

UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL
VALPARAÍSO – CHILE



**“OPTIMIZACIÓN DE LA OPERACIÓN DE UN
REACTOR ENZIMÁTICO PARA LA HIDRÓLISIS DE
LACTOSA EN LECHE”**

Memoria de Titulación presentado por

FRANCISCO ANTONIO OLIVARES PINTO

Como requisito parcial para optar al título de

INGENIERO CIVIL QUÍMICO

Profesores Guía

Dr. Pedro Valencia Araya

Dr. Ricardo Simpson Rivera

Valparaíso 2016

Agradecimientos

Un factor fundamental para desarrollar esta tesis fue el apoyo incondicional de mi familia y amigos.

Particularmente agradezco a ti Cami por todos tus consejos y soportar mis malos días.

Resumen

En la actualidad el 60% de la población adulta chilena es intolerante a la lactosa. La enzima β -galactosidasa convierte la lactosa en glucosa y galactosa reduciendo su contenido en la leche. Por este motivo, en la industria láctea se hidroliza lactosa comúnmente en un reactor por lote agitado. Las variables que afectan la operación del reactor se identifican como, la temperatura, la concentración inicial de enzima y concentración inicial de lactosa. El aumento de la temperatura de operación en el reactor por lote aumenta la eficiencia catalítica del proceso, pero también aumenta la inactivación de la enzima y los gastos energéticos. Aumentar la concentración de enzima va a influir positivamente en la productividad pero negativamente en los costos. Dadas estas problemáticas es necesaria una optimización, donde nace la pregunta ¿A qué temperatura y concentración de enzima se debe operar para tener los menores costos, mayor utilidad y mayor productividad?

Entonces el objetivo general busca determinar la temperatura y concentración de enzima que maximizan la productividad, minimizan el costo y maximizan la utilidad en el proceso de hidrólisis de la lactosa de la leche con la enzima β -galactosidasa.

La metodología consistió en la determinación del comportamiento de un reactor Batch mediante una simulación de la conversión basada en un modelo matemático de la hidrólisis enzimática de la lactosa. Las variables de operación que considera el modelo son la temperatura, la concentración inicial de enzima, la concentración inicial de lactosa y volumen de reactor. Se determinaron curvas de conversión donde se calculó la productividad volumétrica y el costo asociado a cada operación. Se trabajó con una conversión del 30% para generar leche destinada a la producción de manjar reducido en lactosa y una conversión del 90% para producir leche deslactosada.

Los resultados mostraron que la productividad volumétrica máxima es 9,3 [mM/min] para una conversión del 30%, mientras que es 3,3 [mM/min] para una conversión del 90% a la temperatura de 48 [°C] y concentración inicial de enzima de 2 [g/L], a una concentración inicial de lactosa de 276,8 [mM] en ambos casos. El costo de enzima crece linealmente en función del volumen del reactor y la concentración de enzima. El costo de leche crece linealmente en función del volumen del reactor. Mientras que el costo de agitación presenta un mínimo de \$86,6 por lote, para un volumen de 500 [L] y una concentración de lactosa de 276,8 [mM] considerando una conversión de lactosa del 30%, para una temperatura de 48 [°C] y una concentración inicial de enzima de 2 [g/L]. El costo de calefacción presenta un mínimo de \$6.951 por lote, para un volumen de 500 [L] y una concentración de lactosa de 276,8 [mM] considerando una conversión de lactosa del 30%, para una temperatura de 30 [°C] y una concentración inicial de enzima de 0,5 [g/L]. La utilidad presenta un máximo de \$755.196 por lote, para un volumen de 500 [L] y una concentración de lactosa de 276,8 [mM] considerando una conversión de lactosa del 30%, para una temperatura de 30 [°C] y una concentración inicial de enzima de 2 [g/L]. El precio del manjar para una utilidad cero (\$) es de 294 [\$/Kg].

Se concluye que el proceso es rentable, mientras que el costo de mayor influencia es el costo de leche, seguido por el costo de enzima, el costo de vapor y el costo de agitación.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	4
ÍNDICE.....	5
ÍNDICE TABLAS.....	6
ÍNDICE FIGURAS.....	7
1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. ANTECEDENTES	14
2.1. DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO.....	14
2.1.1. <i>Leche Deslactosada</i>	14
2.2. PRODUCCIÓN DE MANJAR.....	20
2.3. LACTOSA	21
2.4. B - GALACTOSIDASA	22
2.5. MODELO HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA	24
2.5.1. <i>Modelo cinético de reacción</i>	24
2.5.2. <i>Modelo inactivación térmica</i>	26
<i>Modelo de la Inactivación térmica</i>	28
2.6. TIPOS DE REACTORES	31
2.7. DISEÑO DE REACTOR POR LOTES	34
2.7.1. <i>Reactor Batch agitado</i>	34
2.7.2. <i>Fase 1: Calentamiento</i>	35
2.7.3. <i>Fase 2: Reacción</i>	41
3. OBJETIVOS.....	44
4. METODOLOGÍA	46
4.1. MODELO HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA	47
4.1.1. <i>Curvas de conversión</i>	47
Método analítico	47
4.2. ESTUDIO ECONÓMICO DE OPERACIÓN EN EL REACTOR.....	49
4.2.1. <i>Ganancia producida por la operación del reactor</i>	49
4.2.2. <i>Costos de operación del reactor</i>	50
Costo de Enzima.....	50
Costo en Agitación	51
Costo en calor de calefacción	53
<i>Fase 1: (Calentamiento)</i>	54
<i>Fase 2: (Reacción)</i>	56
Costos Leche pagada al productor.....	57

Utilidad	58
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	63
5.1. COMPORTAMIENTO DEL REACTOR POR LOTES	63
5.2. PRODUCTIVIDAD VOLUMÉTRICA.....	67
5.3. ESTUDIO ECONÓMICO DE LA OPERACIÓN DEL REACTOR	70
5.3.1. <i>Ganancia</i>	70
5.3.2. <i>Costo de enzima</i>	71
5.3.3. <i>Costos Agitación</i>	71
5.3.4. <i>Costo en Leche</i>	74
5.3.5. <i>Costos Calor Cedido</i>	74
5.3.6. <i>Utilidad</i>	81
6. CONCLUSIÓN.....	87
7. REFERENCIAS	88
8. ANEXOS	92
8.1. ANEXO 1	92
8.2. ANEXO 2	93

Índice Tablas

TABLA 2.1: PRECIO LECHE PAGADO A PRODUCTOR FEBRERO 2014.....	16
TABLA 2.2: CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE DESLACTOSADA DISPONIBLES EN EL MERCADO MUNDIAL	17
TABLA 2.3: PARTICIPACIÓN EXPORTACIONES CHILENAS DE MANJAR POR PAÍS DE DESTINO .	19
TABLA 2.4: LACTASAS COMERCIALES DE LEVADURA.	23
TABLA 4.1: RESUMEN CONDICIONES DE OPERACIÓN:	60
TABLA 4.2: CONSTANTES EMPLEADAS EN LA SIMULACIÓN MATEMÁTICA:	61
TABLA 5.1: TIEMPO DE VIDA MEDIA VARIANDO LA TEMPERATURA EN LA INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA	65
TABLA 5.2: PRODUCTIVIDAD VOLUMÉTRICA MÁXIMA VARIANDO LA CONCENTRACIÓN DE ENZIMA.....	69
TABLA 5.3: DEPENDENCIA VOLUMÉTRICA DE LA VELOCIDAD DE AGITACIÓN Y POTENCIA DEL AGITADOR.	72
TABLA 8.1: CASO VARIABLES ÓPTIMAS DE OPERACIÓN PARA 20 [M ³ /TURNO] DEMANDADO .	93

Índice Figuras

FIGURA 2.1: PORCENTAJE HABITANTES INTOLERANTES A LA LACTOSA EN EL MUNDO.....	14
FIGURA 2.2: PRODUCCIÓN Y RECEPCIÓN DE LECHE EN CHILE.....	15
FIGURA 2.3: PRODUCCIÓN DE MANJAR POR EMPRESA 2014. ODEPA.....	19
FIGURA 2.4: DIAGRAMA DE BLOQUES PRODUCCIÓN MANJAR NESTLÉ.....	20
FIGURA 2.5: ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA A Y B-LACTOSA.....	21
FIGURA 2.6: MECANISMO DE INHIBICIÓN COMPETITIVA POR PRODUCTO.....	24
FIGURA 2.7: CONFIGURACIONES DE REACTORES CON ENZIMAS INMOVILIZADAS: A: BATCH; B: BATCH CON RECIRCULACIÓN; C: TANQUE AGITADO-ULTRAFILTRACIÓN; D: CONTINUO DE TANQUE AGITADO; E: CONTINUA LECHO EMPACADO; F: LECHO FLUIDIZADO CONTINUO.	32
FIGURA 2.8: DEFINICIÓN SISTEMAS REACTOR POR LOTES: (S1) SISTEMA CHAQUETA: INTERIOR CHAQUETA – PARED REACTOR. (S2) SISTEMA REACTOR: PARED REACTOR – INTERIOR REACTOR.....	34
FIGURA 4.1: ESQUEMA DE LA METODOLOGÍA PARA REPRESENTAR LAS FUNCIONES DE COSTOS Y GANANCIA EN FUNCIÓN DE LAS VARIABLES DE OPERACIÓN.....	60
FIGURA 5.1: CURVAS DE CONVERSIÓN DE LACTOSA VARIANDO LA TEMPERATURA A UNA CONCENTRACIÓN DE ENZIMA INICIAL DE 1 [G/L].....	63
FIGURA 5.2: CURVAS DE INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA VARIANDO LA TEMPERATURA A UNA CONCENTRACIÓN DE ENZIMA DE 1[G/L].....	64
FIGURA 5.3: TIEMPO DE OPERACIÓN DE LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA VARIANDO LA TEMPERATURA Y CONCENTRACIÓN DE ENZIMA PARA UNA CONVERSIÓN DE LACTOSA DEL 30% A UNA CONCENTRACIÓN DE LACTOSA DE 278,6 [mM].....	66
FIGURA 5.4: TIEMPO DE OPERACIÓN DE LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA VARIANDO LA TEMPERATURA Y CONCENTRACIÓN DE ENZIMA PARA UNA CONVERSIÓN DE LACTOSA DEL 90% A UNA CONCENTRACIÓN DE LACTOSA DE 278,6 [mM].....	66
FIGURA 5.5: PRODUCTIVIDAD VOLUMÉTRICA DE LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA VARIANDO TEMPERATURA Y CONCENTRACIÓN DE ENZIMA HASTA UNA CONVERSIÓN DEL 30%, CONCENTRACIÓN DE LACTOSA 278,6 [mM].....	67
FIGURA 5.6: PRODUCTIVIDAD VOLUMÉTRICA DE LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA VARIANDO TEMPERATURA Y CONCENTRACIÓN DE ENZIMA HASTA UNA CONVERSIÓN DEL 90%, CONCENTRACIÓN DE LACTOSA 278,6 [mM].....	68
FIGURA 5.7: COSTO EN AGITACIÓN DENTRO DEL REACTOR VARIANDO EL TIEMPO DE OPERACIÓN Y EL VOLUMEN DE REACTOR. CONSIDERANDO UNA TEMPERATURA DE 40 °C Y UNA CONCENTRACIÓN DE ENZIMA DE 1 G/L.....	71
FIGURA 5.8: COSTO EN AGITACIÓN DENTRO DEL REACTOR EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA Y CONCENTRACIÓN DE ENZIMA INICIAL. CONSIDERANDO UN VOLUMEN DE REACTOR DE 500 [L] Y UNA CONVERSIÓN DE LACTOSA DEL 30%.....	73

FIGURA 5.9: COSTO DE VAPOR PARA EL CALENTAMIENTO DE LECHE REFRIGERADA HASTA 40 [°C] A UNA CONCENTRACIÓN DE 1 [G/L]. EN FUNCIÓN DEL EL VOLUMEN DE REACTOR [M ³] Y TIEMPO DE CALENTAMIENTO [MIN].	74
FIGURA 5.10: COSTO DE VAPOR PARA EL CALENTAMIENTO DE LA LECHE HASTA LA TEMPERATURA DE OPERACIÓN EN FUNCIÓN DEL VOLUMEN DE REACTOR [M ³] Y TEMPERATURA [°C].	75
FIGURA 5.11: COSTO DE CALOR DURANTE LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA A UNA TEMPERATURA DE OPERACIÓN DE 40 [°C] Y CONCENTRACIÓN DE 1 [G/L]. EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE OPERACIÓN DE LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS Y EL VOLUMEN DE REACTOR BATCH.	76
FIGURA 5.12: COSTO DE CALOR DURANTE LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA Y CONCENTRACIÓN DE ENZIMA INICIAL. CONSIDERANDO UNA CONVERSIÓN DE LACTOSA DEL 30% Y UN VOLUMEN DE REACTOR DE 500[L].	77
FIGURA 5.13: COSTO DE CALOR DURANTE LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA Y CONCENTRACIÓN DE ENZIMA INICIAL. CONSIDERANDO UNA CONVERSIÓN DE LACTOSA DEL 90% Y UN VOLUMEN DE REACTOR DE 500[L].	78
FIGURA 5.14: PROPORCIONES DE COSTOS; (1) COSTO ENZIMA, (2) COSTO LECHE, (3) COSTO AGITACIÓN, (4) COSTO VAPOR; (A) V _R =100 [L], E ₀ =0.5 [G/L], T=30 [°C]. (B) V _R =100 [L], E ₀ =0.5 [G/L], T=45 [°C]. (C) V _R =100 [L], E ₀ =2 [G/L], T=45 [°C]. (D) V _R =1000 [L], E ₀ =0.5 [G/L], T=30 [°C]. (E) V _R =1000 [L], E ₀ =0.5 [G/L], T=45 [°C]. (F) V _R =1000 [L], E ₀ =2 [G/L], T=45 [°C].	80
FIGURA 5.15: UTILIDAD DEL PROCESO DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA SEGÚN EL PRECIO DEL MANJAR REDUCIDO EN LACTOSA. CONSIDERANDO UNA CONVERSIÓN DEL 30%, UNA CONCENTRACIÓN DE LACTOSA DE 276.8 [mM] Y UN VOLUMEN DE REACTOR DE 500 [L].	81
FIGURA 5.16: UTILIDAD DEL PROCESO DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA SEGÚN EL PRECIO DEL MANJAR REDUCIDO EN LACTOSA. CONSIDERANDO UNA CONVERSIÓN DEL 90%, UNA CONCENTRACIÓN DE LACTOSA DE 276.8 [mM] Y UN VOLUMEN DE REACTOR DE 500 [L].	82
FIGURA 5.17: UTILIDAD DEL PROCESO DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA SEGÚN EL PRECIO DEL MANJAR REDUCIDO EN LACTOSA. CONSIDERANDO UNA CONVERSIÓN DEL 30%, UNA CONCENTRACIÓN DE LACTOSA DE 276.8 [mM] Y UN VOLUMEN DE REACTOR DE 1000 [L].	83
FIGURA 8.1: CORRELACIÓN NÚMERO DE POTENCIA EN FUNCIÓN DEL REYNOLDS.	92

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

La lactosa es el azúcar que se encuentra de forma natural en la leche. Para digerirla, el organismo humano precisa de la enzima lactasa que se produce normalmente en la mucosa intestinal, y que transforma la lactosa en glucosa y galactosa. La intolerancia a la lactosa se debe a la disminución o ausencia de lactasa en el conducto digestivo. La causa de intolerancia a la lactosa puede ser congénita, por un error del metabolismo en el que la lactasa falta desde el nacimiento, o adquirida. Esta última puede ser parcial o total y puede iniciarse en la infancia, adolescencia o en la edad adulta. Puede deberse a una disminución progresiva de lactasa en las células de la mucosa intestinal a partir de los dos o tres años de edad, sin que se conozca la causa, o como consecuencia de una agresión a la mucosa intestinal por un virus, bacterias, antibióticos o quimioterapia.

