neutralización, el material suspendido se pasa a la etapa de centrifugación y filtración. El filtrado se evapora parcialmente hasta obtener aproximadamente 60% de sólidos y se hace pasar por filtros de carbón para clarificar y blanquear el producto. Finalmente, el jarabe de maíz se bombea a través de un filtro de poro muy fino. Después de la clarificación, el jarabe se concentra en los tanques hasta obtener la densidad final.

El desarrollo más reciente para la producción de jarabes por hidrólisis ácida es el uso de un sistema continuo. Este desarrollo ha hecho posible la producción de jarabes de maíz refinados con propiedades uniformes. El tiempo de proceso para este sistema es de aproximadamente 4 horas. Y, para el sistema de producción de jarabe por lotes, se requiere un tiempo de 14 a 16 horas. (Pancoast, 1973)

2. La conversión ácido-enzima.

La producción de jarabes de maíz por medio de una conversión ácido–enzima se lleva a cabo en dos etapas de hidrólisis. La primera etapa se lleva a cabo con el ácido como se ha descrito en el punto anterior. Esta etapa se puede realizar por un sistema por lotes o con el uso del sistema continuo. La magnitud de la conversión ácida va a estar determinada por la composición de carbohidratos de jarabe final.

La segunda etapa en este tipo de conversión se lleva a cabo por medio de enzimas que escinden el almidón.

Las enzimas que escinden al almidón, o amilasas son de tres tipos: Alfa-amilasa, Beta-amilasa y Gluco-amilasa. Las primeras dos son utilizadas para la producción de jarabes de maíz y la tercera para la producción de dextrosa a partir de almidón. (Pancoast, 1973)

3. La conversión enzima-enzima.

La producción de jarabes de maíz por conversión dual que usan dos enzimas en serie está bastante limitada. Esto puede ser debido al costo más elevado que el proceso ácido-enzima.

Se han descrito ventajas de la producción de jarabes de maíz por este método sobre el sistema convencional.

En el primer paso de la hidrólisis, se debe emplear una Alfa-amilasa termoestable debido a las temperaturas de gelatinización que se utilizan. La segunda etapa de la hidrólisis se lleva a cabo con una amilasa fúngica. (Pancoast, 1973)

1.3.3 Obtención de glucosa a partir de azúcar refino.

En la obtención de la glucosa a partir de azúcar refino la etapa fundamental del proceso lo constituye la inversión de la sacarosa, la cual se puede desarrollar por los siguientes métodos:

- Por acción de un ácido a temperatura elevada.

Este método de hidrólisis tiene como inconveniente el empleo de ácidos (tales como clorhídrico, fosfórico, cítrico) a elevada temperatura (85-90°C), lo que puede originar productos coloreados con presencia de cenizas y subproductos no deseados.(Albertini, 2012; Duarte, 1997)

- Por la enzima invertasa.

En este método la disolución de sacarosa se pone en contacto con la enzima invertasa, definida como enzima que hidroliza la sacarosa en glucosa y fructosa, su pH óptimo oscila de 4,5 a 5. La hidrólisis de la sacarosa catalizada por invertasa presenta un mecanismo comparable al de hidrólisis ácida, que se produce por el átomo de oxígeno glucosídico.

La elaboración de azúcar invertido a partir de sacarosa por vía enzimática aventaja a la hidrólisis ácida, por ser más fácil de controlar. Además, el jarabe resulta de mayor concentración, presenta mejores caracteres de color y sabor y no contiene indicios de productos secundarios como el furfural.

- Por intercambio iónico.

En este método se emplean resinas de intercambio iónico catiónicas fuertemente ácidas que contienen ácido sulfónico. El interior de este tipo de resina hinchada con agua, puede considerarse como una solución de ácido bastante concentrada. Estas resinas producirán reacciones catalizadas por ácidos tales como la inversión de la sacarosa. Esta propiedad puede utilizarse industrialmente como una alternativa de la catálisis mediante ácidos para invertir la sacarosa, evitando reacciones colaterales no deseables mediante el empleo de un catalizador de intercambio iónico.

Tanto en Villa Clara como en Camagüey para obtener glucosa a partir del azúcar refino se emplea la tecnología propuesta por el ICINAZ la cual se fundamenta en realizar la inversión ácida de la sacarosa operando en régimen discontinuo.

Las principales etapas de proceso de obtención de glucosa a partir del azúcar refino son: disolución, inversión, enfriamiento, primera cristalización, filtración, disolución, segunda cristalización, centrifugación, envase.

1.4 Enzimas.

En la actualidad la industria biotecnológica relacionada con el empleo de enzimas puede dividirse en dos grandes campos: el que se ocupa principalmente de la producción de grandes cantidades de enzimas con bajo costo y el de los biocatalizadores. El primero ocupa un mercado mundial de más de 1000 millones de dólares anuales y en estos casos la enzima es generalmente empleada en forma soluble por lo que el proceso de reacción que predomina es intermitente o por lote. Por otra parte, los biocatalizadores son enzimas procesadas para emplearse de manera racional, generalmente inmovilizadas para permitir

una mayor productividad y flexibilidad en la selección del sistema de operación (López-Munguía, 2004).

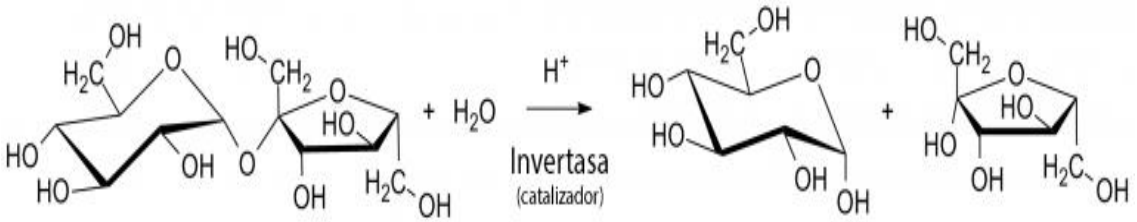
Las enzimas son sustancias macromoleculares de naturaleza proteica, constituidas por largas cadenas de α-L-aminoácidos unidos covalentemente entre sí, por medio de enlaces tipo amida denominados enlaces peptídicos (F. & P, 1999).Estas cadenas polipeptídicas no son polímeros al azar de longitud indefinida. Cada cadena posee una composición química específica, una masa molar y una secuencia ordenada de aminoácidos estructurales; con una forma tridimensional característica, necesaria para su función biológica específica o para su actividad (Lehninger, Nelson, & Cox, 2006)

Además son capaces de incrementar la velocidad de las reacciones químicas que por su naturaleza nunca se verificarían en las condiciones existentes en el medio celular. Poseen características en cuya magnitud superan considerablemente a las de cualquier otro catalizador preparado por el hombre. Entre estas se pueden señalar su eficiencia catalítica, su especificidad,el rendimiento de la transformación, la regulación y la versatilidad. Se pueden considerar como proteínas capaces de catalizar con extraordinaria eficiencia y especificidad todo el amplio espectro de reacciones químicas que constituyen la base dinámica de la vida (Chávez, Díaz, Perez, & Delfín, 1990)

En la actualidad se han identificado más de 3000 enzimas diferentes, de modo que la tecnología enzimática está en plena expansión, y es de esperar que en años venideros su implantación sea aún más importante de lo que es hoy. Las enzimas son ampliamente utilizadas como catalizadores en numerosos procesos industriales (Tran & Balkus, 2011); (Vega-Paulino & Zúniga-Hansen, 2012), en el análisis químico y clínico; (Moehlenbrock, 2011), en el procesamiento de alimentos (Fernández, 2010);(Rai & Perry, 2012) en la agricultura (Bagal-Kestwal, Kestwal, Chiang, & Karve, 2011); (Salihu, Alama, Karim, & Salleh, 2012) y en la biotecnología (S. & Demain, 2011). Otra aplicación importante de estas biomoléculas lo constituye su uso como fármacos para la enzimoterapia de numerosas enfermedades (Horovitz, Magalhães, & Acosta, 2013) .Sin embargo, la utilización de las enzimas como catalizadores en procesos industriales, a gran escala, se ha visto limitada por los altos costos de producción y su baja estabilidad al almacenaje. Durante su uso, la estabilidad de las mismas decrece debido a cambios en el pH, temperatura, cambios conformacionales, como resultado de la fricción, la presión osmótica impuesta por el ambiente que la rodea y el efecto acumulativo de todos estos

factores como función del tiempo de duración de utilización de las mismas. (Kotwal & Shankar, 2009).

La industria del azúcar es hoy el consumidor más grande de enzimas industriales. En particular son usadas para la producción de glucosa y azúcar invertido de sacarosa, así como para la isomerización de glucosa a fructosa. La sacarosa es hidrolizada a fructosa y glucosa por una enzima, que se conoce con el nombre de invertasa. La reacción química asociada a este proceso se modela según se muestra a continuación.



Los azucares o siropes invertidos son edulcorantes de color pálido elaborados por hidrólisis ácida o enzimática de una disolución de azúcar refino. Los azucares invertidos contienen igual proporción de glucosa y fructosa, siendo la fructosa más dulce que la sacarosa (MV & LK, 1984)

1.4.1 Invertasa o Sacarosa

La enzima invertasa provoca la inversión de la sacarosa; la hidrólisis de sacarosa para producir fructuosa y glucosa, aumentando la solubilidad de la solución y obteniéndose un sabor más dulce. El nombre oficial para el invertasa es el β-fructofuranosidasa, la invertasa se utiliza principalmente en la industria del alimento (confitería) donde la fructosa se prefiere sobre la sacarosa porque es más dulce y no se cristaliza fácilmente. Sin embargo, el uso del invertasa es algo limitado porque otra enzima, isomerasa de la glucosa, se puede utilizar para convertir la glucosa a fructosa más económicamente. Por razones de la salud y del gusto, su uso en el sector alimenticio requiere que la invertasa esté purificada altamente. Una amplia gama de microorganismos produce la invertasa y puede, así, utilizar la sacarosa como alimento. Comercialmente, la invertasa es biosintetizada principalmente por las tensiones de la levadura del *Saccharomyces cerevisiae o del Saccharomyces carlsbergensis*. Incluso dentro de la misma cultura de la levadura, la invertasa existe en más de una forma. En contrario a la mayoría de las otras enzimas, la invertasa exhibe actividad relativamente alta sobre una amplia gama de pH

(3,5 - 5,5), con el pH = 4.5 cercano al óptimo. La actividad enzimática alcanza un máximo en alrededor 55ºC.

La enzima invertasa empleada en su forma nativa (sumergida) presenta como inconvenientes: ser soluble, difícultad para su reutilización, generalmente muy inestables ante condiciones desnaturalizantes y sufren inhibiciones por substratos y productos (Chitunda, 2002; Datta, Christena, Rani, & Rajaram, 2012). Una de las estrategias en las que se ha venido trabajando para dar solución a estas inconvenientes es la inmovilización de enzimas en un soporte, permitiendo la reutilización de las mismas, y su incorporación a procesos industriales económicamente rentables (Chávez et al., 1990). La inmovilización es, generalmente, un requisito para la utilización de la enzimacomo biocatalizador industrial y una solución al problema de la solubilidad de estos biocatalizadores (Mateo, Palomo, Lorente, Guisan, & Fernández-Lafuente, 2007).

1.5 Inmovilización de enzimas

La inmovilización de enzimas es un proceso en el que se confina o localiza la enzima en una región definida del espacio, para dar lugar a formas insolubles que retienen su actividad catalítica y que pueden ser reutilizadas repetidamente. Posteriormente esta definición se ha ampliado a aquel proceso por el cual se restringen, completa o parcialmente, los grados de libertad de movimiento de enzimas, orgánulos, células, etc. por su unión a un soporte. (M, 1998).

La misma ofrece ventajas técnico-económicas, tales como la reducción de costos de la biocatálisis debido a su posible reuso, fácil separación de las mezclas de reacción y la posibilidad de emplear una alta actividad enzimática por volumen del reactor, comparada con preparaciones de enzimas solubles.

Además permite el procesamiento de grandes cantidades de sustrato que se separa fácilmente de la mezcla sustrato-producto, lo que permite que la enzima pueda ser reutilizada. En general, da mayor estabilidad a la enzima, por lo que se puede utilizar para procesos continuos, permite mayor control del proceso catalítico y la utilización económica de la enzima (Kotwal & Shankar, 2009). La misma ofrece ventajas técnico-económicas, tales como la reducción de costos de la biocatálisis debido a su posible reuso, fácil separación de las mezclas de reacción y la posibilidad de emplear una alta actividad enzimática por volumen del reactor, comparada con preparaciones de enzimas solubles.

1.5.1 Ventajas de la inmovilización de enzima.

- Utilización continúa del biocatalizador. Las enzimas inmovilizadas se quedan fácilmente retenidas en el interior del reactor, mientras se mantiene un flujo de entrada y salida del líquido. Esto permite operar elevadas cantidades en reactores continuos, por encima del límite de lavado observado con enzimas libres. En el caso de procesos en discontinuo, la inmovilización permite la reutilización del biocatalizador.
- Constituyen un dispositivo estable y reutilizable con fines médicos y analíticos.
- Se pueden emplear como absorbentes selectivos para la purificación de proteínas y otras enzimas.
- Resulta una herramienta fundamental para la química de proteínas de fase sólida.
- Constituyen microdispositivos efectivos para la liberación controlada de drogas proteicas (Betancor & Luckarift, 2008 ; Cao, 2005).

1.5.2 Desventajas de la inmovilización de enzima.

- La actividad enzimática puede ser afectada tanto por las condiciones en que se lleve a cabo la inmovilización como por el entorno de las enzimas.
- La alteración de la conformación de la enzima respecto a su estado nativo.
- La gran heterogeneidad del sistema enzima-soporte.
- La pérdida parcial de actividad durante la inmovilización.
- El biocatalizador es más caro que la enzima nativa (Bayramoglu, Akgöl, Bulut, Denizli, & Arıca, 2003 ; M, 1998).

1.5.3 Métodos de inmovilización de enzima.

El desarrollo de métodos para la inmovilización de enzimas se ha incrementado en el transcurso de las últimas décadas. Los mismos han sido clasificados de diferentes formas, una de las más utilizadas se basa en combinar la naturaleza de la interacción responsable de la inmovilización con la del soporte (Kennedy & Cabral, 1983). La Figura 1.1 resume las formas fundamentales de enzimas inmovilizadas agrupadas en tres categorías. La unión a soportes ha sido el método de inmovilización más ampliamente conocido y aplicado, el cual consiste en la unión de la enzima a un portador insoluble en agua. En este caso la elección del soporte y del tipo de enlace resulta determinante en el comportamiento posterior del biocatalizador. El proceso de inmovilización debe

incrementar la afinidad de la enzima por el sustrato, disminuir la inhibición, ampliar el intervalo de pH óptimo y reducir las posibles contaminaciones microbianas. El portador debe presentar una resistencia mecánica adecuada a las condiciones de operación del reactor y ser fácilmente separable del medio líquido para que pueda ser reutilizado. Con este fin se han utilizado una gran variedad de materiales como soportes para la inmovilización, los cuales han sido agrupados en: inorgánicos y orgánicos (Ye, Xu, Che, Wub, & Seta, 2005). Entre los soportes orgánicos se encuentran los polímeros naturales y sintéticos. Dentro de los polímeros naturales los polisacáridos han sido los más utilizados por presentar muchos de ellos características como alta solubilidad en agua, baja toxicidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad (Rebros, Rosenberg, Mlichova, & Kristofıkova, 2007; Sankalia, Mashru, Sankalia, & Sutariya, 2007).