Desde tiempos remotos se sabe que la ingestión de leche produce en muchas personas diversas reacciones adversas que van desde flatulencia y cólicos abdominales hasta diarrea muchas veces incapacitante y ocasionalmente vómitos. Si bien estas manifestaciones se han atribuido a diferentes componentes lácteos, la evidencia actual es que el principal responsable es la lactosa.

Desde el punto de vista clínico hay tres tipos de deficiencias de lactasa: primaria, secundaria y congénita.

Primaria: (Hipolactasia del adulto) tiene carácter hereditario, autosómico, recesivo, que da manifestaciones clínicas usualmente en el adolescente o adulto joven, quejándose el paciente de una serie de síntomas que en nuestra experiencia casi siempre son referidos a infecciones parasitarias (amibas) o sensibilidades a ciertas bebidas. En los pacientes de color estos síntomas pueden presentarse tan temprano como a los 3 años. Secundaria (Adquirida). La deficiencia transitoria se puede desarrollar en un intestino normal durante un episodio agudo de gastroenteritis infecciosa como resultado del daño mucoso, y puede ser producida por una gama de medicamentos como la aspirina, antiinflamatorios no esteroides, antibióticos.

Congénita. (Alactasia). Esta última forma es extremadamente rara y se acompaña de una ausencia completa de la lactasa intestinal, no detectable aún con estudios ultramicroscopio, presentándose en las primeras horas del nacimiento. Este desorden se manifiesta por diarrea severa en el recién nacido con deshidratación y retardo en el crecimiento; debe ser diagnosticada en los primeros días de la vida para iniciar una dieta adecuada y evitar complicaciones ulteriores. El pequeño paciente adoleciendo de esta enfermedad debe mantenerse en una dieta sin lactosa durante el resto de su vida. Y la asesoría dietética especializada es imprescindible. (Liauricchio, 1994)

La industria de alimentos derivados de la leche ha sabido identificar este segmento objetivo, incluyendo en sus líneas de elaboración la conversión enzimática de la lactosa en la leche por la enzima β galactosidasa.

Diferentes esquemas tecnológicos se usan para la hidrólisis de lactosa en la industria con enzimas, tales como lactasas libres o inmovilizadas, en reactores de flujo pistón o de tanque agitado. No obstante, se prefiere realizar el proceso siempre en un solo reactor agitado (Batch). Diversos trabajos han analizado la optimización de reactores para reacciones enzimáticas (Luyben y Tramper, 1982); (Santos, 1998); (Shin, 1998); (Genari, 2003).

Sin embargo, la operación del reactor Batch presenta una baja rentabilidad y estrechos márgenes de contribución, debido a los lotes sucesivos de enzima que produce un alto costo operacional. Razón por la cual es importante que el proceso sea lo suficientemente eficiente en términos productivos, con bajos costos que permitan permanecer dentro de un mercado cada vez más exigente. En la actualidad la producción de leche deslactosada y sus derivados ha estado en alza.

Las motivaciones para que la industria láctea hidrolice lactosa, nacen por la necesidad de entregar un producto apto a las exigencias culinarias y sea rentable para la empresa. Por ello es que esta tesis busca establecer una optimización en la operación al convertir la lactosa, definiendo un modelo matemático, que permita evaluar las variables de operación del reactor.

Para que el reactor logre una conversión eficiente debe mantener una temperatura uniforme en el proceso de hidrólisis, para ello se utiliza una chaqueta con vapor saturado como fluido de servicio permitiendo el régimen isotérmico.

La enzima β -galactosidasa es de carácter soluble, la cual se mezcla agitando la leche por el tiempo de operación hasta obtener el valor de conversión requerido en cada lote. Este proceso debe repetirse hasta satisfacer el volumen diario de producto hidrolizado demandado por cada empresa.

Se estudia el efecto de las variables de operación temperatura, concentración inicial de sustrato lactosa, concentración inicial de enzima y volumen de reactor. Sobre los parámetros de operación conversión del sustrato en el tiempo, productividad volumétrica, costos, ganancias y utilidades.

Para llevar a cabo los estudios deben considerarse ciertas particularidades de las variables de operación. La temperatura, al aumentarla favorece la conversión de la lactosa en la leche, sin embargo una alta temperatura afecta en la estabilidad de la enzima causando su inactivación por la deformación de su estructura terciaria. El aumento de la concentración inicial de enzima genera una mayor conversión de lactosa, lo que también trae como consecuencia un aumento en los costos de este insumo por el alto valor de la enzima en el mercado actual. De esto nace el cuestionamiento ¿Qué temperatura y concentración de enzima debe utilizarse para alcanzar un óptimo operativo en el reactor?

Para resolver esta problemática, se plantea el estudio de los parámetros de operación por medio de un modelo de hidrólisis enzimática. Esto puede traer como consecuencia un aumento en la productividad de leche hidrolizada y por ende, la de manjar deslactosado, optimizando los costos de producción determinando la cantidad de enzima, vapor y agitación a utilizar en el reactor.

CAPITULO 2

ANTECEDENTES

2. Antecedentes

2.1. Descripción del Producto

2.1.1. Leche Deslactosada

La leche se considera como uno de los alimentos más completos debido a sus características nutricionales, organismos internacionales como la FAO y la UNESCO la han recomendado como alimento básico, en especial para los niños.

Si se compara la capacidad de tolerar la lactosa en las diversas razas del mundo, existe una clara relación causa-efecto con el hábito de tomar leche. Aquellos pueblos que han sido tradicionalmente "ganaderos", quienes se han alimentado generación tras generación de la leche de los animales, presentan menos casos de intolerancia a la lactosa que otros pueblos no acostumbrados a su consumo. La mayoría de la población mundial adulta tiene déficit de lactasa, excepto la población del norte y centro de Europa como muestra la Fig. 2.1.

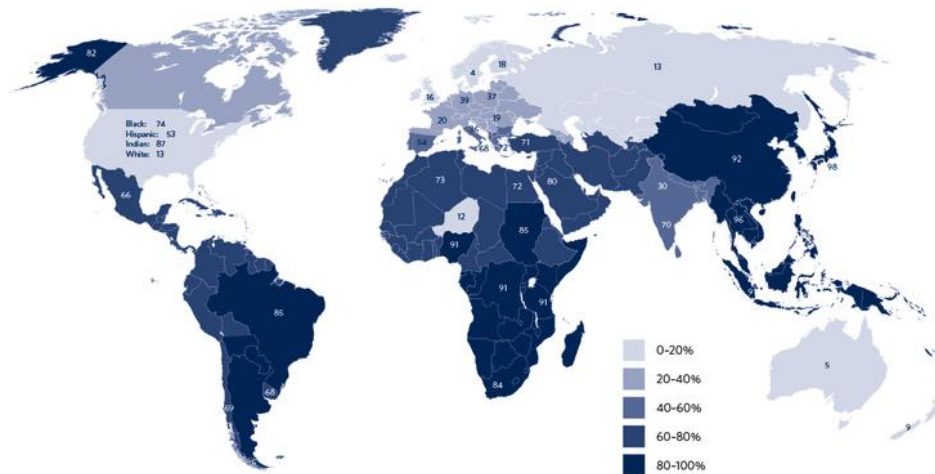


Figura 2.1: Porcentaje habitantes intolerantes a la lactosa en el mundo.

Fuente: www.lactosa.org.

Esto puede fundamentarse dado que en los primeros asentamientos del ser humano, próximo al 3000 A.C., se fundaron las primeras ciudades y con ello la domesticación de ciertos animales, entre ellos el bovino. Esto da a entender que existe un dominio genético para aquellas zonas donde se ubicaron los seres humanos sedentarios (Harris, 2005).

Las zonas norte y centro de Europa son aquellas que más consumen leche, cercano a 220 Litros per cápita al año y son los menos intolerantes a la lactosa en el mundo. Esto permite determinar las zonas donde existe más intolerancia a la lactosa, caracterizándose las zonas sur de América, África y oriente.

En la actualidad la producción y consumo de leche de vaca en Chile ha seguido una tendencia creciente, sin embargo se ha visto un cambio de tendencia observado a finales de 2008 debido a bajas en los precios de la leche, buscando disminuir los costos, a lo que se suma una primavera poco lluviosa y un verano 2009 excesivamente caluroso como muestra la Fig. 2.2.

Para 2013 la producción y recepción de leche ha continuado en ascenso, lo que muestra el consumo creciente de productos lácteos por los chilenos.

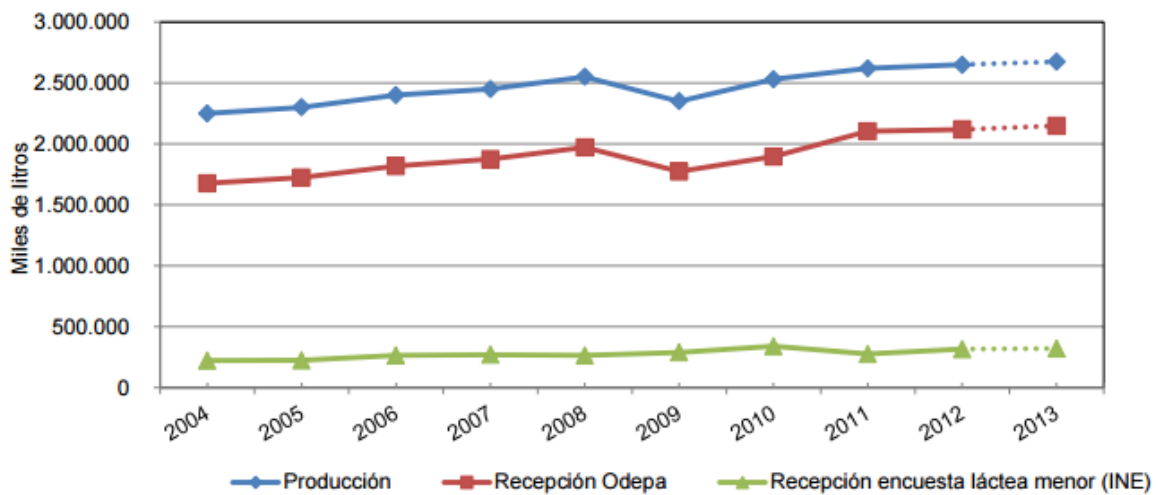


Figura 2.2: Producción y recepción de leche en Chile.

Fuente: Leche: producción, recepción, precios y comercio exterior, ODEPA 2014.

UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA

En Chile el consumo de leche es cercano a 160 litros per cápita por año, que en comparación con países desarrollados que poseen consumos cercanos a los 220 litros per cápita por año, muestra el alto consumo del producto y sus derivados en el país. Tomando en cuenta esta tendencia y que el 60% de la población adulta chilena no tiene la enzima que digiere el azúcar de la leche (Alvarez, 2013), se refuta la necesidad de indagar en productos lácteos reducidos en lactosa.

El precio medio nacional de la leche pagado al productor de enero y febrero alcanzó a \$217,03 por litro de leche llegado a planta, en pesos de marzo de 2014, y fue 11,5% superior al precio del mismo período del año precedente. El precio en la Región de La Araucanía, que llegó a \$ 226,20 por litro, continúa superando en poco menos de \$ 10,0 a la media nacional, con un alza de más de 17% respecto de igual período anterior.

Como se muestra en la tabla 2.1, el precio pagado a productor a nivel país en 2014 es de \$220,09 por litro. Este precio será considerado como parte de los costos en leche para operar el reactor.

Tabla 2.1: Precio leche pagado a productor febrero 2014

Meses	Región Metropolitana			Región del Bío Bío			Región de La Araucanía			Región de Los Ríos			Región de Los Lagos			País		
	2013	2014	Var. %	2013	2014	Var. %	2013	2014	Var. %	2013	2014	Var. %	2013	2014	Var. %	2013	2014	Var. %
Ene	218,42	237,45	8,7	202,97	227,93	12,3	192,09	224,68	17,0	187,86	205,76	9,5	193,36	213,31	10,3	193,55	214,43	10,8
Feb	220,27	241,44	9,6	203,52	229,27	12,7	193,61	227,97	17,7	192,79	211,79	9,9	194,63	219,94	13,0	196,18	220,09	12,2
Mar	223,98			209,50			199,25			204,87			201,61			204,30		
Abr	224,80			211,37			209,33			207,67			204,57			207,74		
May	247,32			245,46			218,25			226,84			227,11			229,34		
Jun	254,70			244,61			237,28			225,73			231,55			233,38		
Jul	253,94			243,22			233,61			223,42			227,76			230,74		
Ago	252,29			240,64			230,04			220,90			225,58			228,03		
Sep	232,30			217,17			206,78			205,54			203,40			207,31		
Oct	235,89			216,37			207,52			199,60			203,36			205,11		
Nov	234,16			214,17			208,98			198,91			203,80			204,82		
Dic	231,87			213,03			206,46			195,66			200,70			201,96		
Promedio año	235,80			221,71			209,87			205,44			207,25			209,79		
Promedio ene-feb	219,32	239,33	9,1	203,21	228,56	12,5	192,77	226,20	17,3	190,04	208,54	9,7	193,92	216,32	11,6	194,72	217,03	11,5

Fuente: Leche: producción, recepción, precios y comercio exterior, ODEPA 2014.