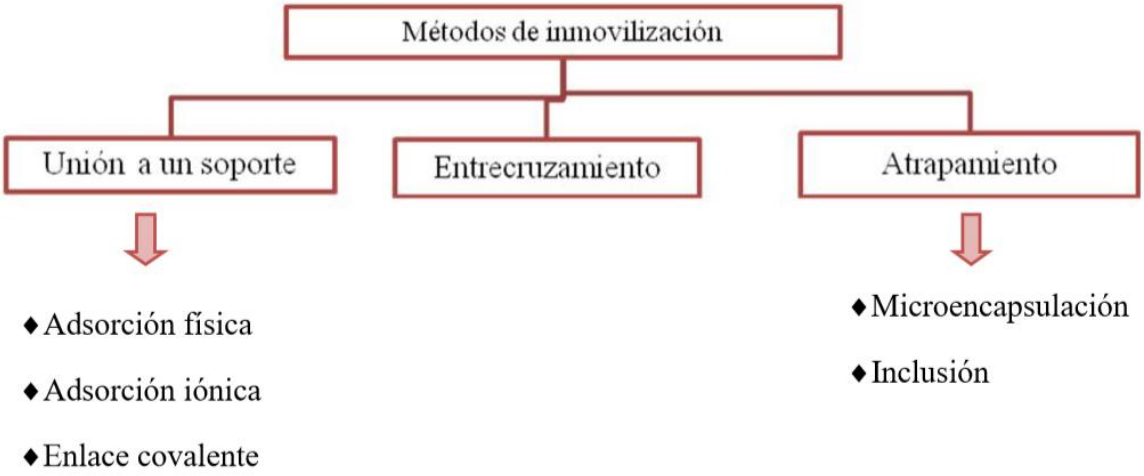


Figura 1.1 Clasificación de los métodos de inmovilización de enzimas.

Las enzimas pueden ser unidas a los soportes mediante adsorción física o iónica o por unión covalente. Tanto en la unión física como en la iónica predominan interacciones del tipo electrostáticas, hidrofóbicas y fuerzas de Van der Waals. La diferencia fundamental entre ambosmétodos reside en la fortaleza de la interacción. La adsorción iónica se basa en interacciones electrostáticas entre la enzima y los soportes sólidos, a los que se les ha introducido grupos intercambiadores de iones. Estas interacciones son más fuertes que las que se producen durante la inmovilización por adsorción física. Este método de inmovilización presenta entre sus principales ventajas su sencilla preparación, bajo costo, no aparición de cambios en la especificidad de la enzima y los derivados preparados son estables en medios de trabajo con bajo contenido de agua (Tran & Balkus, 2011 ; Wang & Hsieh, 2008

)La principal desventaja de estos métodos es la baja estabilidad de los preparados enzimáticos que se obtienen (Kharrat et al., 2011). Las causas están relacionadas con la poca fortaleza de las interacciones que unen a la enzima y el soporte, lo que trae como consecuencia la desorción de la misma durante su utilización. Esto se puede producir fácilmente cuando se cambian algunas condiciones como el pH, la fuerza iónica, la naturaleza del solvente, entre otros. Todo ello trae consigo una limitación en la aplicación práctica real de los mismos (Labus, Gancarz, & Bryjak, 2012).

La inmovilización por unión covalente se basa en la formación de enlaces covalentes entre los grupos químicamente reactivos de las proteínas y los del soporte. Las interacciones que aquí se establecen son más fuertes que las formadas en adsorciones de otro tipo (Girelli & Mattei, 2005).

Este método presenta como sus principales ventajas una manipulación sencilla de los derivados inmovilizados y la posibilidad de utilizar los derivados en reactores operados en modo continuo, empaquetados, de lecho fluidizado o tipo tanque agitado. Sin embargo, este método en muchas ocasiones resulta caro y difícil de llevar a cabo pues los aminoácidos del centro activo pueden verse también implicados. Es necesario señalar además la necesidad de conocer la densidad de grupos activos por unidad de superficie (Nagar, Mittal, Kumar, Kumar, & Gupta, 2012; Sassolas, Blum, & Leca, 2012).

El segundo método se basa en la formación de entrecruzamientos intermoleculares entre lasmoléculas de enzimas por medios de agentes bi o multifuncionales como el glutaraldehído. Un procedimiento mixto de inmovilización muy común consiste en inmovilizar la enzima por adsorción sobre una resina de intercambio iónico o un soporte polimérico y posteriormente añadir el reactivo bifuncional. Su principal ventaja reside en la formación de enlaces intermoleculares irreversibles capaces de resistir condiciones extremas de pH y temperatura (M, 1998)

El tercer método, atrapamiento, se basa en la localización de la enzima dentro de la red tridimensional de un polímero o en membranas semipermeables, de manera que las moléculas de enzima no puedan liberarse pero permitan la difusión libre de sustratos y productos a través de la barrera. Este método puede ocasionar pérdida de actividad de la enzima si se emplean condiciones severas durante la polimerización. La desventaja fundamental de este tipo de inmovilización es que se acentúan las limitaciones difusionales de sustratos y producto (Lin, Wu, & Brennan, 2007).

CAPÍTULO 2. ESTUDIO DE LA INVERSIÓN DE LA SACAROSA A PARTIR DE AZÚCAR REFINO

En Cuba para la producción de glucosa a partir de azúcar refino se emplea la tecnología propuesta por el ICINAZ la cual se fundamenta en realizar la inversión ácida de la sacarosa operando en régimen discontinuo. En el país existen dos plantas de este tipo la UEB"Chiquitico Fabregat "de la provincia de Villa Clara y la UEB "Argentina" de la provincia de Camagüey.

La glucosa producida en la planta ubicada en la UEB "Chiquitico Fabregat" se envía a Camagüey como materia prima para la fábrica de sorbitol, el mismo tiene como destino final su empleo como aditivo en las producciones que desarrolla la corporación Suchel S.A.

El proceso actual de producción de glucosa emplea la inversión ácida de la sacarosa, provocando que en determinados momentos el sorbitol recibido por Suchel tenga valores de pH en el orden de 3,5 unidades siendo la norma establecida por dicha entidad de 5-7.

2.1 Descripción del Proceso de obtención de glucosa por vía ácida.

2.1.1 Características de la materia prima

El azúcar refino es la materia prima del proceso la cual debe cumplir las siguientes especificaciones de calidad que se muestran en la Tabla 2.1:

Tabla 2.1 Especificaciones de calidad del azúcar refino.

Parámetro	Valor
Pol (Mínimo), (%)	99,65
Color (Máximo)(UCH)	2,70
Azucares Reductores (Máximo)(%)	0,10
Humedad (Máximo)(%)	0,10

Cenizas (Máximo)(%)	0,10

2.1.2 Etapa de disolución del azúcar refino.

En un tanque cilíndrico horizontal de 28 m^3 de volumen con tapas semiesféricas se adicionan 22,5 t de refino (para cada hidrólisis) y agua a 50ºC; se alimenta aire a presión de un compresor con potencia de 22 kW durante 1,5 horas que demora la disolución. Se emplean 3 agitadores de hélice con motores de potencia: uno de 5 kW y dos de 13 kW para obtener una disolución que debe tener de 77-78ºBrix y temperatura de 87 a 90ºC, la cual se logra alimentando vapor directo de la caldera con regulación manual de la temperatura.

2.1.3 Etapa de inversión de la sacarosa.

Este proceso ocurre en el mismo tanque disolutor para ello se adicionan 600 mL de ácido fosfórico al 85% por cada tonelada de refino disuelta, se mantiene la disolución en agitación durante 3 horas, tiempo necesario para que ocurra la inversión. Esto se comprueba en el laboratorio midiendo la lectura sacarimétrica la cual debe ser menor de -6ºS para considerar buena la inversión, la disolución así obtenida en esta etapa debe tener un pH aproximado de 3. Se realizan 4 hidrólisis por semana, 15 al mes. El número de hidrólisis dependerá del número de cristalizaciones disponibles.

2.1.4 Etapa de enfriamiento.

La disolución de azúcar invertida es bombeada con una bomba centrífuga de 13kW de potencia que demora media hora a un cristalizador que tiene un sistema de alimentación de aire por su parte inferior, además de un sistema de agitación mecánica para ser enfriada hasta temperaturas inferiores a 43ºC, este proceso puede demorar hasta dos días en dependencia de las condiciones climatológicas.

2.1.5 Primera cristalización.

La disolución de azúcar invertida pasa al primer cristalizador empleando una bomba centrífuga de 22 kW de potencia durante 40 min. Este cristalizador tiene agitación mecánica y enfriamiento por aire ambiental, el objetivo de esta etapa es lograr la cristalización de la mayor cantidad de glucosa presente. En este cristalizador existe un pie de semilla de glucosa y además se alimenta el jarabe de glucosa que retorna de la centrífuga. La masa se considera agotada, cuando al determinar el rendimiento en cristales se obtengan valores de 22-23%, esta operación puede consumir hasta 21 días.

2.1.6 Filtración

La masa de la primera cristalización pasa a un tanque receptor, de aquí utilizando una bomba de 11 kW de potencia pasa al filtro prensa el cual trabaja durante un ciclo de 40 minutos donde se separa la glucosa cristalizada (80-82ºBx) del sirope de fructuosa.