Leche Deslactosada disponible en el mundo

La aplicación de enzima soluble para elaborar leche baja en lactosa se ha utilizado por años en varios países del mundo. Como muestra la Tabla 1 en los Estados Unidos, Canadá y México productos como Lactaid, Lacteeze y Desly son comercializados. En el Reino Unido se puede encontrar leche ultra pasteurizada (UHT) con el nombre de Lactolite. En Finlandia HYLA es una leche UHT baja en lactosa que se elabora mediante la inyección de enzima estéril, como muestra la tabla 2.2:

Tabla 2.2: Características de la leche deslactosada disponibles en el mercado mundial

NOMBRE	PAIS	GRADO DE HIDRÓLISIS	TRATAMIENTO
Lacteeze	Canadá	90%	UHT
Lactaid	USA	70%	Pasteurización
Desly	México	90%	UHT
Lactolite	Inglaterra	95%	UHT
HYLA	Finlandia	80%	UHT
HYLA	Suecia	80%	UHT

Fuente: (Godfrey, 1983).

Un derivado de la leche es el manjar parcialmente deslactosado, donde se requiere hidrolizar hasta un 30% de la lactosa hidrolizándola enzimáticamente para evitar su cristalización en el envase (Eckart, 2015), previniendo el rechazo del consumidor.

Si bien no se requiere convertir toda la lactosa para obtener este producto, está la opción de producir manjar deslactosado convirtiendo la lactosa en la leche hasta obtener un 0.5% de lactosa residual en la leche hidrolizada. Considerando que la leche posee un 5% de lactosa inicial, se debe convertir hasta un 90% de la lactosa en la leche (Eckart, 2015).

Esto entrega opciones de productos llamativos para el mercado objetivo, donde se busca satisfacer los requerimientos culinarios de la sociedad, evitando cualquier problema en la salud de aquellos intolerantes.

Manjar

El Manjar o dulce de leche se define como el producto obtenido por la concentración y acción de calor a presión normal o reducida en la leche, con o sin adición de sólidos de origen láctico y de sacarosa, ya sea parcialmente sustituido o no, por monosacáridos o disacáridos. (Zunino, 1998).

Así mismo, el manjar según el Reglamento Sanitario de los Alimentos, es el producto obtenido a partir de leche adicionada de azúcar, que por efecto del calor adquiere un color oscuro acaramelado. El contenido mínimo de los sólidos totales de leche debe ser del 25,5%, y no puede contener más de un 35% de agua.

El producto es conocido mundialmente, característico de los países Latinoamericanos. En Chile es conocido como Manjar, en Argentina es Dulce de Leche, en Colombia y Venezuela como Arequipe. Existen diferencias mínimas en los sabores y texturas, pero esencialmente es el mismo producto. (Zunino, 1998).

Mercado del Manjar

Las exportaciones del manjar de leche aumentaron un 3,2% en valor, hasta los US\$3,6 millones, en el primer semestre de este año respecto al mismo mes de 2014, según la Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA).

Las exportaciones aumentaron un 11% interanual, hasta las 2.295 toneladas, en el período enero-junio de 2015. Se estima que en 2015 el volumen de estas exportaciones superará las 5.000 toneladas.

Como muestra la tabla 2.3, México es el máximo importador de manjar Chileno hasta el año 2015:

Tabla 2.3: Participación exportaciones Chilenas de Manjar por país de destino

País	Monto [Mil USD FOB]	Participación (%)
MEXICO	2.137	23
PERU	1.305	22
USA	1.144	19
COSTA RICA	512	16
COREA DEL SUR	271	6
REP. DOMINICANA	79	6
BOLIVIA	1	5

Fuente: (ProChile, 2015)

Como muestra la Fig. 2.3, la empresa líder exportadora en el país es Nestlé S.A., la cual en. Esto se debe a que la compañía exporta el manjar chileno a sus filiales en el resto del mundo.

El manjar exportado es suministrado en su mayor parte por pequeños productores a la industria, lo que beneficia el trabajo de proveedores de la Agricultura Familiar Campesina.

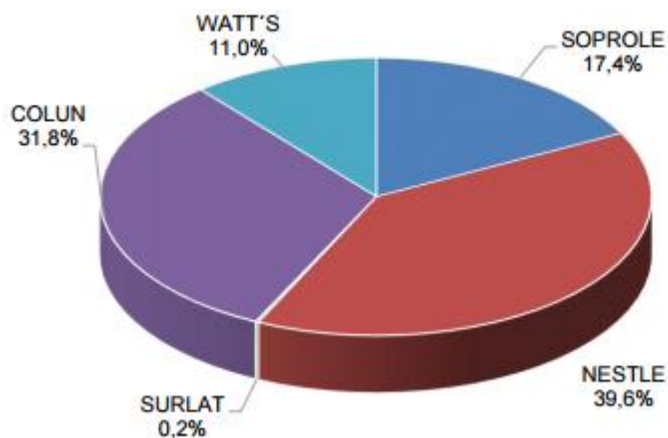


Figura 2.3: Producción de manjar por empresa 2014. ODEPA

En la actualidad se tienen producciones pequeñas de manjar deslactosado gourmet. En vista de que existe un consumo creciente por el manjar y la necesidad latente de convertir la lactosa de la leche para obtener manjar parcial o totalmente deslactosado, se estima un fuerte interés por el consumo masivo de este producto.

2.2. Producción de Manjar

El proceso productivo del manjar se detalla en la Fig. 2.4, donde destaca el proceso de hidrólisis en el cual se basa la investigación.

Las operaciones unitarias del proceso de elaboración del manjar, son mostradas en el siguiente diagrama de bloques:

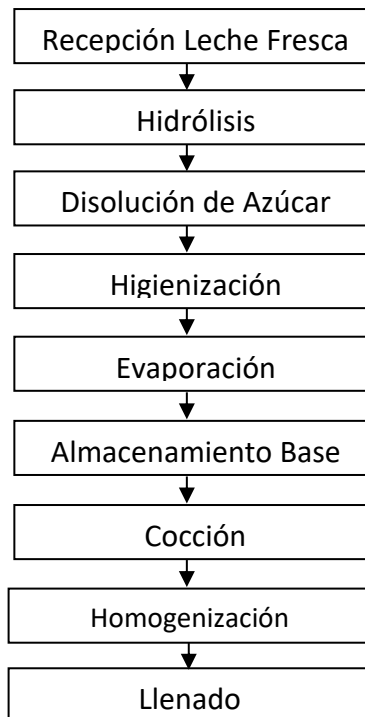


Figura 2.4: Diagrama de bloques Producción Manjar Nestlé

Fuente: Nestlé Los Ángeles, sector lácteos

2.3. Lactosa

La lactosa es el único glúcido libre que existe en cantidades importantes en todas las leches. Suele encontrarse en concentraciones comprendidas entre 45-50 [g/l] o al 5% en líquido. La lactosa parece ser el factor que limita la producción de la leche, ya que las cantidades de leche producidas en la mama dependen de las posibilidades de síntesis de lactosa. (Ordoñez, 1998).

Químicamente la lactosa es un disacárido formado por D-glucosa y D-galactosa unidos por un enlace glicosídico β (1,4). Su peso molecular es de 342,3 [g/mol] y su fórmula estructural es $C_{12}H_{22}O_{11}$.

La lactosa existe en dos formas isoméricas en la leche; α y β -lactosa. Estas formas de lactosa rotan su estructura (OH) cuando están en soluciones acuosas estableciendo un equilibrio entre ambas, como muestra la Fig. 2.5. Considerando que a 20°C y a un equilibrio rotacional, una solución de lactosa estará compuesta de 62.25% de β -lactosa y 37.75% de α -lactosa.

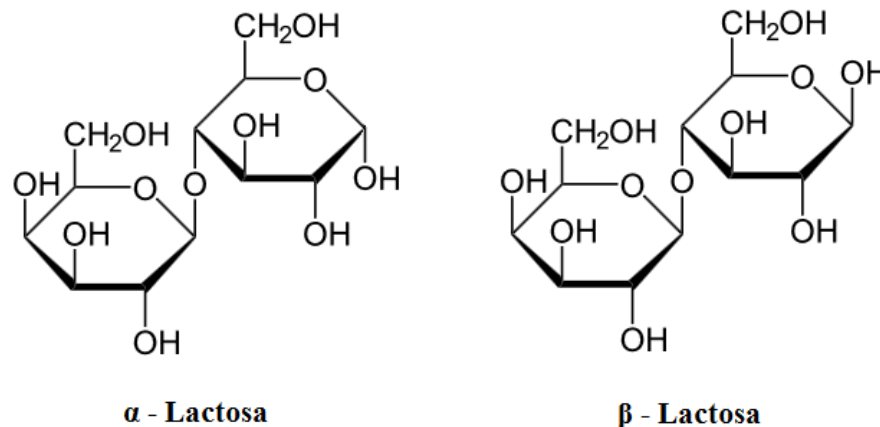


Figura 2.5: Estructura química de la α y β -lactosa.

2.4. β - Galactosidasa

La β -galactosidasa o lactasa es la principal enzima responsable de esta hidrólisis. Se trata de una oxidasa que rompe el enlace β -1,4-glicosídico y libera glucosa y galactosa, que el hombre puede absorber con facilidad. (Charles, 1998) Para evitar la cristalización de la lactosa en el manjar es necesario convertir un 30% del total del sustrato lactosa inicial. (Eckart, 2015). La actividad de la enzima puede ser afectada por otras moléculas. Los inhibidores enzimáticos son moléculas que disminuyen la actividad de las enzimas, mientras que los activadores son moléculas que incrementan dicha actividad. (Smith, 1997). Particularmente el producto galactosa actúa como inhibidor competitivo de la enzima lactasa. La actividad es afectada por la temperatura, el pH, la concentración de la propia enzima, el sustrato, y otros factores físico-químicos requeridos para el proceso de reacción (Bairoch, 2000). Las enzimas, son ampliamente utilizadas en diversos procesos industriales, como en la fabricación de alimentos o producción de biocombustibles.

En la práctica, la enzima se adiciona directamente al reactor y se mantiene hasta el punto de hidrólisis de lactosa deseado. Es posible hacerlo en un reactor de menor tamaño en donde se alimenta de forma continua la enzima y la leche, mientras se desaloja el producto hidrolizado. La hidrólisis en lotes es más económica que el sistema antes mencionado. El proceso en lotes es el más utilizado en la industria láctea ya sea para leche o suero. Lo atractivo del proceso de enzima libre radica en su sencillez y flexibilidad en las condiciones de operación y selección de la fuente de la enzima, pero sus desventajas son la pérdida de la lactasa con el producto. (Godfrey, 1983).

Para efectos de la enzima lactasa, se considera un pH óptimo de 6,6 (Jurado, 2004).

En las reacciones catalizadas por enzimas al igual que en otras reacciones químicas, aumenta la velocidad de reacción al aumentar la temperatura; este cambio en la temperatura incrementa la energía cinética de las especies reactivas produciendo un mayor número de colisiones por unidad de tiempo.

La actividad de una enzima depende de una estructura terciaria muy ordenada mantenida por enlaces no covalentes, los cuales permiten que el sustrato se acople a la enzima en el sitio activo. Si la enzima adquiere suficiente energía, los enlaces no covalentes pueden romperse provocando la desnaturalización, donde se pierde la configuración de la estructura terciaria y, por lo tanto, la actividad catalítica por la inactivación de la enzima.

Enzimas Comerciales

Las principales propiedades de las lactasas disponibles a nivel comercial se observan en la Tabla 2.5. Según su origen, el pH y temperatura óptima para operar.

En cuanto a la inhibición por galactosa la enzima de *A. Niger* es con mucho la más susceptible y en orden descendente se encuentra a la de *K. Marxianus*, la de *K. Lactis*. (M. Garcia, 2004).

Tabla 2.4: Lactasas comerciales de levadura.

Nombre comercial	Compañía	Fuente	Unidades [kat/mL]	pH óptimo	Temperatura óptima [°C]
Maxilact LX – 5000	Gist - Brocades	<i>A. Niger</i>	5000	6,5 – 7,3	35
Maxilact L – 2000	Gist – Brocades	<i>K. lactis</i>	2000	6,5 – 7,3	35
Kerulac	Gist – Brocades	<i>K. lactis</i>	-	6,5 – 7,3	35
Hydrolat	Sturge Enzymes	<i>K. marxianus</i>	5000	6,6	37
LP 7028	Rhom	<i>K. marxianus</i>	2000	6,6	37
Lactozym	Novo	<i>K. marxianus</i>	3000	6,6	37
Neutral Lactase	Pfizer	<i>C. Kefyr</i>	2750	6,2	45 – 47
Takamine Lactase	Miles	<i>K. marxianus</i>	-	6,6	37
LactAid	LacAid	<i>K. lactis</i>	1000	6,5 – 7,3	35

Fuente: Biotecnología Alimentaria.

2.5. Modelo Hidrólisis Enzimática

2.5.1. Modelo cinético de reacción

El modelo de hidrólisis enzimática se basa en las ecuaciones de Michaelis-Menten para la conversión del sustrato lactosa (S) por medio de la enzima Lactasa o β -galactosidasa (E). Esta es modelada por la cinética de reacción característica de la enzima, Fig. 2.6, la cual modela la conversión del sustrato en los productos no cristalizables como Glucosa (Q) y Galactosa (P). Este último producto genera en la enzima libre una inhibición reversible por producto de tipo competitiva por el sitio activo de la enzima, sin embargo, no así el producto Glucosa (Abuu-Reesh, 2000).

El modelo de inhibición de la enzima lactasa es representado a continuación:

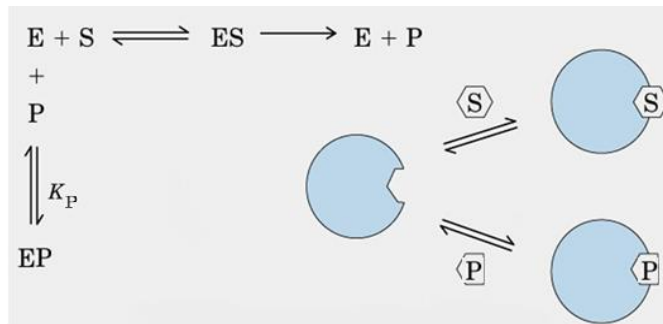
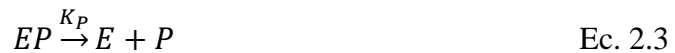


Figura 2.6: Mecanismo de inhibición competitiva por producto

La expresión de velocidad de reacción de hidrólisis se ve reflejada por la ecuación de Michaelis-Menten modificada para la inhibición por producto de tipo competitivo, donde cada etapa es representada según:



Es posible definir las concentraciones en función de la conversión:

$$S = S_0(1 - X) \quad \text{Ec. 2.4}$$

$$P = P_0 + S_0X \quad \text{Ec. 2.5}$$

$$Q = Q_0 + S_0X \quad \text{Ec. 2.6}$$

Considerando la velocidad observada de consumo de sustrato y obtención de producto, sumado a la enzima total y el pseudo-equilibrio:

$$v_{obs} = k_{cat}[ES] \quad \text{Ec. 2.7}$$

$$[E]_0 = [E] + [ES] + [EP] \quad \text{Ec. 2.8}$$

$$K_P = \frac{[E].[P]}{[EP]} \quad \text{Ec. 2.9}$$

Se obtiene el consumo del sustrato en el tiempo:

$$v_{obs} = \frac{k_{cat} \cdot E(t) \cdot [S]}{K_m \left(1 + \frac{[P]}{K_P}\right) + [S]} = \frac{V_{Max} \cdot [S]}{K_m \left(1 + \frac{[P]}{K_P}\right) + [S]} \quad \text{Ec. 2.10}$$

Las constantes cinéticas k_i (T) se correlacionan con la temperatura según la ecuación de Arrhenius:

$$k_i(T) = A \cdot e^{\left(\frac{-E_a}{R.T}\right)} \quad \text{Ec. 2.11}$$

Las constantes de equilibrio K_i (T) se correlacionan con la temperatura según la ecuación de Van't Hoff:

$$K_i(T) = K_0 \cdot e^{\left(\frac{-\Delta H}{R.T}\right)} \quad \text{Ec. 2.12}$$

Los valores para cada constante fueron tomados según análisis realizados utilizando enzimas solubles en leche (Jurado, 2004).

$$k_{cat}(T) = k_2 = 1,9 \cdot 10^7 \cdot EXP\left(-\frac{5246,6}{T}\right) \quad \text{Ec. 2.13}$$

$$K_m(T) = \frac{k_{-1}}{k_1} = 5,2 \cdot 10^5 \cdot EXP\left(-\frac{2956}{T}\right) \quad \text{Ec. 2.14}$$

$$K_p(T) = 2,7 \cdot 10^{11} \cdot EXP\left(-\frac{6535,7}{T}\right) \quad \text{Ec. 2.15}$$

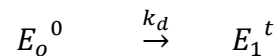
Mientras menor sea el valor de las constantes, ya sea K_m o K_p , implica una mayor afinidad con la enzima. Sumado a esto, para estimar una eficiencia catalítica se utiliza la constante k_{cat} o k_2 para determinar la formación de producto desde el complejo ES. La enzima al inhibirse competitivamente por el producto, muestra una menor velocidad de conversión para la misma concentración de sustrato. (Jurado, 2004).

2.5.2. Modelo inactivación térmica

Modelo inactivación primer orden

Una vez considerados los parámetros cinéticos que representan la conversión del sustrato lactosa por la enzima lactasa, es posible identificar la inactivación enzimática causada por la pérdida de actividad catalítica.

El modelo más utilizado por su simplicidad, considera la disminución de actividad en el tiempo como una reacción irreversible de primer orden en una etapa.



Donde E_o es la enzima soluble con actividad inicial, E_1 la enzima en un tiempo t y k_d la constante de inactivación.

Para una concentración de enzima empleada, la velocidad de inactivación en el tiempo puede expresarse como:

$$\frac{d[E_1]}{dt} = -k_d \cdot [E_1] \quad \text{Ec. 2.16}$$

Integrando esta ecuación se llega a una expresión exponencial para la concentración de la enzima inactivada en el tiempo:

$$[E_1] = [E_0] \cdot e^{-k_d \cdot t} \quad \text{Ec. 2.17}$$

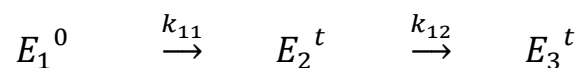
O bien representada por la actividad volumétrica de la enzima:

$$\frac{e}{e_0} = \exp(-k_d \cdot t) \quad \text{Ec. 2.18}$$

La constante cinética de inactivación enzimática sigue la correlación de Arrhenius según Ec. 3.12. Con esta ecuación es posible relacionar una dependencia con la temperatura (Jurado, 2004).

Modelo inactivación en serie

La cinética de inactivación de la enzima es a menudo descrita como un proceso de primer orden en un solo paso. Esto se considera como una simplificación excesiva especialmente en el caso de estudios más detallados de las enzimas. Un mecanismo en serie es una herramienta que permite representar diversos patrones de inactivación de la enzima.



Donde E_1 es la concentración molar de la enzima con actividad inicial, E_2 la concentración molar de la enzima en un tiempo t intermedio con actividad reducida y E_3 la etapa sin actividad enzimática, mientras que k_{11} y k_{12} representan las constantes de transición en la inactivación de cada etapa, donde (E_i) es la concentración molar de cada enzima (M).

Considerando $a_{i,j}$ la actividad específica de la enzima (IU/mol) y $e_{i,j}$ es la actividad volumétrica (IU/L).

El mecanismo es representado por la actividad específica de la enzima donde:

$$\frac{e}{e_0} = \frac{\sum_{j=1}^n a_{1,j}[E_{1,j}]}{a_{1,1}[E_{1,1}]} \quad \text{Ec. 2.19}$$

Para una concentración de enzima empleada, la velocidad de inactivación de cada etapa j puede expresarse como:

$$\frac{d[E_1]}{dt} = -k_{1,(j+1)} \cdot [E_{1,(j+1)}] - k_{1,j} \cdot [E_{1,j}] \quad \text{Ec. 2.20}$$

Tomando en cuenta cada etapa como una de primer orden y considerando la razón de actividades específicas de la etapa intermedia y la inicial:

$$\alpha_{1,j} = \frac{a_{1,j}}{a_{1,1}} \quad \text{Ec. 2.21}$$

Se tiene la ecuación para un mecanismo en serie de la inactivación enzimática:

$$\frac{e}{e_0} = \left(1 + \alpha_{1,2} \cdot \frac{k_{11}}{(k_{12} - k_{11})}\right) \cdot \exp(-k_{11} \cdot t) - \left(\alpha_{1,2} \cdot \frac{k_{11}}{(k_{12} - k_{11})}\right) \cdot \exp(-k_{12} \cdot t) \quad \text{Ec.2.22}$$

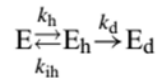
Donde (e) es la actividad enzimática dependiendo del tiempo, (e_0) es la actividad enzimática inicial, k_{11} y k_{12} son constantes de velocidad de transición de primer orden entre las etapas de inactivación de la enzima. (Jurado, 2004)

Modelo de la Inactivación térmica

La inactivación térmica de las enzimas generalmente es evaluada bajo condiciones no reactivas. Sin embargo, es un hecho bien informado que la estabilidad de la enzima es diferente bajo condiciones reactivas, lo que sugiere que los sustratos y productos de la reacción afectan a su estabilidad (Villaume, 1990) (Ospina, 1992).

Una aproximación más detallada de la inactivación de la enzima es identificada por la degradación de esta en el tiempo, donde la actividad específica de cada etapa varía según las condiciones de operación de la reacción. Es por esto que se utiliza el modelo de Jurado para predecir la inactivación de la enzima por la temperatura.

El modelo se lleva a cabo en 2 etapas de inactivación en serie, siendo la primera etapa reversible y la segunda irreversible. La primera etapa (E) considera a la enzima con toda su actividad inicial, (E_h) la etapa intermedia de actividad reducida y una tercera etapa (E_d) con nula actividad de la enzima (Jurado, 2004).



La inactivación puede reflejarse por las cinéticas de cada etapa, donde cada ecuación diferencial, se expresa en función de la temperatura y concentración inicial de enzima, por medio de las constantes cinéticas:

$$\frac{dE}{dt} = -k_h E + k_{hi} E_h \quad \text{Ec. 2.23}$$

$$\frac{dE_h}{dt} = k_h E - (k_{hi} + k_d) E_h \quad \text{Ec. 2.24}$$

$$t = 0, \quad E = E_o, \quad E_h = 0 \quad \text{Ec. 2.25}$$

Para efectos de la inactivación se utilizan sales que se ionizan para favorecer o no el aumento de la estabilidad de la enzima. Si se considera un Buffer de K⁺ y Mg⁺² en leche como un estabilizador, es posible determinar las constantes cinéticas de inactivación de la enzima, las cuales dependen funcionalmente de la temperatura según Arrhenius. (Jurado, 2004).

La presencia de estos iones impulsa la actividad de la enzima por su gran tamaño. No obstante comparándolos con los iones de Na⁺ y NH₄⁺ (Garman, 1996), que al ser de menor tamaño producen cambios conformacionales en la estructura de la enzima; inactivándola. Los iones de K⁺ y Mg⁺² refuerzan la resistencia de la proteína a la inactivación térmica mediante la reducción de la flexibilidad de la cadena principal de polipéptidos.

Considerando la desnaturalización por la inactivación de la enzima, la cual se ve afectada por la temperatura, puede ser representada en el modelo de inactivación por las constantes cinéticas k_h , k_{hi} y k_d dependientes de datos experimentales, determinados en leche para distintas temperaturas según la ecuación de Arrhenius. (Santos, 1998).

$$k_h = 3,76 \cdot 10^{52} \cdot EXP\left(-\frac{38936}{T}\right) \left[\frac{1}{h}\right] \quad \text{Ec. 2.26}$$

$$k_{hi} = 3,86 \cdot 10^{-12} \cdot EXP\left(\frac{7871}{T}\right) \left[\frac{1}{h}\right] \quad \text{Ec. 2.27}$$

$$k_d = 1,14 \cdot 10^{28} \cdot EXP\left(-\frac{22883}{T}\right) \left[\frac{1}{h}\right] \quad \text{Ec. 2.28}$$

Las constantes de cinética e inactivación enzimática en función de la temperatura pueden representar los diversos perfiles de la reacción, ya sea aumentando la conversión e inactivando la enzima a medida que la temperatura aumenta. Por esta variación de la temperatura se espera un punto de inflexión en la productividad de la operación, debido a la desnaturalización de la enzima, lo que indica el óptimo productivo para diferentes temperaturas y concentraciones de enzima a utilizar en el reactor.

En la actualidad se utilizan reactores enzimáticos para convertir la lactosa de la leche. Estos deben mantener una temperatura isotérmica para que ocurra la hidrólisis, sumado a la agitación constante necesaria para mantener la mezcla homogénea. A continuación se detallan los tipos de reactores y el diseño del reactor más utilizado en la industria.

2.6. Tipos de Reactores

La mayor parte de las enzimas a nivel comercial se vincula con las aplicaciones en catalizadores de procesos. La forma tradicional de usar las enzimas en reacciones hidrolíticas es por medio de la enzima disuelta en un medio acuoso, esta tecnología sigue representando una parte importante de los procesos enzimáticos en la actualidad.

Los reactores enzimáticos pueden ser operados ya sean Batch o Continuos, aunque también se ha propuesto la operación utilizando reactores por lote alimentado con la enzima disuelta en un medio de reacción acuoso. Como muestra la Fig. 2.7. A pesar de su amplia aplicación tienen varios inconvenientes, ya que las enzimas son poco estables y difíciles de recuperar, lo que lleva a una baja productividad. (Kumar, 1996). Además, estos procesos se caracterizan por poseer un valor agregado bastante bajo, de modo que la optimización de proceso es fundamental para ser competitiva.

La baja estabilidad suele ser el factor limitante en cualquier proceso donde actúen enzimas, de tal forma que la estabilización de estas durante el funcionamiento del reactor es una preocupación importante (Ballesteros, 1998) y de entre las muchas estrategias para la estabilización de enzimas, la inmovilización de enzimas es la más relevante. (Guisán, 2006).

Las enzimas inmovilizadas se pueden utilizar en procesos por lotes donde se recupera la enzima para ser utilizada en lotes posteriores, hasta que la inactivación acumulada hace necesario reemplazar el catalizador gastado. Como consecuencia, la productividad incrementa y el diseño del reactor se vuelve flexible para adaptarse a las necesidades particulares del proceso.

Las enzimas inmovilizadas, a pesar de las complejidades introducidas por la naturaleza heterogénea del proceso catalítico, generalmente son mucho más estables que sus homólogos solubles, son fácilmente recuperados del medio de reacción y es fácil volver a utilizar, se evita la contaminación del producto con el catalizador y la operación continua se convierte en factible (Katchalsky-Katzir, 1993).

Las enzimas inmovilizadas permiten un funcionamiento continuo en los reactores ya que permiten justificar esta operación por su alta estabilidad.

A pesar de las ventajas de los procesos continuos con enzimas inmovilizadas, la industria se ha mostrado reacia a adoptarlo. La obstinación por modificar los procesos convencionales existentes, los costos asociados al control del proceso y las pérdidas de rendimiento durante la inmovilización han impedido un uso más extendido de las enzimas inmovilizadas como catalizadores de proceso. Esta situación está cambiando a medida que surgen nuevos procesos basados en la estabilidad del catalizador y el desarrollo de nuevas estrategias de inmovilización de enzimas (D'Souza, 1999).

Se han propuesto varias configuraciones de reactores para realizar los procesos catalizados por enzimas. Las operaciones por lotes con enzimas solubles se llevan a cabo principalmente en reactores de tanque agitado (BSTR).

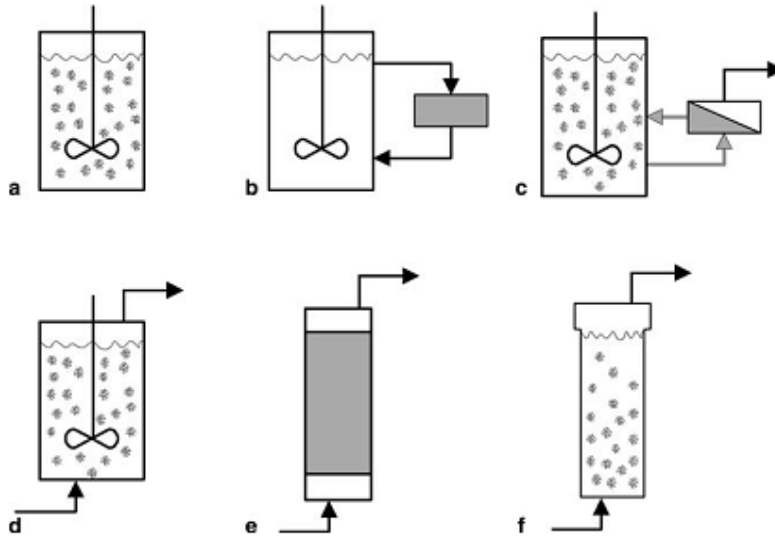


Figura 2.7: Configuraciones de reactores con enzimas inmovilizadas: A: Batch; B: Batch con recirculación; C: tanque agitado-ultrafiltración; D: continuo de tanque agitado; E: continua lecho empacado; F: Lecho fluidizado continuo.