El sirope de fructosa obtenido sale a 75ºBx, 55 de pureza y es enviado a un tanque de almacenamiento para ser sometido a un proceso de refinación. Este proceso consiste en pasar el sirope a un tanque agitado donde se calienta y se le adiciona carbón activado con el objetivo de remover color, posteriormente se pasa por un filtro prensa y se obtiene el sirope refinado.

Una parte de este sirope se utiliza para la producción de vinagre y el resto es saborizado y se vende para la elaboración de refrescos, con estas ventas se incrementa el valor agregado de la producción de la planta.

2.1.7 Etapa de disolución de la masa glucosa.

La glucosa que sale del filtro pasa por un sinfín movido por un motor de 5,5 kW y se descarga en un tanque de 2m^3 de capacidad que tiene un agitador movido por un motor de 11kW y alimentando vapor directo se funde la glucosa hasta obtener una disolución de 74-76ºBx y temperatura de 80ºC, la misma se bombea al enfriamiento empleando bomba de 13 kW y demora 15 min. El filtro descarga 2 veces para preparar un tanque de glucosa fundida. El enfriamiento se realiza con aire ambiental hasta alcanzar temperaturas inferiores a 43ºC.

2.1.8 Segunda cristalización.

La glucosa fría pasa a la segunda cristalización por medio de una bomba de 22 kW que demora 30 min, este cristalizador contiene un pie de semilla al cual se le alimenta el licor de glucosa, el mismo tiene agitación mecánica y enfriamiento por aire ambiental. Cuando la masa esté agotada debe lograrse un rendimiento en cristales de 26 a 27 %, esto debe ocurrir en un período de tiempo de 10-12 días, de no lograrse ese rendimiento se adiciona glucosa sólida al cristalizador. La masa obtenida pasa por gravedad al mezclador de la centrífuga.

2.1.9 Centrifugación.

Se realiza en centrífugas discontinuas que tienen un ciclo de 20 min en dependencia de la calidad de la masa a centrifugar donde se separa la glucosa cristalina con 7-8% de

humedad y 89-90% de pureza del sirope de glucosa (63-65ºBx) el cual retorna a la primera cristalización. Este proceso se realiza durante 8-9 h diaria y se obtienen 2,22 t de glucosa.

2.1.10 Envase

La glucosa cristalina que contiene 7-8 % de humedad se envasa en sacos de papel multicapa de 34 kg.

2.2 Características de la glucosa.

La glucosa es el producto final del proceso la cual debe cumplir con las especificaciones que se muestran en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2 Especificaciones de calidad de la glucosa.

Parámetro	Valor
Glucosa monohidratada (Mínimo)(%)	86,0
Fructosa (Máximo)(%)	14,0
Color (Máximo)(UCH)	2,9
Cenizas (%)	0,15
Insolubles (%)	0,25
Humedad (%)	7-8
Sabor	Dulce
Olor	Inodoro
Textura	Polvo granulado

(Fuente: Elaboración propia)

En la Figura 2.1 se muestra el diagrama del bloque del proceso de obtención de glucosa por hidrólisis ácida en la UEB “Chiquitico Fabregat”.

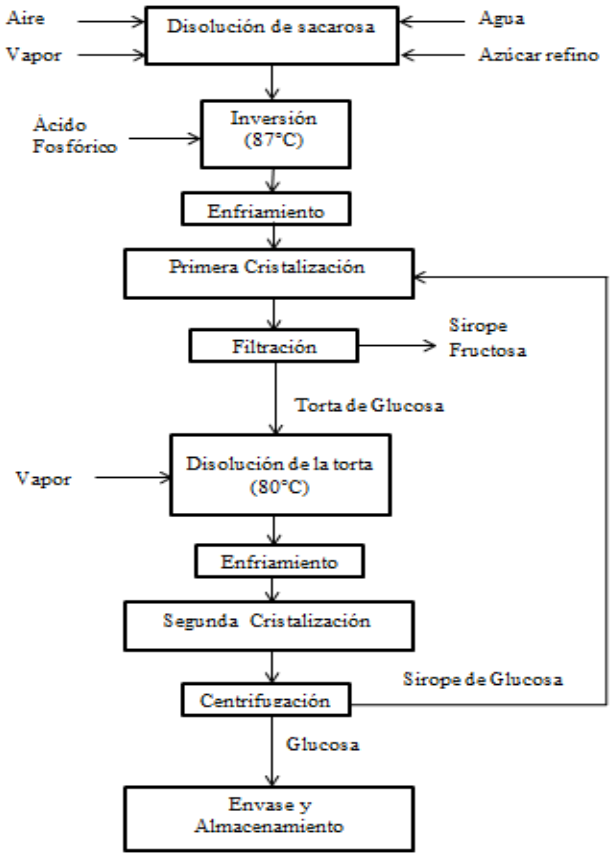


Figura 2.1 Diagrama del bloque del proceso de obtención de glucosa por hidrólisis ácida.

2.3 Resultados de la revisión tecnológica al proceso de obtención de glucosa.

En el proceso actual de producción de glucosa en la UEB “Chiquitico Fabregat”, se detectan dificultades que afectan la calidad y el rendimiento de la glucosa obtenida, las mismas se enuncian a continuación:

- Alto índice de insumo de azúcar refino, la planta según diseño consume 6 t refino/t glucosa y además genera 6 t de jarabe de fructosa.
- El refino insumido no siempre cumple los parámetros de calidad establecidos lo que influye en el rendimiento de la inversión. No se controla el contenido de polisacáridos que tiene el crudo que insume la refinería ni el que llega con el refino a la planta de glucosa, siendo este un factor importante que incide en la velocidad de cristalización de la glucosa y por tanto en el rendimiento en cristales del proceso.
- El tanque donde se realiza la disolución e hidrólisis de la sacarosa se encuentra en posición horizontal esto origina zonas muertas que afectan la disolución de la sacarosa y el proceso de inversión.

- En los filtros hay problemas mecánicos en el ajuste placa- marco, esto provoca que la glucosa cristalina que se obtiene se contamine con jarabe de fructosa.
- El rendimiento en cristales que se obtiene en la primera y segunda etapa de cristalización depende del grado de enfriamiento alcanzado, este enfriamiento se logra por circulación de aire ambiental ya que los cristalizadores carecen de un sistema de enfriamiento forzado.
- El sirope de fructosa obtenido en la etapa de filtración, así como el sirope de glucosa obtenido en la centrifugación, presentan un elevado por ciento de glucosa disuelta, debido al bajo rendimiento en cristales que se logra en las etapas de cristalización.
- Según la tecnología propuesta por el ICINAZ el sirope de glucosa que sale de la centrífuga (63 – 65ºBx), se debe concentrar en un evaporador a vacío hasta 80ºBx, en la práctica esto no se realiza , se plantea que el alto consumo de vapor para llevar a cabo ese proceso no justifica la mejora que se puede obtener en la cristalización, lo que se hace es tomar ese sirope y emplearlo para lubricar la masa que está a punto de salir de cada cristalización, con esto se logra mejorar la capacidad de purga de las mismas lo cual incide directamente en el rendimiento de la cristalización.

2.4 Medidas propuestas para la intensificación del proceso de obtención de glucosa.

Tomando en cuenta las dificultades detectadas en el proceso de producción de glucosa, referidos en el Epígrafe 2.3, se proponen las siguientes medidas para intensificar el proceso objeto de estudio:

- Colocarle al tanque de enfriamiento de licor de azúcar invertido un sistema de paletas móviles para intensificar la transferencia de calor disminuyendo así el tiempo de enfriamiento.
- Tapar los cristalizadores de primera y segunda cristalización; colocarles toberas para la alimentación de aire y sacar el aire caliente con un extractor para intensificar el proceso de enfriamiento, lográndose mayor velocidad de cristalización de la glucosa.
- Insumir azúcar refino que cumpla con la (NC: 377-2006), puesto que la calidad de esta materia prima influye directamente en el rendimiento de la glucosa.
- Mejorar las condiciones mecánicas de los filtros para evitar derrame de sirope de fructosa que se mezcla con la glucosa obtenida.

2.5 Procedimiento para la inversión de la sacarosa por vía enzimática en la obtención de glucosa a partir de azúcar refino a escala de laboratorio.