Fuente: Enzyme Biocatalysis - Principles and Applications Illanes (2008).

Si bien el proceso actualmente llama a inmovilizar la enzima, es necesario optimizar el funcionamiento más utilizado en la industria, por lo cual, deben obtenerse los parámetros de operación óptimos utilizando la enzima soluble.

De estos reactores, aquel que puede operar con enzimas solubles es un reactor por lotes, donde la carga del catalizador va a depender de la actividad específica de este, la cual va a estar determinada por la enzima comercial que se utilice. Este factor es fundamental para determinar la cantidad de enzima de cada lote del reactor.

De aquí nace el requerimiento de dimensionar el equipo, tomando en cuenta los parámetros de operación para alcanzar la conversión de lactosa deseada.

2.7. Diseño de reactor por lotes

2.7.1. Reactor Batch agitado

El reactor Batch agitado se caracteriza por operar mediante cargas o lotes sucesivos, estos lotes dependen de un tiempo de operación donde ocurre la reacción, con el fin de satisfacer una demanda de leche a convertir. Cada carga del reactor Batch va a estar representada por dos fases de operación, donde:

Fase 1: (Calentamiento): Se carga el reactor con leche refrigerada, elevando la temperatura del reactor por un cierto tiempo, mediante el uso de vapor hasta alcanzar la temperatura de operación.

Fase 2: (Reacción): Se mantiene la temperatura en un régimen isotérmico mediante el uso de vapor, mientras se produce la reacción endotérmica de hidrólisis enzimática en la leche.

El reactor Batch utiliza vapor saturado de servicio proveniente de una chaqueta adiabática para entregar el calor requerido para la operación. Bajo esta perspectiva se define el sistema chaqueta-pared (S1), en el cual el vapor entrega el calor requerido para elevar la temperatura de la pared del reactor hasta la temperatura de operación. Y el sistema pared-reactor (S2), en el cual el vapor entrega el calor requerido para elevar la temperatura de la leche hasta la temperatura de operación, como muestra la Fig. 2.8:

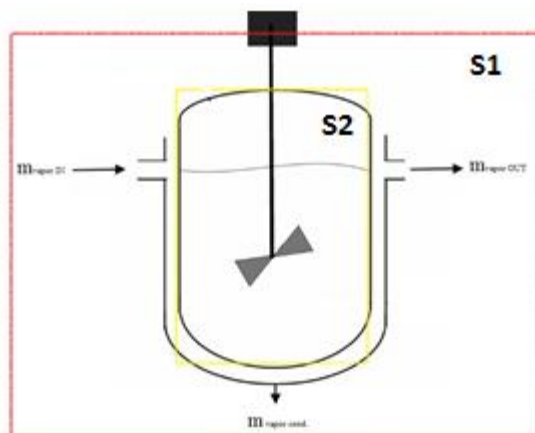


Figura 2.8: Definición sistemas reactor por lotes: (S1) sistema chaqueta: interior chaqueta – pared reactor. (S2) sistema reactor: pared reactor – interior reactor.

Para calcular la masa de vapor utilizada en la operación del reactor, es necesario plantear los balances necesarios para cada fase.

2.7.2. Fase 1: Calentamiento

Sistema Chaqueta

Balance de Energía

En el sistema (S1) el vapor produce un intercambio de calor entre el vapor saturado y la pared del reactor en contacto con la leche refrigerada, donde:

$$\text{Energía Entrada} - \text{Energía Salida} + \text{Calor Transferido} = \text{Energía Acumulada}$$

Se consideran las siguientes suposiciones para la formulación del balance de energía del reactor por lotes:

- 1- La temperatura de entrada del vapor saturado en el reactor Batch es igual a la temperatura de salida del vapor. Entonces, la energía acumulada es despreciable.
- 2- Coeficiente global de transferencia de calor es constante para el proceso y en toda la superficie.
- 3- Calor específico constante para el proceso.
- 4- La agitación produce temperatura uniforme en el reactor.
- 5- No hay cambios parciales de fase.
- 6- Las pérdidas de calor son despreciables.

Entonces, el balance de energía en la chaqueta se escribe como:

$$E_{vo} - E_{vf} + (-)Q_{cal\ 1} = 0 \quad \text{Ec. 2.29}$$

Donde:

$$\dot{m}_{vo} \cdot H_{vo} - \dot{m}_{vf} \cdot H_{vf} + (-)Q_{cal\ 1} = 0 \quad \text{Ec. 2.30}$$

$$(-)Q_{cal\ 1} = \dot{m}_v \cdot \Delta H_v = \dot{m}_v \cdot \lambda_v \quad \text{Ec. 2.31}$$

Además:
$$Q_{cal\ 1} = U \cdot A \cdot (T_v - T(t)) \quad \text{Ec. 2.32}$$

Donde:

\dot{m}_{vo} = Flujo másico de vapor que ingresa al reactor.

H_{vo} = Entalpía de reacción de masa de vapor que ingresa al reactor.

\dot{m}_{vf} = Flujo másico de vapor que sale del reactor.

H_{vf} = Entalpía de reacción de masa de vapor que sale del reactor.

$Q_{cal\ 1}$ = Calor transferido por el vapor saturado desde la chaqueta hacia la pared del reactor.

λ_v = Calor latente para el cambio de fase del vapor saturado.

U = Coeficiente global de transferencia de calor.

A = Área transversal del reactor Batch.

T_v = Temperatura vapor saturado.

$T(t)$ = Variable de temperatura en un determinado tiempo.

Sistema Reactor**Balance de Materia**

Examinando el sistema (S2) entre la pared del reactor y el interior del reactor, el balance de materia que representa la conversión del sustrato en el reactor, se escribe como:

$$\textit{Entrada} - \textit{Salida} + \textit{Consumo} = \textit{Acumulación}$$

Considerando un estado estacionario, la entrada y la salida de leche en el reactor es despreciable, mientras que un análisis para consumo del sustrato y la acumulación de materia en el sistema, fue representado por:

$$\textit{Consumo} = \textit{Acumulación}$$

$$\frac{-dS}{dt} = v(t) \quad \text{Ec. 2.33}$$

Siendo $\frac{dS}{dt}$ el consumo del sustrato en el tiempo de operación para alcanzar una conversión deseada y $v(t)$ la velocidad de reacción en el sistema.

Integrando por partes los términos de la ecuación anterior, se puede calcular el tiempo de operación para alcanzar la conversión deseada en el reactor:

$$\int \frac{S_0 dX}{-v(t)} = t_{op} \quad \text{Ec. 2.34}$$

La cinética se basa en las ecuaciones de Jurado para la hidrólisis enzimática de lactosa en leche, donde es posible ver el comportamiento de la reacción al variar la temperatura y concentración de enzima, por medio de las curvas de conversión.

Balance de Energía

En el sistema (S2) la leche refrigerada absorbe el calor proveniente de la pared del reactor. Considerando las siguientes suposiciones:

- 1- En el proceso por lotes, la entrada y salida de energía al sistema S2 es despreciable.
- 2- La masa de leche en el lote es constante.
- 3- La energía cinética y potencial es despreciable en la acumulación de energía del sistema. (Energía acumulada es igual a la energía interna del sistema).
- 4- La variación de presión en el sistema es despreciable.

Entonces el balance de energía puede definirse como:

$$\text{Calor Transferido} = \text{Energía Acumulada}$$

$$(+)\dot{Q}_{cal\ 1} = \frac{d(m_L \cdot E)}{dt} \quad \text{Ec. 2.35}$$

Donde:

$$\frac{d(m_L \cdot E)}{dt} = m_L \cdot \frac{d(U_I)}{dt} = m_L \cdot \frac{d(H - P \cdot V)}{dt} = \rho_L \cdot V_R \cdot C_{pL} \cdot \frac{dT}{dt} \quad \text{Ec. 2.36}$$

$$(+)\dot{Q}_{cal\ 1} = \rho_L \cdot V_R \cdot C_{pL} \cdot \frac{dT}{dt} \quad \text{Ec. 2.37}$$

Donde:

$\frac{d(m_L \cdot E)}{dt}$ = Variación de energía acumulada en el tiempo.

m_L = Masa de leche constante en el proceso.

U_I = Energía interna acumulada en el sistema

H = Entalpía de reacción para la leche.

P = Presión en el sistema.

V = Volumen procesado en el sistema.

$\frac{dT}{dt}$ = Variación de temperatura en el tiempo.

Con los balances de energía del S1 y S2, es posible relacionar la masa de vapor a utilizar en la chaqueta con el calor transferido al fluido dentro del reactor. Obteniendo una expresión para la masa de vapor en función del tiempo de calentamiento (t_{cal}) y la temperatura de la primera fase de operación.

Donde:

$$\dot{m}_{vo}(t) \cdot \lambda_v = \rho_L \cdot V_R \cdot Cp_L \cdot \frac{dT}{dt} \quad \text{Ec. 2.38}$$

Integrando por partes la ecuación anterior:

$$\int_0^{t_{cal}} \dot{m}_{vo}(t) \cdot \lambda_v dt = \int_{T_L}^{T_{op}} \rho_L \cdot V_R \cdot Cp_L \cdot dT \quad \text{Ec. 2.39}$$

Entonces la masa de vapor para la fase de calentamiento es:

$$m_{v(Fase\ 1)} = \dot{m}_{vo} \cdot t_{cal} = \frac{\rho_L \cdot V_R \cdot Cp_L}{\lambda_v} \cdot (T_{op} - T_L) \quad \text{Ec. 2.40}$$

El tiempo de calentamiento necesario para inyectar esta cantidad de masa de vapor puede obtenerse de la Ec. 2.32 y la Ec. 2.37.

Donde:

$$\rho_L \cdot V_R \cdot Cp_L \cdot \frac{dT}{dt} = U \cdot A \cdot (T_v - T(t)) \quad \text{Ec. 2.41}$$

Integrando por partes la Ec. 2.41, desde la temperatura inicial del reactor (T_L) hasta la temperatura de operación (T_{op}), en el tiempo de calentamiento:

$$\int_0^{t_{cal}} \frac{U \cdot A}{\rho_L \cdot V_R \cdot Cp_L} \cdot dt = \int_{T_L}^{T_{op}} \frac{dT}{(T_v - T(t))} \quad \text{Ec. 2.42}$$

Donde el tiempo de calentamiento se define como:

$$t_{cal} = Ln \left(\frac{T_v - T_{op}}{T_v - T_L} \right) \cdot \frac{\rho_L \cdot V_R \cdot CpL}{U \cdot A} \quad \text{Ec. 2.43}$$

El coeficiente global de transferencia de calor (U) se define como:

$$\frac{1}{U} = \frac{1}{h} + \frac{\epsilon}{k_{material}} \quad \text{Ec. 2.44}$$

Donde h es el coeficiente convectivo de transferencia de calor, ϵ es el espesor de la chaqueta y $k_{material}$ es la conductividad del material del reactor a 20°C.

Para calcular h se considera:

$$\frac{h \cdot D_j}{k_{fluido}} = a \cdot \left(\frac{Lp^2 \cdot N_r \cdot \rho_{fluido}}{\mu_{fluido}} \right)^b \cdot \left(\frac{C_v \cdot \mu_{fluido}}{k_{fluido}} \right)^{\frac{1}{3}} \cdot \left(\frac{\mu_{fluido}}{\mu_w} \right)^m \quad \text{Ec. 2.45}$$

Donde (D_j) es el diámetro externo del reactor, (L_p) es diámetro del agitador, (N_r) el número de revoluciones por minuto a utilizar, y (ρ_{fluido}), (μ_{fluido}), (μ_w), son la densidad, viscosidad del fluido y viscosidad del agua respectivamente. (Levenspiel, 1987).

Las relaciones dimensionales de un reactor agitado son:

$$\frac{H}{D_j} = 3 \quad \frac{L_p}{D_j} = \frac{1}{3} \quad \frac{J}{D_j} = \frac{1}{10} \quad \text{Ec. 2.46}$$

Donde (H) es la altura del reactor y (J) el tamaño de los flanges, parámetros fundamentales en el diseño del reactor por lotes. Para determinar los coeficientes a, b y m, se define el tipo de agitador a utilizar en el reactor. Normalmente en las industrias lácteas se utilizan agitadores de turbina de discos con 6 palas planas para Reynolds entre 4.000 y 100.000, donde: a = 0,54; b = 2/3 y m = 0,14 (Perry, 2008).

El reactor consta de una pared adiabática que evita las pérdidas de energía al ambiente. La agitación es realizada por una turbina de discos con 6 palas planas utilizando 4 deflectores para amortizar los volúmenes muertos del flujo turbulento. (Perry, 2008).

2.7.3. Fase 2: Reacción

Esta etapa considera una operación bajo un régimen isotérmico, esto permite trabajar a la temperatura necesaria para la reacción en el reactor Batch.

S1: Sistema Chaqueta

Balance de Energía

En el S1 el calor transferido por el vapor saturado desde la chaqueta hacia la pared del reactor, tiene como objeto mantener la temperatura de operación constante dentro del reactor. El balance considera despreciable la acumulación de energía ya que la temperatura del vapor saturado no varía en el tiempo. Por lo cual, puede representarse por la Ec. 2.31 y Ec. 2.32. del balance de energía para la fase de calentamiento.

S2: Sistema Reactor

Al igual que en la fase 1, el balance de materia es el mismo para el sistema pared del reactor en contacto con el fluido. Determinando la cinética de reacción en función de la conversión del sustrato inicial.

Balance de Energía

En el S2 el calor transferido está representado por el calor cedido desde la pared del reactor hacia el fluido y por el calor absorbido por la reacción enzimática. Sumado a que el balance considera despreciable la acumulación de energía por el régimen isotérmico.

Donde:

$$(+)\dot{Q}_{cal 2} + \dot{Q}_{rx} = \frac{d(m_L E)}{dt} = 0 \quad \text{Ec. 2.47}$$

Con los balances de energía del S1 y S2, es posible relacionar la masa de vapor a utilizar en la chaqueta con el calor transferido al fluido para mantener el régimen isotérmico. Obteniendo una expresión para la masa de vapor en función del calor de reacción en la segunda fase de operación.

Donde:

$$(+)Q_{cal\ 2} = (-)Q_{rx} \quad \text{Ec. 2.48}$$

$$\dot{m}_{vo} \cdot \lambda_v = (-)(-\Delta H_{rx}) \cdot V_R \cdot v(t) \quad \text{Ec. 2.49}$$

La diferencia de entalpía depende funcionalmente de la temperatura, por su relación con la capacidad calorífica del fluido (ΔCp_0), mientras que la cinética de reacción depende de la conversión dinámica del sustrato en el tiempo ($v(t)$), considerando una inactivación enzimática de primer orden.

La entalpía de reacción se define como:

$$(\Delta H_{rx}) = \Delta H_0 + \Delta Cp_0(T_{op} - T_0) \quad \text{Ec. 2.50}$$

Donde:

$$\Delta H_0 = 0,44 \left[\frac{KJ}{mol} \right] \quad \Delta Cp_0 = 0,009 \left[\frac{KJ}{mol.K} \right] \quad (\text{Golberg, 1989})$$

Entonces es posible definir la masa de vapor para mantener la reacción endotérmica de hidrólisis de lactosa bajo un régimen isotérmico como:

$$\dot{m}_{vo\ (Fase\ 2)} = \frac{(\Delta H_{rx}) \cdot V_R \cdot v(t)}{\lambda_v} \quad \text{Ec. 2.51}$$

$$m_{v(Fase\ 2)} = \dot{m}_{vo\ (Fase\ 2)} \cdot t_{op} \quad \text{Ec. 2.52}$$

Esta energía requerida tanto para el calentamiento como para la reacción endotérmica de las enzimas, permite estimar la masa de vapor total entregada por la chaqueta, donde:

$$m_{v(Total)} = \int_0^{t_{cal}} \dot{m}_{vo\ (Fase\ 1)} dt + \int_0^{t_{op}} \dot{m}_{vo\ (Fase\ 2)} dt \quad \text{Ec. 2.53}$$

$$m_{v(Total)} = m_{v(Fase\ 1)} + m_{v(Fase\ 2)} \quad \text{Ec. 2.54}$$

CAPITULO 3

OBJETIVOS

3. Objetivos

El objetivo general del presente estudio es determinar las condiciones óptimas de operación de un reactor por lotes para hidrolizar lactosa de la leche utilizando la enzima β -galactosidasa soluble, por medio de una simulación matemática de un modelo de hidrólisis enzimática.

Los objetivos específicos que plantea la investigación son:

- Evaluar el efecto de la temperatura y concentración de enzima sobre las curvas de conversión.
- Evaluar el efecto de la temperatura, la concentración inicial de enzima y el volumen del reactor sobre las ganancias, costos de operación y utilidades.
- Maximizar la utilidad y minimizar costos en función de la temperatura y concentración de enzima.

CAPITULO 4

METODOLOGÍA

4. Metodología

La metodología consistió en la determinación del comportamiento de un reactor por lotes, basado en el modelo de Michaelis - Menten modificado para la cinética de reacción en la hidrólisis enzimática de la lactosa en leche. (Jurado, 2004). El modelo cinético se encuentra en función de la concentración inicial de sustrato y concentración inicial de enzima. Las constantes cinéticas y termodinámicas están en función de la temperatura.

Se determinaron curvas de conversión donde se calculó la productividad volumétrica y los costos asociados a cada operación. Se trabajó con una conversión del 30% para generar leche destinada a la producción de manjar reducido en lactosa y una conversión del 90% para producir manjar deslactosado.

La determinación de las curvas de conversión se resolvió por una integración analítica, donde se obtuvo el tiempo de operación de cada lote del reactor para una conversión determinada. El tiempo de operación permitió realizar un análisis de la productividad volumétrica y costos de insumos en función de la temperatura y la concentración de enzima.

Se desarrollaron funciones de costo y utilidad en función de los parámetros de operación para calcular las variables de operación de temperatura y concentración inicial de enzima. Como muestra la Fig. 4.1, la estrategia de resolución considera las funciones de costo de enzima, costo de agitación, costo en vapor, costo de leche y ganancia, en función del tiempo de operación como parámetro de operación y las variables temperatura, concentración inicial de enzima, concentración inicial de lactosa y volumen de reactor. Estas funciones fueron representadas por gráficos de productividad volumétrica, costos de insumos y utilidad, en rangos de operación para cada variable, donde se determinó el valor óptimo de temperatura y concentración inicial de enzima para la máxima productividad, mínimos costos y máxima utilidad.

4.1. Modelo Hidrólisis Enzimática

Se determinaron las curvas de conversión a un 30% y 90% mediante la integración analítica del balance de materia transiente del reactor por lotes, para determinar el tiempo de operación en función de la temperatura y la concentración inicial de enzima

4.1.1. Curvas de conversión

Método analítico

Consta de una integración por partes de la ecuación de cinética de consumo del sustrato lactosa, junto a la integración de la ecuación de inactivación enzimática en primer orden:

$$\int_{S_0}^S \frac{(K_m+P+S)}{S} dS = \int_0^t (k_{cat}(T) \cdot (E_0 \cdot e^{-k_d \cdot t})) dt \quad \text{Ec. 4.1}$$

Obteniendo el tiempo de operación en función de la temperatura, concentración de enzima y conversión de lactosa:

$$t_{op} = \frac{-\ln\left(1 + \frac{k_d(T)}{(k_{cat}(T) \cdot E_0)} (K_m(T) + S_0) \cdot \ln(1-X)\right)}{k_d(T)} \quad \text{Ec. 4.2}$$

Donde las constantes de equilibrio (K_m , k_{cat} , k_d) de la cinética enzimática en función de la temperatura (T) son:

$$K_m(T) = 2,78 \cdot 10^2 \cdot \text{EXP}\left(-\frac{3203,6}{T}\right) \left[\frac{1}{h}\right] \quad \text{Ec. 4.3}$$

$$k_{cat}(T) = 2,74 \cdot 10^7 \cdot \text{EXP}\left(-\frac{5636,3}{T}\right) \left[\frac{1}{h}\right] \quad \text{Ec. 4.4}$$

$$k_d(T) = 1,661 \cdot 10^{59} \cdot \text{EXP}\left(-\frac{44992}{T}\right) \left[\frac{1}{h}\right] \quad \text{Ec. 4.5}$$

Se utilizó el tiempo de vida media en el cual la actividad enzimática disminuye a la mitad, como una comparación con el tiempo de operación de la reacción enzimática. Considerando el modelo de inactivación de primer orden como:

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k_d} \quad \text{Ec. 4.6}$$

Una vez definido el tiempo de operación en función de la temperatura y concentración inicial de enzima, se determinó la productividad volumétrica (Qx) según el sustrato inicial (S_0) y la conversión (X) deseada, según el tiempo de operación de la reacción, considerando un 20% de este tiempo como el tiempo de carga y descarga de cada lote:

$$Qx = \frac{S_0 \cdot X}{t_{op}(T, E_0) + t_{carga} + t_{descarga}} \quad \text{Ec. 4.7}$$

Donde se define la productividad volumétrica en función de la temperatura y la concentración de enzima como:

$$Qx = \frac{S_0 \cdot X}{\left(\frac{-\ln\left(1 + \frac{k_d(T)}{k_{cat}(T) \cdot (E_0) \cdot (K_m(T) + S_0)} \cdot \ln(1-X)\right)}{k_d(T)} \right) + t_{carga} + t_{descarga}} \quad \text{Ec. 4.8}$$

El tiempo de operación permite determinar la cantidad de energía utilizada en vapor y agitación por el reactor. Una representación matemática detallada de la utilidad en función de la ganancia y costos de operación es fundamental para determinar un valor óptimo de temperatura y concentración inicial de enzima.

4.2. Estudio Económico de operación en el reactor

La metodología consideró el estudio de las variables de volumen del reactor, temperatura y concentración de enzima sobre las ganancias y costos operacionales de los principales insumos en el reactor.

4.2.1. Ganancia producida por la operación del reactor

La ganancia fue determinada por la cantidad de producto hidrolizado convertido en el reactor y el precio del manjar. La masa de manjar deslactosado fue determinada por el volumen del reactor (V_R) y la densidad del manjar (ρ_{Manjar}) de 1030 [g/L], mientras que el precio del manjar que se utilizó para la investigación fue de 1,720 [\$/g] de Eckart (Esnaola, Victor, 2015).

$$\frac{Ganancias[\$]}{V_R[L]} = \rho_{Manjar} \left[\frac{g}{L} \right] \cdot P_{Producto} \left[\frac{\$}{g} \right] \quad \text{Ec. 4.9}$$

Esta ecuación representa el comportamiento de la ganancia en función de un volumen unitario de reactor como variable del estudio económico.

Para realizar el estudio de los costos de operación del reactor Batch en la hidrólisis de lactosa, se consideró que los costos de inversión y los costos de los procesos adicionales para producir el manjar representan aproximadamente un 85% de la utilidad de cada lote procesado en la fábrica (Rodríguez, 2016).

4.2.2. Costos de operación del reactor

Los costos de operación fueron determinados por la cantidad de enzima a utilizar, la cantidad de energía eléctrica consumida por la agitación en el reactor, la cantidad de calor para el calentamiento y reacción entregada por el vapor saturado como fluido de servicio en la chaqueta del reactor y el costo de la leche pagada al productor.

Costo de Enzima

La cantidad de enzima requerida para alimentar el reactor depende de la cantidad de leche a hidrolizar, reflejada en el volumen del reactor. Este es uno de los principales gastos en la operación del reactor, debido a que la enzima debe renovarse con cada carga en el reactor.

De esta forma el costo de enzima fue calculado a partir de la concentración de enzima (E_0) utilizando valores en el rango entre 0,5 - 2 [g/L], así también, el volumen del reactor utilizando valores en el rango entre 100 - 2000[L] y el precio de la enzima, considerando el precio de la enzima comercial de 50 [USD/Kg] o 33,578[\$/g]. (Habio, 2016)

$$\frac{\text{Costo Enzima [\$]}}{V_R[L]} = E_0 \left[\frac{g}{L} \right] \cdot P_{Enzima} \left[\frac{\$}{g} \right] \quad \text{Ec. 4.10}$$

Costo en Agitación

El costo de agitación fue representado por el consumo eléctrico al agitar el reactor, determinado por la potencia (P), el tiempo de operación (t_{op}) en función de la temperatura y concentración de enzima y el precio de la energía eléctrica el cual considera el nudo para la V Región de 78,92 [USD/MWh] (CNE, 2016).

$$\text{Costo Agitación}[\$] = P[KW].t_{op}[h].P_{E.E} \left[\frac{\$}{KWh} \right] \quad \text{Ec. 4.11}$$

La potencia fue representada como la presencia o ausencia de turbulencia en un recipiente agitado mediante un impulsor, caracterizado por el número de Reynolds (Re). Este factor adimensional indicó en qué régimen se está trabajando en la agitación. Fue posible relacionar el movimiento de fluido con la potencia a utilizar en el agitador según las correlaciones de potencia, que indican cual será la potencia a utilizar dependiendo del tipo de agitador y el régimen para la mezcla.

De esta manera el consumo de potencia se relacionó con la densidad del fluido (ρ), viscosidad (μ), número de revoluciones (Nr) y diámetro del impulsor (Lp) mediante el gráfico de número de potencia en función del número de Reynolds. En el gráfico del Anexo 1 se presentan líneas típicas de correlación para impulsores que se utilizan con líquidos no newtonianos contenidos en recipientes cilíndricos con deflectores (Perry, 2008), donde se obtuvo el número de potencia para un Reynolds en régimen turbulento.

El valor de Reynolds depende directamente del diámetro del agitador (Lp), por lo tanto del volumen del reactor (V_R) (Ec.3.42). Considerando que el rango de volumen varía entre 0,1 - 2 [m³], se apreció gráficamente que el número de potencia (Np) no cambió al alcanzar el estado estacionario de agitación turbulenta.

$$Np = \frac{P}{Nr^3.Lp^5.\rho} = 5 \quad \text{Ec. 4.12}$$

Para un Reynolds constante el número de revoluciones depende del diámetro del agitador, por lo tanto del volumen del reactor. Al variar el volumen del reactor también lo hace el régimen turbulento, pero si varían las RPM es posible estabilizar el régimen manteniendo la operación con agitación constante:

$$Nr = \frac{\mu.Re}{\rho.Lp^2} = \frac{\mu.Re}{\rho.\left(\frac{4.V_R}{81\pi}\right)^{\frac{2}{3}}} \quad \text{Ec. 4.13}$$

De esta forma, expresando el número de revoluciones en función del volumen del reactor, es posible determinar una relación de potencia en función del volumen de reactor:

$$P = \frac{Np.\mu^3.Re^3}{\rho^2.Lp} = \frac{Np.\mu^3.Re^3}{\rho^2.\left(\frac{4.V_R}{81\pi}\right)^{\frac{1}{3}}} \quad \text{Ec. 4.14}$$

Con el cual fue posible determinar la potencia requerida y así el costo en agitación en función del volumen de reactor, concentración de sustrato, temperatura y concentración de enzima, donde:

$$\text{Costo Agitación}[\$] = \left(\frac{Np.\mu^3.Re^3}{\rho^2.\left(\frac{4.V_R}{81\pi}\right)^{\frac{1}{3}}} \right) \cdot \left(\frac{-\ln\left(1 + \frac{kd(T)}{(k_{cat}(T).(E_o)})(Km(T)+S_0).Ln(1-X)\right)}{kd(T)} \right) \cdot P_{E.E} \quad \text{Ec. 4.15}$$

Costo en calor de calefacción

El costo de energía para elevar y mantener la temperatura de operación en el reactor, se evaluó en función del volumen del reactor, concentración de sustrato, temperatura y concentración inicial de enzima. Los parámetros de la ecuación corresponden al calor requerido dado por la masa de vapor para ambas fases de calentamiento y reacción ($m_{v(Total)}$) según el tiempo de operación de cada fase y el precio del vapor, considerando que la caldera que lo produce trabaja con gas natural, estimando el precio del vapor en 20[USD/Ton] de vapor. (CNE, 2016).

$$\text{Costo Vapor } [\$] = m_{v(Total)} [Kg] \cdot P_{Vapor} \left[\frac{\$}{Kg} \right] \quad \text{Ec. 4.16}$$

Para determinar la masa de vapor se utilizó el balance de energía para los sistemas entre la chaqueta y el reactor. Estos balances permitieron determinar la masa de vapor, para ambas fases de operación en el reactor.

En la fase 1, la masa de vapor se obtuvo por la transferencia de energía para calentar la mezcla refrigerada hasta la temperatura de operación. Por el tiempo de calentamiento dado por la integración analítica del balance de energía del reactor Batch.