Para llevar a cabo el estudio experimental del proceso de obtención de glucosa por vía enzimática a partir del azúcar refino se propone el empleo de la enzima invertasa sumergida, la misma es producida por el ICIDCA en sus dependencias de CUBA 10 empleando un medio de cultivo de bajo costo, de producción nacional. Dicha enzima presenta las siguientes características:

- Actividad 100 U/mL
- Termo estable
- Alto nivel de conversión

En la investigación se partió de un diseño experimental de Plackett-Burman 2^{k-p} ,las variables seleccionadas y sus niveles se reportan en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3 Valores de los niveles de las variables seleccionadas en el diseño experimental.

Factores	Unidad	Nivel Bajo	Nivel Alto
X_1 (Conc. Sacarosa)	(%)	25	30
X_2 (Conc. Enzima)	(mL/100g refino)	5	10
X_3 (pH)	U	4,2	4,6
X_5 (Temperatura)	(^{0}C)	45	70
X_6 (Tiempo)	(h)	2	4

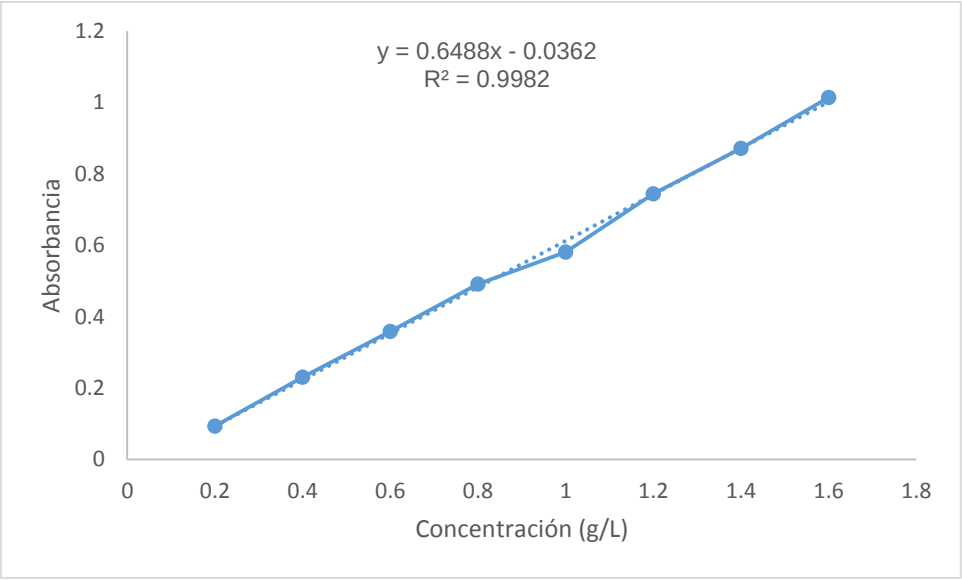
Como respuesta se tomó la concentración de reductores totales (Y) expresada en (g/L), para conocer su valor se empleó el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), para aplicar el mismo es necesario confeccionar una curva de calibración, para ello se procedió de la siguiente forma:

a) Se prepararon 50 mL de una disolución patrón de glucosa de concentración 2 g/L.
b) A partir de la disolución anterior se efectuaron diluciones y se obtuvieron los datos que se reportan en la Tabla 2.4.
c) Determinar a 540 nm la absorbancia de las disoluciones que se reportan en la Tabla 2.4
d) Trazar la curva de calibración y obtener la Ecuación a la cual se ajusta dicha curva.

Tabla 2.4 Diluciones para la curva patrón de glucosa.

Muestra	Concentración glucosa en la muestra (g/L)	Volumen disolución patrón glucosa (Rebros et al.)	Volumen agua destilada (Rebros et al.)	Absorbancia
1	0,2	0,2	1,8	0,093
2	0,4	0,4	1,6	0,230
3	0,6	0,6	1,4	0,358
4	0,8	0,8	1,2	0,491
5	1,0	1,0	1,0	0,581
6	1,2	1,2	0,8	0,744
7	1,4	1,4	0,6	0,871
8	1,6	1,6	0,4	1,014
9	1,8	1,8	0,2	1,101
10	2,0	2,0	0,0	1,208

La curva de calibración obtenida responde al siguiente modelo:



En el trabajo a escala de laboratorio se empleó como reactor un vaso de precipitado de 900 mL, en el mismo se adicionan 800 g de disolución de azúcar refino a la concentración indicada, se ajusta el pH inicial de cada una con ácido fosfórico diluido de concentración 0,5 M empleando un pH-metro HANNA-213 y se le adiciona el volumen requerido de la

enzima invertasa. Posteriormente se calienta cada disolución hasta la temperatura planificada manteniendo una agitación constante de 600rpm, usando una hornilla (Modelo IKA-RCTBS1) la cual presenta sensor de temperatura y agitación magnética. Transcurrido el tiempo de reacción se toma una muestra de la disolución resultante y se le determina el contenido de reductores totales aplicando el método del (DNS) para el cual se mide la absorbancia de la disolución con el fotocolorímetro Genesys 20 y se calcula la concentración de reductores aplicando la Ecuación a la cual se ajusta la curva de calibración.

Los resultados de la matriz del diseño experimental se reportan en la Tabla 2.5, en la misma se consideran dos falsas variables (X_4 y X_7),las cuales serán empleadas en el análisis de la significación de las variables en el modelo obtenido.

Tabla 2.5. Resultados experimentales del diseño de Plackett-Burman.

Exp	X_1	X_2	X_3	X_4(X_{f1})	X_5	X_6	X_7(X_{f2})	Y_1 (g/L)
1	+	+	+	-	+	-	-	590,0
2	+	+	-	+	-	-	+	644,33
3	+	-	+	-	-		+	117,44
4	-	+	-	-	+	+	+	525,35
5	+	-	-	+	+	+	-	529,96
6	-	-	+	+	+	+	+	229,96
7	-	+	+	+	-	-	-	309,81
8	-	-	-	-	-	-	-	164,77

Con los resultados experimentales obtenidos en el diseño se procedió a obtener los coeficientes del modelo:

$$Y = E_0 + E_1 X_1 + E_2 X_2 + E_3 X_3 + E_4 X_4 + E_5 X_5 + E_6 X_6 + E_7 X_7$$

Dónde:

$$E_0 = \frac{\sum Yi}{8} \qquad (2.1)$$

$$E_i = \frac{\sum XiYi}{8} \quad (i=1.....7) \qquad (2.2)$$

Los valores obtenidos para cada uno de los coeficientes del modelo fueron:

E_0= 370,260 ; E_1= 162,860 ; E_2= 256,990 ; E_3= - 154,540 ; E_5= 159,830;

E_6= - 36,520 ; E_{f1}= - 79,025 ; E_{f2}= - 19,215

Para conocer las variables significativas en el rango de estudio experimental para el modelo obtenido se procedió a:

a) Calcular el efecto de la falsas variables (Sbj):

$$Sbj = \pm\sqrt{\sum \frac{(CoeficFalsasVariab)^2}{2}} \quad (2.3)$$

$$Sbj = \pm\sqrt{\sum \frac{(-79{,}025)^2 + (-19{,}215)^2}{2}}$$

$Sbj = \pm$ 57,20

b) La variación de las falsas variables (Δbj) será:

Δbj= $\pm$ Sbj*t (p;ϑ) (2.4)

Se trabajó para probabilidades de 80; 90 y 95% con dos grados de libertad.

Para t (95;2) = 2,92 Δbj = $\pm$ 167,08

t (90;2) = 1,886 Δbj = $\pm$ 107,379

t (80;2) = 1,326 Δbj = $\pm$ 79,695

Al comparar los coeficientes del modelo con Δbj para 80% de probabilidad se obtiene que las variables X_4 (falsa variables), X_6 (tiempo) y X_7 (falsa variable) no son significativa dado que sus coeficientes son menores que el módulo de Δbj. Del diseño experimental se tomó como referencia el experimento 2,el cual reportó los mejores resultados en el nivel de reductores totales y a partir de él se trazó un plan de mejoras para optimizar las variables del proceso, para ello se aplicó el proceso de paso ascendente variando los factores:

X_1 (concentración de sacarosa) = paso positivo

X_2 (concentración de enzima) = paso positivo

X_5 (temperatura) = paso positivo

X_3 (pH) = se mantiene constante en 4,6

El tiempo se mantuvo en el valor medio de 3h.