Mientras que en la fase 2, la masa de vapor se obtuvo por la transferencia de energía para mantener la reacción bajo un régimen isotérmico. Por el tiempo de operación en que ocurre la reacción de hidrólisis.

Fase 1: (Calentamiento)

La masa de vapor para calentar la leche hasta la temperatura de operación, fue representada en función del volumen del reactor y la temperatura, por el flujo de vapor por el tiempo de calentamiento.

Donde:

$$m_{v0} = \dot{m}_{v0} \cdot t_{cal} \quad \text{Ec. 4.17}$$

$$\dot{m}_{v0} = \left(\frac{\rho_L \cdot V_R \cdot C_{pL} \cdot (T_{op} - T_0)}{\lambda_v} \right) \quad \text{Ec. 4.18}$$

Para determinar el tiempo de calentamiento, se integró analíticamente el balance de energía en el reactor Batch, donde:

$$t_{cal} = Ln \left(\frac{T_v - T_{op}}{T_v - T_0} \right) \cdot \frac{\rho_L \cdot V_R \cdot C_{pL}}{U \cdot A} \quad \text{Ec. 4.19}$$

El coeficiente de transferencia de calor (U) se escribió en función del volumen del reactor (V_R), como:

$$U \cdot A = \left(\frac{h \cdot k_{TK}}{k_{TK} + \varepsilon \cdot h} \right) \cdot \left(\frac{V_R}{H} \right) \quad \text{Ec. 4.20}$$

Donde:

$$h = 0,14 \cdot k_L \cdot V_R^{\frac{1}{9}} \cdot \left(\frac{Nr \cdot \rho_L}{\mu_L} \right)^{\frac{2}{3}} \cdot \left(\frac{C_P \cdot \mu_L}{k_L} \right)^{\frac{1}{3}} \cdot \left(\frac{\mu_L}{\mu_w} \right)^{0,14} \quad \text{Ec. 4.21}$$

$$H = 3 \cdot \left(\frac{4 \cdot V_R}{3\pi} \right)^{\frac{1}{3}} \quad \text{Ec. 4.22}$$

Entonces:

$$U \cdot A = \frac{0,14 \cdot k_L \cdot k_{TK} \cdot \left(\frac{Nr \cdot \rho_L}{\mu_L} \right)^{\frac{2}{3}} \cdot \left(\frac{C_P \cdot \mu_L}{k_L} \right)^{\frac{1}{3}} \cdot \left(\frac{\mu_L}{\mu_w} \right)^{0,14} \cdot V_R^{\frac{1}{9}}}{k_{TK} + 0,14 \cdot k_L \cdot \varepsilon \cdot \left(\frac{Nr \cdot \rho_L}{\mu_L} \right)^{\frac{2}{3}} \cdot \left(\frac{C_P \cdot \mu_L}{k_L} \right)^{\frac{1}{3}} \cdot \left(\frac{\mu_L}{\mu_w} \right)^{0,14} \cdot V_R^{\frac{1}{9}}} \quad \text{Ec. 4.23}$$

Donde:
$$a = 0,14 \cdot k_L \cdot k_{TK} \cdot \left(\frac{Nr \cdot \rho_L}{\mu_L}\right)^{\frac{2}{3}} \cdot \left(\frac{C_P \cdot \mu_L}{k_L}\right)^{\frac{1}{3}} \cdot \left(\frac{\mu_L}{\mu_w}\right)^{0,14}$$
 Ec. 4.24

$$b = 0,14 \cdot k_L \cdot \varepsilon \cdot \left(\frac{Nr \cdot \rho_L}{\mu_L}\right)^{\frac{2}{3}} \cdot \left(\frac{C_P \cdot \mu_L}{k_L}\right)^{\frac{1}{3}} \cdot \left(\frac{\mu_L}{\mu_w}\right)^{0,14}$$
 Ec. 4.25

Finalmente:

$$U \cdot A = \left(\frac{a \cdot V_R^{\frac{1}{9}}}{k_{TK} + b \cdot V_R^{\frac{1}{9}}}\right) \cdot \left(\frac{V_R}{3 \cdot \left(\frac{4 \cdot V_R}{3\pi}\right)^{\frac{1}{3}}}\right)$$
 Ec. 4.26

Donde (k_L) es la conductividad de la leche, (k_{TK}) la conductividad del tanque, (Nr) es el número de revoluciones del agitador, (ρ_L , μ_L , C_P) son la densidad, viscosidad y poder calorífico de la leche respectivamente, mientras que μ_w es la viscosidad del agua.

Luego el tiempo de calefacción se define como:

$$t_{cal} = \left(\ln \left(\frac{T_v - T_{op}}{T_v - T_0} \right) \cdot \frac{\rho_L \cdot V_R \cdot C_{pL}}{\left(\frac{a \cdot V_R^{\frac{1}{9}}}{k_{TK} + b \cdot V_R^{\frac{1}{9}}}\right) \cdot \left(\frac{V_R}{3 \cdot \left(\frac{4 \cdot V_R}{3\pi}\right)^{\frac{1}{3}}}\right)} \right)$$
 Ec. 4.27

Entonces el costo de calefacción para la fase 1 de calentamiento queda escrito como:

$$m_{v(Fase\ 1)} = \left(\frac{\rho_L \cdot V_R \cdot C_{pL} \cdot (T_{op} - T_0)}{\lambda_v}\right) \cdot \left(\ln \left(\frac{T_v - T_{op}}{T_v - T_0} \right) \cdot \frac{\rho_L \cdot V_R \cdot C_{pL}}{\left(\frac{a \cdot V_R^{\frac{1}{9}}}{k_{TK} + b \cdot V_R^{\frac{1}{9}}}\right) \cdot \left(\frac{V_R}{3 \cdot \left(\frac{4 \cdot V_R}{3\pi}\right)^{\frac{1}{3}}}\right)} \right)$$
 Ec. 4. 28

Fase 2: (Reacción)

Una vez que la leche ya se encuentra a la temperatura de operación en el reactor, es mezclada con la enzima soluble. La enzima debe mantener esta temperatura por el tiempo de operación requerido para convertir la lactosa, para ello se utiliza vapor saturado como fluido de servicio en la chaqueta, lo cual permite entregar la energía suficiente para mantener un régimen isotérmico de la reacción endotérmica de conversión enzimática.

Se determinó la masa de vapor para el calor de reacción de la segunda etapa en función de la temperatura, concentración de enzima y volumen de reactor.

$$\dot{m}_{vo (Fase\ 2)} \cdot \lambda_v - (\Delta H_{rx}(T)) \cdot V_R \cdot v(t) = \frac{d(m_{L,E})}{dt} \quad \text{Ec. 4.29}$$

Para mantener un régimen isotérmico debe cumplirse que:

$$\frac{d(m_{L,E})}{dt} = 0 \quad \text{Ec. 4.30}$$

Entonces se definió la masa de vapor para la fase 2 como:

$$\dot{m}_{vo (Fase\ 2)} = \frac{(\Delta H_{rx}(T)) \cdot V_R \cdot v(t)}{\lambda_v} \quad \text{Ec. 4.31}$$

Escribiendo cada término de la masa de vapor para la reacción en función de las variables de estudio, se obtuvo:

$$\dot{m}_{vo (Fase\ 2)} = (\Delta H_0 + \Delta Cp_0(T_{op} - T_0)) \cdot V_R \cdot \frac{k_{cat}(T^\circ) \cdot E(t) \cdot [S]}{K_m(T^\circ) + [P] + [S]} \quad \text{Ec. 4.32}$$

Por el balance de energía de la fase 2, se obtuvo la ecuación para el flujo másico de vapor en función del calor de reacción:

$$\dot{m}_{vo (Fase\ 2)} = \frac{(\Delta H_0 + \Delta Cp_0(T_{op} - T_0)) \cdot V_R \cdot \frac{k_{cat}(T) \cdot E_0 \cdot e^{(-kd(T) \cdot t_{op})} \cdot S_0(1-X)}{K_m(T) + S_0 \cdot X + S_0(1-X)}}{\lambda_v} \quad \text{Ec. 4.33}$$

Entonces fue posible definir la ecuación que representa la masa de vapor de la fase 2 en función de las variables de estudio como:

$$m_{v(Fase\ 2)} = \left(\frac{(\Delta H_0 + \Delta C p_0 (T_{op} - T_0)) \cdot V_R \cdot \frac{k_{cat}(T) \cdot E_0 \cdot e}{K m(T) + S_0 \cdot X + S_0(1-X)} \cdot S_0(1-X)}{\lambda_v} \cdot \left(-kd(T) \cdot \left(\frac{-Ln\left(1 + \frac{kd(T)}{(k_{cat}(T) \cdot (E_0))} (K m(T) + S_0) \cdot Ln(1-X)\right)}{kd(T)} \right) \right) \right) \cdot \left(\frac{-Ln\left(1 + \frac{kd(T)}{(k_{cat}(T) \cdot (E_0))} (K m(T) + S_0) \cdot Ln(1-X)\right)}{kd(T)} \right) \quad Ec. 4.34$$

Luego la masa de vapor total ingresada al reactor, se definió como:

$$m_{v(Total)} = (m_{v(Fase\ 1)} + m_{v(Fase\ 2)}) \quad Ec. 4.35$$

Determinando el costo en vapor por el calor transferido desde la chaqueta al reactor, considerando el proceso de calentamiento y reacción como una función del volumen de reactor, la temperatura de operación y la concentración de enzima.

Costos Leche pagada al productor

El costo de la cantidad de leche utilizada por cada carga del reactor con el fin de satisfacer la demanda del producto hidrolizado depende de la demanda de leche convertida, el tiempo de operación en función de la temperatura y concentración de enzima, junto al precio de la leche pagada al productor evaluada en 220[\$/L] de leche (ODEPA 2014).

$$Costo\ Leche\ [\$] = V_R[L] \cdot P_{Leche} \left[\frac{\$}{L} \right] \quad Ec. 4.36$$

Utilidad

Se planteó una función objetivo de utilidad compuesta por las ganancias producidas por la venta de manjar y los costos de insumos asociados al proceso de hidrólisis de la lactosa en la leche para producir el manjar. El objeto de esta función es maximizarla para determinar el valor óptimo las variables de temperatura (T), concentración de enzima (E_0), concentración de sustrato (S_0) y volumen de reactor (V_R), para una determinada conversión de lactosa (X). Representado por la productividad volumétrica (Q_x) en base a un modelo cinético de reacción considerando una determinada conversión de lactosa (X).

De esta forma la función utilidad se definió como:

$$Utilidad = Ganancia - Costos\ Enzima - Costos\ Agitación - Costos\ Vapor - Costos\ Leche.$$

Expresando la utilidad en función de la temperatura, concentración de enzima, concentración de sustrato lactosa, conversión de lactosa y volumen de reactor:

$$Utilidad[\$] = (V_R \cdot \rho_{Manjar} \cdot P_{Producto}) - (E_0 \cdot V_R \cdot P_{Enzima}) -$$

$$\left(\left(\frac{Np \cdot \mu^3 \cdot Re^3}{\rho^2 \cdot \left(\frac{4 \cdot V_R}{81\pi}\right)^{\frac{1}{3}}} \right) \cdot \left(\frac{-\ln\left(1 + \frac{kd(T)}{(k_{cat}(T) \cdot (E_0 \cdot e^{-k_d \cdot t})} (Km(T) + S_0)) \cdot \ln(1 - X)\right)}{kd(T)} \right) \cdot P_{EE} \right) -$$

$$\left(\left(\frac{\rho_L \cdot V_R \cdot Cp_L \cdot (T_{op} - T_0)}{\lambda_v} \right) \cdot \left(\ln\left(\frac{T_v - T_0}{T_v - T_0}\right) \cdot \frac{\rho_L \cdot V_R \cdot Cp_L}{\left(\frac{a \cdot V_R^{\frac{1}{3}}}{k_{TK} + b \cdot V_R^{\frac{1}{3}}}\right) \cdot \left(\frac{V_R}{3 \cdot \left(\frac{4 \cdot V_R}{81\pi}\right)^{\frac{1}{3}}}\right)} \right) + \right.$$

$$\left. \left(\frac{(\Delta H_0 + \Delta Cp_0(T_{op} - T_0)) \cdot V_R \cdot \frac{k_{cat}(T) \cdot E_0 \cdot e^{-k_d \cdot t}}{Km(T) + S_0 \cdot X + S_0(1-X)} \cdot S_0(1-X)}{\lambda_v} \right) \cdot \left(\frac{-\ln\left(1 + \frac{kd(T)}{(k_{cat}(T) \cdot (E_0))} (Km(T) + S_0)) \cdot \ln(1 - X)\right)}{kd(T)} \right) \right) \cdot P_{Vapor} -$$