Los resultados obtenidos en el proceso de optimización se reportan en la Tabla 2.6

Tabla 2.6 Resultados experimentales del proceso de optimización.

No.	X_1	X_2	X_3	X_5	$\bar{Y}_1$
1*	38,1	12,7	4,6	70	770,62
2*	39,93	13,31	4,6	74	860,25
3*	41,92	13,93	4,6	78	912,76
4*	43,92	14,64	4,6	78	1042,10
5*	60	14,64	4,6	82	1062,27
6*	70	14,64	4,6	86	1102,34

De los resultados obtenidos en la Tabla 2.6 se puede apreciar que a medida que aumenta la concentración de sacarosa y la temperatura, se incrementa el nivel de reductores totales. Los mejores niveles de reductores totales (1102,34 g/L) se obtienen en el Experimento 6* para una concentración de sacarosa (X_1)= 70%, concentración de enzima (X_2)= 14,64 mL/100gde refino, pH(X_3)=4,6, temperatura(X_5)= 86^{0}C y tiempo de reacción 3h, trabajando con azúcar refino C. El estudio realizado a partir de las condiciones experimentales analizadas, permite identificar los parámetros óptimos para la etapa de inversión de la sacarosa por vía enzimática.

Se realizaron dos ensayos adicionales teniendo en cuenta los parámetros óptimos obtenidos en la Tabla 2.6: el experimento 7* se efectuó a 90^{0}C y concentración de sacarosa 78% y en el ensayo 8* se trabajó con las condiciones experimentales óptimas pero se sustituyó el azúcar refino C por refino A; los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 2.7.

Tabla 2.7Resultados de los ensayos experimentales adicionales.

No.	X_1	X_2	X_3	X_5	$\bar{Y}_1$
7*	78	14,64	4,6	90	907,67
8*	70	14,64	4,6	86	1327,4

Según se observa en la Tabla 2.7, en el experimento 7* al incrementar la temperatura y la concentración de sacarosa por encima de 86^{0}C y del 70% respectivamente, ocurre una disminución del contenido de reductores totales lo cual puede ser atribuible a la saturación de la enzima por sustrato y/o la inactivación de la misma por efecto de la temperatura. En

el experimento 8* empleando los valores óptimos de las variables analizadas pero trabajando con azúcar refino A se aprecia que se obtienen los mayores niveles de reductores totales lo que indica que la calidad del azúcar refino empleada influye directamente en el nivel de reductores que se genera en la hidrólisis enzimática de la sacarosa.

CAPÍTULO 3. Escalado del equipamiento para la etapa de hidrólisis en la producción de glucosa por vía enzimática a nivel de planta piloto. Análisis económico preliminar.

3.1 Diseño y escalado del reactor para la hidrólisis enzimática.

Para llevar a cabo la inversión de mayores volúmenes de disolución de sacarosa para la obtención de glucosa por vía enzimática se hace necesario realizar el escalado a nivel de planta piloto del equipamiento para la etapa de inversión apoyados en el balance de masa y la metodología propuesta por (Rosabal, 2006).

3.1.1 Diseño del reactor de hidrólisis enzimática.

Para el escalado del reactores se toma en cuenta el criterio de similitud geométrica: $(\frac{HL}{D})_{Modelo} = (\frac{HL}{D})_{Prototipo}$ y que no se produzcan cambios en las propiedades físicas de los materiales involucrados en esta etapa. Las características del agitador se toman a partir de los criterios de (Garcell, 2006; Rosabal, 2006)

Para el diseño del reactor de hidrólisis enzimática se toma en cuenta que este corresponde al modelo de tanque agitado. El volumen de mezcla a tratar es de 113,8L, que contiene 100 L de disolución de sacarosa al 70 % y 13,8 L de enzima invertasa.

En el estudio se toman en cuenta datos del reactor empleado a escala de laboratorio. El mismo consiste de un vaso de precipitado de 900 mL con agitación cuyas características se reportan en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1.Características del reactor de laboratorio (Modelo).

Característica	Valor
Altura de líquido(H_L) (m)	0,1
Diámetro reactor(D) (m)	0,12
Tiempo Reacción (h)	3
Volumen Disolución (V) (m^3)	$6,75.\ 10^{-4}$
Diámetro Agitador(d) (m)	0,03
Velocidad Agitador (n) (s^{-1})	10
Potencia Agitador (N) (W)	9

Para el diseño del reactor, se toma en cuenta el criterio referido por (Garcell, 2006; Rosabal, 2006), en que el diámetro del reactor es igual a la altura de líquido en el tanque ($D = H_L$).

Conociendo el volumen de mezcla a tratar (113,8 L) se procede al cálculo,

$$V = \frac{\pi .D^2}{4} .H_L \qquad (3.1)$$

Como $D = H_L$,

$$V = \frac{\pi .D^3}{4} \qquad (3.2)$$

Se obtiene que el diámetro del reactor es de 0,525m. Considerando un 12% de sobre diseño para evitar derrames durante el proceso de agitación, la altura del reactor (H_R) será,

$H_R = 1,12.\ H_L$ (3.3)

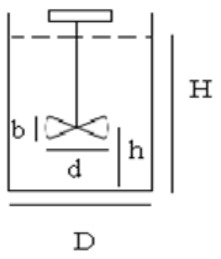
$H_R = 1,12.\ 0,525$ m

$H_R = 0,6$m

Los resultados declarados anteriormente, corresponden a un volumen de reactor de 130L.

3.2 Selección y escalado del agitador.

La selección del agitador a emplear a escala piloto se realizó siguiendo los criterios referidos por (Kasatkin, A.G., 1981):



d = (0,66-0,99).D

H = (0,8-1,3).D

b = (01-0,2).D

h ≤ 0,3.D

Para el caso de estudio los resultados fueron:

d = (0,66).0,525= 0,35 m

b = (0,1).0,525 = 0,0525 m

h≤ 0,3.0,525 =0,16 m

Aplicando la relación:

$$\left(\frac{HL}{D}\right)_{piloto}=\left(\frac{0,525}{0,525}\right)=1$$

$$\left(\frac{b}{D}\right)_{piloto}=\left(\frac{0,0525}{0,525}\right)= 0,1$$

Se seleccionó según Tabla 21. Apéndice. (Rosabal, 2006) el agitador de Paletas, Tipo 1, α = 90^0 , Z= 2

Aplicando el criterio de escalado de potencia por unidad de volumen propuesto por (Rodríguez, I., Blázquez, G., 2010), representado por la Ecuación 3.2.

$$\left(\frac{n^3 * d^5}{V}\right)_{modelo} = \left(\frac{n^3 * d^5}{V}\right)_{piloto} \qquad (3.2)$$

Dónde: n, representa la velocidad de rotación del agitador (s^{-1}), d, diámetro del agitador (m) y V, representa el volumen de líquido (m^3).

$$\left(\frac{10^3 * 0,03^5}{0,000675}\right)_{modelo} = \left(\frac{n^3 * 0,35^5}{0,1138}\right)_{piloto}$$

n=0,91 s^{-1}

n= 55 rpm

Cálculo de la potencia del agitador a escala piloto:

Hallar el Reynolds de mezclado con la Ecuación 3.3.

$$Re\ m = \frac{n.d^2.\rho}{\mu} \quad (3.3)$$

Dónde: $\rho\ = 1\ 349\ Kg/m^3$ (Tabla 16(J. Chen, 1999))

$\mu = 10^{-2} Pa.s$ (Rosabal, 2006)

Siendo, Re_m, Reynolds de mezclado (adimensional),ρ, densidad de la disolución de sacarosa (kg.m^{-3}), d, diámetro del agitador (m), n, velocidad de rotación del agitador (s^{-1}) yμ, viscosidad de la disolución de sacarosa ($Pa.s$).

Se obtiene Re_m = 15 037,98

Ir a Figura 9,7 (Rosabal, 2006) con Re_m y seleccionar K_N = 0,3 para agitador Tipo I, no es necesario hacer corrección dado que H = D, empleando la Ecuación 3.4.

$$N = KN.d^5.n^3.\rho \quad (3.4)$$

N= 16 W= 0,016 kW

NInst.= β.N

NInst.= 1.2 (0,016)

NInst. = 0,0192 kW

Con la potencia de instalación calculada ir a Tabla 14 Tomo I (Rosabal, 2006) y seleccionar Motor monofásico, 110/120 V, 60 Hz con velocidad sincrónica n = 1800 rpm.

En la Tabla 3.2 se resumen los principales datos para el reactor de hidrólisis enzimática y la resultante para el escalado a nivel piloto.

. Tabla 3.2. Resumen del escalado del reactor de hidrólisis enzimática

Escala	Reactor						Agitador de paletas			
	V (m^3)	H_R(m)	D(m)	N(kW)	$t_{mezclado}$(h)	n(rpm)	d(m)	H_L(m)	b(m)	h(m)
Piloto	0,130	0,6	0,525	0,016	3	55	0,35	0,15	0,0525	0,16

La Figura 3.1 que se muestra a continuación representa el esquema tecnológico correspondiente a la etapa de hidrólisis enzimática.

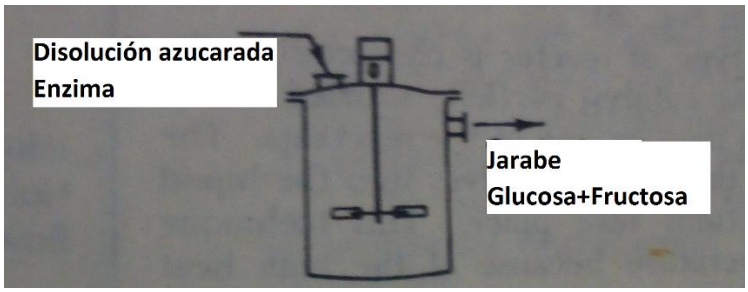


Figura 3.1. Esquema tecnológico de la etapa de hidrólisis enzimática.

3.3 Análisis económico preliminar.

El análisis técnico-económico de una actividad es un estudio complejo de cada uno de los eslabones que constituyen y contribuyen a la actividad económico- productiva, siendo una de las funciones de la organización y dirección científica de la producción; el mismo permite determinar si la inversión proyectada es capaz de satisfacer los requerimientos que la han originado y si es económicamente factible, valorando objetivamente los resultados (Alomá, 2006; GONZÁLEZ, 1987).

Para desarrollar el análisis se tomaron en consideración los resultados declarados en el Epígrafe 3.2, el reactor tendrá una capacidad ascendente a 0,130 m^3, para operar durante 3 horas.

3.3.1 Costo de adquisición del equipamiento.

En la etapa de hidrólisis se empleará un reactor conformado por un tanque enchaquetado de acero al carbono con agitación, a presión atmosférica.

Para el cálculo del costo de adquisición del equipo se parte de la Figura 16-35 del (Peter´s, 1991). Posteriormente se aplica la Regla de la 0,6 descrita por (GONZÁLEZ, 1987), Ecuación 3.5, a continuación se actualizan los costos mediante el índice correspondiente descrito en (Chemical Engineer, 2018), Ecuación 3.6.

$$C_T = C_C \cdot \left(\frac{Cap_{prop}}{Cap_C}\right)^{0,6} \quad (3.5)$$

$$C_A = C_T \cdot \left(\frac{IC_A}{IC_T}\right) \quad (3.6)$$

Siendo, C_T costo total de adquisición del equipo, C_C costo de adquisición del equipo conocido, Cap_{PRO} capacidad del equipo que se propone, Cap_C capacidad del equipo conocido, C_A costo actual del equipo, $IC_{A,(T)}$ índice de costo actual, (referencia).

Los resultados del cálculo de los costos se reportan en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3 Resumen del cálculo de los costos del equipamiento.

Componentes	Valor	Fuente
Costo de adquisición del equipo conocido(USD).	6 000	Peter, M.S., Timmerhaus, K. O., 1991
Capacidad del equipo que se propone (m^3).	0,130	Peter, M.S., Timmerhaus, K. O., 1991
Capacidaddel equipo conocido(m^3).	0,377	Peter, M.S., Timmerhaus, K. O., 1991
Costo total de adquisición del equipo(USD)	3 195,89	González, E., Schuart, L., 1987
Índice de costo actual (U)	572,9	Chemical Engineer, 2018
Índice de costo referencia (U)	356	Chemical Engineer, 2018
Costo actual del equipo (USD)	5 143,05	Peter, M.S., Timmerhaus, K. O., 1991

Conclusiones

1. La glucosa es un edulcorante de gran aplicación en la industria alimentaria, puede obtenerse a partir de diversas materias primas, la producida apartir de azúcar refino por vía ácida tiene bajo rendimiento en la cristalización debido a la calidad de la materia prima y a los problemas técnicos en las etapas del proceso.
2. Las variables que influyen significativamente, en el intervalo estudiado, en el proceso de inversión de la sacarosa empleando la enzima invertasa sumergida son: concentración de sacarosa, concentración de enzima, pH y temperatura.
3. Los mejores resultados obtenidos, una vez realizada la búsqueda de la región óptima, en el proceso de inversión de la sacarosa empleando la enzima invertasa sumergida son: Concentración de sacarosa (70%), concentración de enzima (14,64 mL/ 100 g refino), pH (4,6) y temperatura (86^0C).
4. El estudio experimental realizado, usando azúcar refino A y manteniendo las variables antes utilizadas reporta mejores resultados en la hidrólisis enzimática por lo que la calidad del azúcar refino influye decisivamente en el proceso.
5. El análisis técnico económico a la tecnología de hidrólisis de la sacarosa por vía enzimática a escala de planta piloto, reporta que se requiere un reactor del tipo tanque agitado para una capacidad de 0,130m^3y un costo de 5 143,05 USD.

Recomendaciones

1. Realizar estudios experimentales de hidrólisis de la sacarosa empleando la enzima invertasa sumergida a concentración de sacarosa comprendidas entre 70 y 78%, manteniendo constante el resto de los parámetros optimizados.
2. Realizar pruebas a escala piloto de la etapa de hidrólisis enzimática en la UEB "Chiquitico Fabregat", a las condiciones óptimas resultantes del estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albertini, A., Cadena, P., Silva, J., Nascimento, G., Reis, A., Freire, V., Santos, R., Martins, J. L., Cavada, B., Neto, P., Pimentel, M., Martínez, C., Porto, A., Filho, J.V. (2012). Performance of invertase immobilized on glass–ceramic supports in batch bioreactor *Chemical Engineering Journal, 187*, 341-350.

Alomá, I. d. l. C. (2006). *Evaluación de la operación de adsorción de metales pesados empleando columnas rellenas con bagazo de caña químicamente modificado y propuesta de escalado a nivel de planta piloto.* (Tesis en opción al grado Master en Ingeniería en Saneamiento Ambiental.), Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.

Badui, D. S. (1993). *Quimica de los alimentos. Addison Wesley Longman, Mexico.*

.

Badui, D. S. (1997). *Química de los Alimentos. Tercera edición quinta reimpresión. Longman de México Editores, S. de C. V. Alhambra Mexicana. México, D.F. 45-117.*

.

Bagal-Kestwal, D., Kestwal, R., Chiang, B., & Karve, M. (2011). Development of dip-strip sucrose sensors: Application of plant invertase immobilized in chitosan–guar gum, gelatin and polyacrylamide films. Sensors and Actuators B: Chemical 160(1): 1026-1033.

Bayramoglu, G., Akgöl, S., Bulut, A., Denizli, A., & Arıca, M. (2003). "Covalent immobilization of invertase onto a reactive film composed of 2-hydroxyethyl methacrylate and glycidyl methacrylate: properties and application in a continuous flow system. ." Biochemical Engineering 14: 117-126.

Betancor, L., & Luckarift, H. R. (2008). Bioinspiredenzymeencapsulationforbiocatalysis. Trends in Biotechnology26(10)💻 566-572.

Beynum, G., Roels, J., . (1987). Starch convertion technology. *Marcel Dekker, Inc., USA*, 5-60.

Cao, L. (2005). Immobilisedenzymes: scienceor art?CurrentOpinion in ChemicalBiology9: 217–226.

Chávez, M. C., Díaz, J., Perez, U., & Delfín, J. (1990). Temas de Enzimología. Tomo I. Facultad de Biología. Universidad de la Habana. .

CHEN, C. P. (1996). Manual del azúcar de caña: para fabricantes de la caña de azúcar y químicos especializados. *editorial Limusa*.

Chen, J. (1999). Manual del azúcar de caña. Editorial LIMUSA S.A. México. ISBN 968-18-3662-6.

Chitunda, B. (2002). Ingeniería de biocatalizadores y bioprocesos: β-galactosidasa de

Thermussp., cepa T2. Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias Químicas. Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España.

Datta, S., Christena, R., Rani, Y., & Rajaram, S. (2012). Enzymeimmobilization: anoverviewontechniques and supportmaterials. 3 Biotech. DOI 10.1007/s13205-012-0071-7.

Duarte, E. (1997). Siropes Invertidos. Pasado y presente. . *Revista ATAC., 47*.

Duran. (2007). Producción de edulcorantes por bioconversión.

Escobar, G. A. J. (1995). *Photosynthèse, partition du carbone et métabolisme du sorbitol dans les feuilles adultes de pêcher.* Université de Poitiers. France., France.

.

F., E., & P, B. (1999). Biotechnology. Second Edition. Volume 5a. Recombinant Proteins, Monoclonal Antibodies and Therapeutic Genes. Sequence and Structure of proteins.

Fernández, P. (2010). Enzymes in Food Processing: A Condensed Overview on Strategies for Better Biocatalysts. Enzyme Research 1-19. .

Fleming, S. E. (1979). Preparation of high-fructose syrup from the tubers of the Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus L.). *CRC Crítical reiew in Food Science and Nutrition*, 31; 31-28.

Fuchs, A. (1987). Potentials for non-food utilization of fructose and inulin. . *Starch/stärke, presented at the 38th Starch Convention*, 335-343.

García, G. M., López, M. C., & Quintero, R. R. (2000). Biotecnología de alimentos, México.

Girelli, A. M., & Mattei, E. (2005). Application of immobilizedenzyme reactor in on-line high performance liquidchromatography: A review. Journal of Chromatography B 819: 3-16.

GONZÁLEZ, E., GONZÁLEZ, V., TECH LOTHAR, SCH. (1987). *Aspectos técnico-económicos en la proyección de plantas química.*

Herryman, M., Blanco, G., . (1999). Actualización de los costos de inversión de las plantas de derivados. *Dpto. de Evaluación Económica. ICIDCA.*

.

Hicks, G. J. J. (2001). *Bioquímica.Primera edición. Editorial Mc-Graw Hill, Iberoamericana. México.*

.

Horovitz, D., Magalhães, T., & Acosta, R. A. (2013). Enzyme replacement therapy whith galsufase in 34 children younger than five years of age with MPS VI.Molecular Genetics and Metabolism 109(1): 62-9.

INEGI, I. N. d. E., Geografía e Informática.,. (2004). Importación de productos derivados de la hidrólisis del almidón. *México.*

Kennedy, I. F., & Cabral, J. M. S. (1983). Immobilizedcells and enzymes. A practicalapproach. Ed. 3. Woodward, IRL Press, 19-54.

Kharrat, N., Ali, Y., Marzouk, S., Gargouri, Y., Karra-Châabouni, M., & (2011). Immobilization of

Rhizopusoryzaelipaseonsilicaaerogelsbyadsorption: Comparisonwiththe free enzyme. Process

Biochemistry46(5): 1083-89.

Kotwal, & Shankar. (2009). Immobilized invertase Biotechnology Advances 27: 311-322.

Labus, K., Gancarz, I., & Bryjak, J. (2012). Immobilization of laccase and tyrosinasseonuntreated and plasma-treatedcellulosic and polyamidesmembranes. MaterialsScience and Engineering C 32: 228-235.

Lehninger, A. L. (2005). *Biochemistry. Second edition; eighth printing. Worth publisher, INC; USA. 1089.*

Lehninger, A. L., Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2006). Principles of Biochemisry. Fourth Edition. Worth Publishers.

.

Lin, T.-Y., Wu, C., & Brennan, J. (2007). Entrapment of horseradishperoxidase in sugar-modifiedsilicamonoliths: Towardthedevelopment of a biocatalytic sensor. Biosensors and Bioelectronics 22 .

López-Munguía, A. (2004). Reactores Enzimáticos. Colección Tópicos en Biotecnología. Editorial Casa abierta al tiempo. México. 11-36.

M, A. (1998). Inmovilización de enzimas. Fundamentos, métodos y aplicaciones Ars

Pharmaceutica 39(2): 111-127.

mailxmail.com. Curso, empresa, administración empresas.

Marcelli, M. M. (2000). La fructosa: más sana y más barata. *Gaceta Universitaria de la UNAM, México.*

Mateo, C., Palomo, J., Lorente, G., Guisan, J., & Fernández-Lafuente, R. (2007). Improvement of enzymeactivity, stability and selectivityviaimmobilizationtechniques. Enzyme and Microbial

Technology40: 1451-1463.

MINAZ. (1989). Proyecto de inversión en Cuba de una planta de 7000 Ha. de Sorbitol.

MV, K., & LK, M. (1984). Food, nutrition and diet therapy. 7th ed. Philadelphia: WB

Saunders Company.

Nagar, S., Mittal, A., Kumar, D., Kumar, L., & Gupta, V. (2012). Immobilization of xylanaseonglutaraldehydeactivatedaluminum oxide pellets forincreasingdigestibility of poultryfeed.

ProcessBiochemistry47(9): 1402-10.

Pancoast, H. M., Junk, W.R. . (1973). *"Handbook of sugars for processors, chemists and technologists", Ed. The AVI Publishing Company Inc. Westport, EEUUA 1973. Pp.19–180, 256–308.* (The AVI Publishing Company Inc. Westport, ed.). EEUUA

Peter´s, M. S. (1991). "Plant Desing and Economics for Chemical Engineers". Edición Revolucionaria, pág. 731.

Rai, A., Prabhune, A., & Perry, C. (2012). Entrapment of commercially important invertase in silica particles at physiological pH and the effect of pH and temperature on enzyme activity. Materials

Science and Engineering C. 32(4): 785-789.

Rebros, M., Rosenberg, M., Mlichova, Z., & Kristofikova, L. (2007). Hydrolysis of sucrosebyinvertaseentrapped in polyvinyl alcohol hydrogel capsules. FoodChemistry102: 784-787.

Rosabal, J. M. (2006). Hidrodinámica y Separaciones Mecánicas Tomo II.

S., S., & Demain, A. L. (2011). Enzymes and Bioconversion of Industrial, Pharmaceutical and Biotechnological Significance. Organic Process Research 🕮Development 15(1): 224-230.

Salihu, A., Alama, M., Karim, M., & Salleh, H. (2012). Lipase production: An insight in the utilization of renewable agricultural residues. Resources, Conservation and Recycling 58: 36-44.

Sankalia, V., Mashru, R., Sankalia, J., & Sutariya, V. (2007). Reversedchitosan-alginatepolyelectrolitecomplexforstabilityimprovement of alpha-amylase: Optimization and physicochemicalcharacterization. EuropeanJournal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics65: 215-232.

Sassolas, A., Blum, L., & Leca, B. (2012). Immobilizationstrategies to developenzymaticbiosensors. BiotechnologyAdvances30(3): 489-511.

Scriban, R. (1985). *Biotecnología; segunda edición. Editorial El Manual Moderno, S. A. de C. V. México. 167-378.*

Tran, D. N., & Balkus, K. J. (2011). Perspective of recent progress in immobilizationof enzymes.ACS Catalysis 1: 956-968. . .

Tsuneyuki, O., Nakamura, S.,. (2002). Digestion, absorption, fermentation, and metabolism of functional sugar substitutes and their available energy. *Pure Appl. Chem.*

Vandamme, E. J., Derycke, D. J., . (1983). Microbial inulinases: fermentation process, properties and applications. *Laskin A. I. Adv. In Appl. Microb.*, 139-176.

Vega-Paulino, R. J., & Zúniga-Hansen, M. E. (2012). Potential application of commercial enzyme preparations for industrial production of short-chain fructooligosaccharides. Journal of Molecular

Catalysis B: Enzymatic 76: 44-51.

Wang, Y., & Hsieh, Y. L. (2008

). Immobilization of lipaseenzyme in polyvinyl alcohol (PVA) nanofibrousmembranes. Journal of MembraneScience309: 73-81.

Ye, P., Xu, Z., Che, A., Wub, J., & Seta, P. (2005). Chitosan-tetheredpoly (acrylonitrile-co-maleicacid) hollowfibermembraneforlipaseimmobilization. Biomaterials26: 6394-6403.