$$(V_R \cdot P_{Leche}) \tag{Ec. 4.37}$$

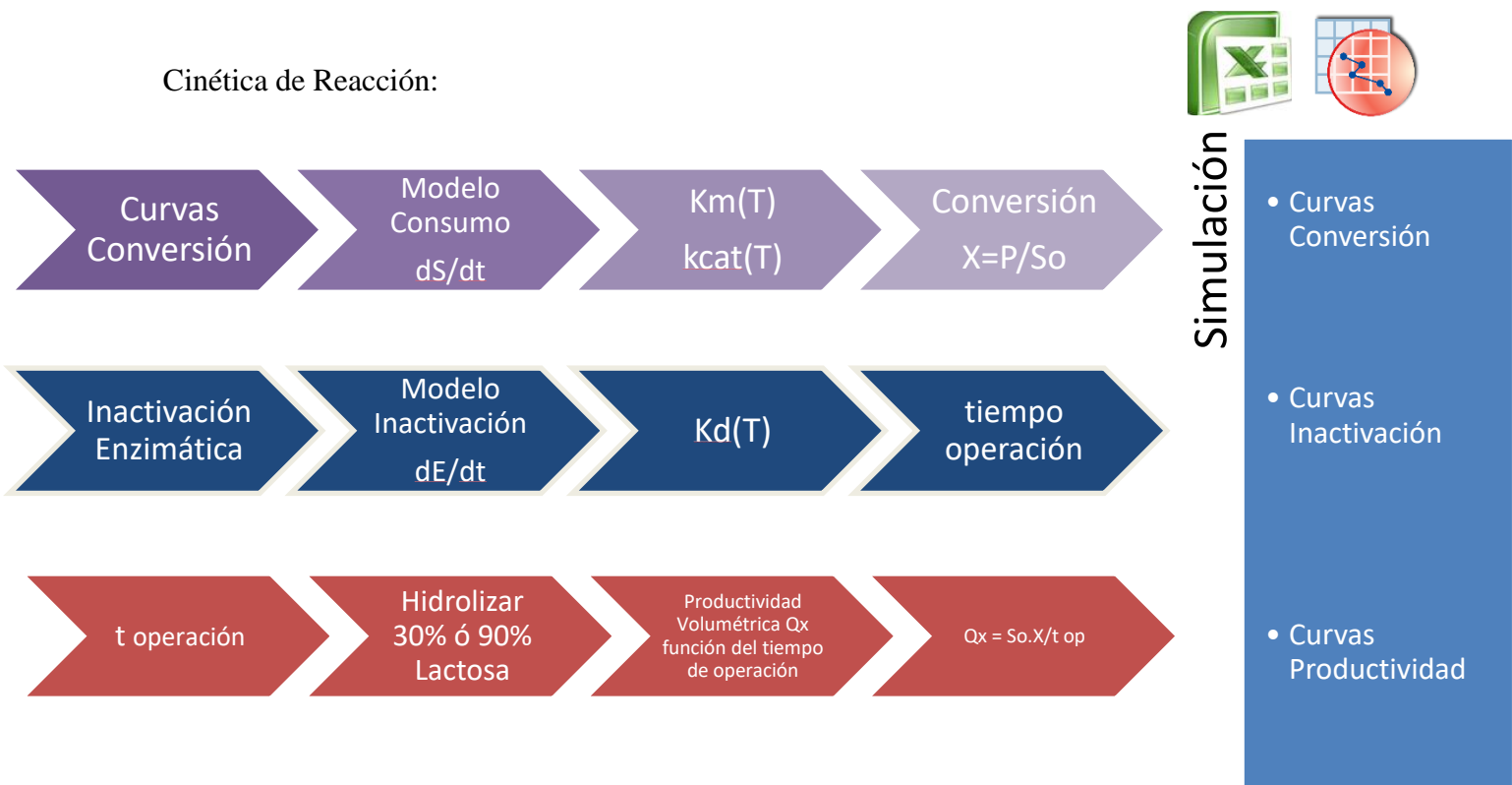
Se evaluó la utilidad en función de la temperatura considerando el rango de 30 – 60 [°C], la concentración de enzima en el rango de 0,5 – 2 [g/L], la concentración de sustrato lactosa considerando una solución al 10% m/v de: leche líquida con 151,4 mM, leche en polvo con 130,4 mM y leche mezclada (líquida + polvo) con 276,8 mM. Mientras que la conversión de lactosa evaluada fue del 30% para obtener manjar deslactosado y 90% para leche sin lactosa. Para el volumen de reactor se consideró inicialmente el rango de 100 – 1000 [L] y posteriormente un volumen de reactor para un caso puntual de 20 [m³/día] de leche procesada. Se maximizó la función utilidad gráficamente fijando las variables de concentración de sustrato lactosa, conversión de lactosa y volumen de reactor. Determinando la utilidad óptima al variar la temperatura y concentración de enzima.

Esquema metodología:

Modelo de hidrólisis enzimática



Cinética de Reacción:



Modelo de Estudio Económico

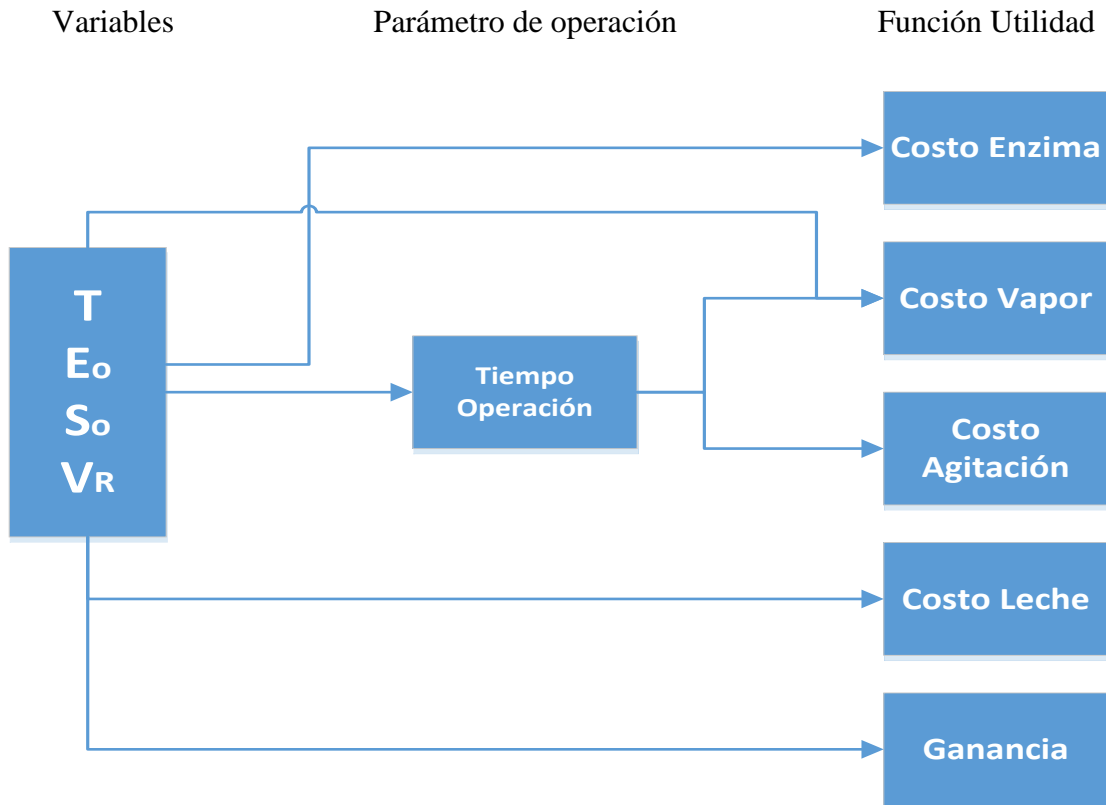


Figura 4.1: Esquema de la metodología para representar las funciones de costos y ganancia en función de las variables de operación.

Tabla 4.1: Resumen condiciones de operación:

Condición de operación	Valor	Unidad
S_o	151,4 – 276,8	mM
E_o	0,5 – 2	g/L
T	30 - 60	°C
X	30 y 90	%

Tabla 4.2: Constantes empleadas en la simulación matemática:

Constantes de diseño		
Estructura reactor		
$k(20^{\circ}\text{C})$	204,2	W/m.K
ϵ	0,0034	m
Leche		
$C_p(20^{\circ}\text{C})$	3850	J/kg.K
P	1030	kg/m ³
M	0,00212	Pa.s
μ_w	0,00086	Pa.s
K	0,538	W/m.K
Agitador		
H/D_j	3	
D_j/L_p	3	
a	0,540	
B	0,667	
M	0,140	
H_i/L_p	1	
N_p	5	
Calor de reacción		
ΔG_o	-8,72	KJ/mol
ΔH_o	0,44	KJ/mol
ΔC_{p_o}	0,009	KJ/mol K
T_o	298,15	25
Calor de calentamiento		
T_v	383	K
T_{sat}	373	K
T_o	277	K
$C_p \text{ vap}$	1,84	KJ/Kg.K
$\lambda \text{ vap}$	2257	KJ/Kg
Precios		
Manjar SIN LACTOSA ECKART	4447	\$/Kg
Manjar ECKART	1710	\$/Kg
Manjar COLUN	2150	\$/Kg
Manjar NESTLE	2190	\$/Kg
Manjar SOPROLE	2190	\$/Kg
Vapor	20	USD/Ton
Enzima lactasa	50	USD/Kg
Energía Eléctrica	78,917	USD/MWh
Leche pagada al productor	220	\$/L

CAPITULO 5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. Resultados y Discusión

Para determinar un óptimo operativo se estudió el efecto de la temperatura y concentración de enzima inicial sobre la productividad volumétrica. Junto a esto, se estudió el efecto del volumen de reactor sobre las utilidades, según las ganancias y costos de operación en el equipo. Los estudios fueron realizados gráficamente por barridos en rangos para una cierta temperatura y concentración de enzima inicial, lo cual representa el comportamiento del reactor.

5.1. Comportamiento del reactor por lotes

El balance de materia del reactor por lotes permitió determinar el consumo del sustrato lactosa en el tiempo, el cual fue representado por el modelo de hidrólisis enzimática de lactosa en leche. Como resultado del modelo se obtuvo una expresión analítica para el tiempo de operación en función de las variables temperatura y concentración de enzima inicial. Con esto, fue posible graficar la conversión de lactosa en función de estas variables.

En el reactor, la conversión de lactosa tiene el siguiente comportamiento, Fig. 5.1, a medida que aumenta la temperatura a una concentración de enzima inicial de 1 [g/L]:

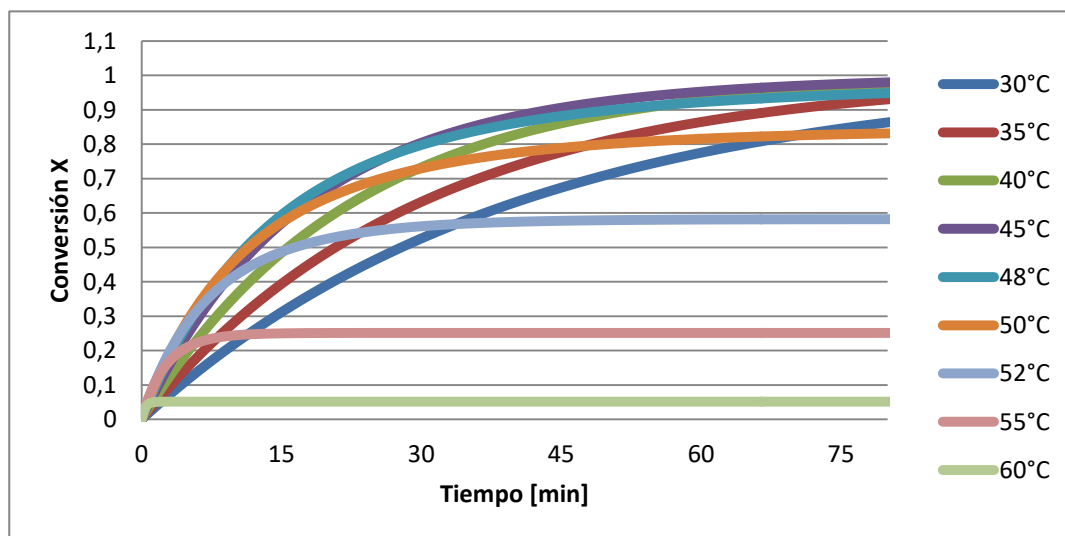


Figura 5.1: Curvas de conversión de lactosa variando la temperatura a una concentración de enzima inicial de 1 [g/L].

Analizando la curva anterior fue posible apreciar que a medida que aumenta la temperatura, también lo hace la conversión de lactosa hasta un punto de inflexión máximo donde comienza a decaer. Este decaimiento se debe al efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática. Fue posible visualizar este efecto de la temperatura en la Figura 5.2 por las curvas de inactivación enzimática:

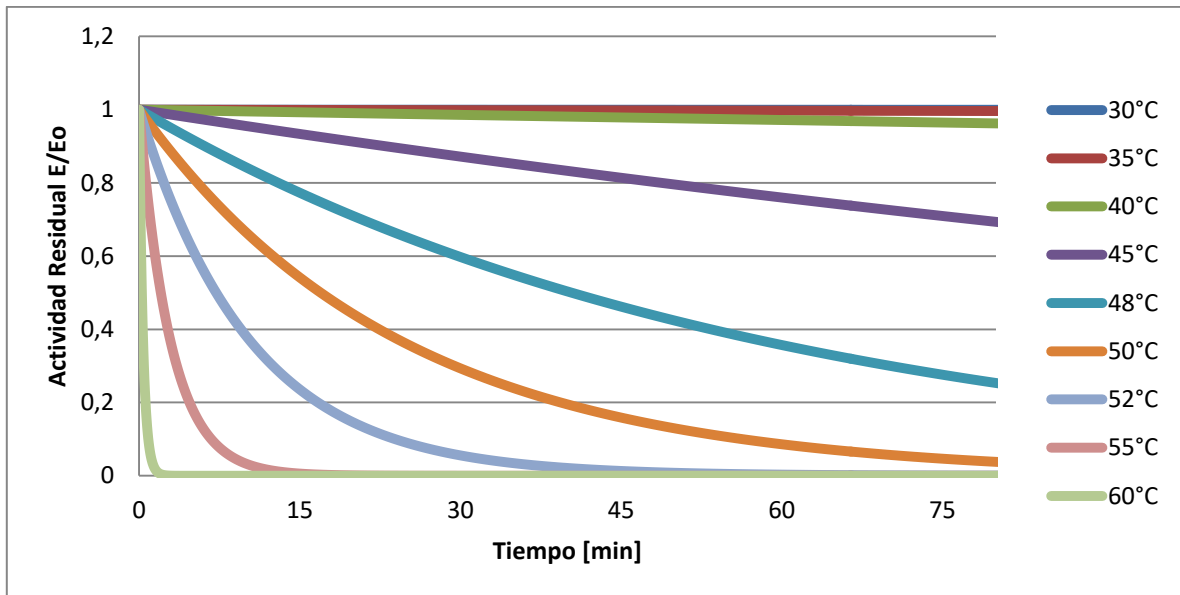


Figura 5.2: Curvas de inactivación enzimática variando la temperatura a una concentración de enzima de 1[g/L]

De la curva anterior, se aprecia que a mayor temperatura mayor es la inactivación enzimática. Esto se debe ya que a mayor temperatura la actividad residual de la enzima decae a una mayor velocidad.

Si bien estas dos curvas de conversión e inactivación enzimática muestran un indicio sobre a qué temperatura se debe operar en el reactor, es necesario analizar el efecto de la temperatura y la concentración de enzima sobre la productividad volumétrica, con el objeto de identificar la productividad volumétrica máxima.

Como una aproximación del tiempo de operación para la reacción de hidrólisis de lactosa, se calculó el tiempo de vida media, el cual representa el tiempo en que la actividad enzimática disminuye a la mitad, como muestra la Tabla 5.1, considerando un modelo de primer orden para la inactivación enzimática.

Tabla 5.1: Tiempo de vida media variando la temperatura en la inactivación enzimática

Temperatura [°C]	$t_{1/2}$ [min]
30	128,283,2
35	11,515,7
40	1,116,50
45	116,49
48	31,05
50	13,04
52	5,53
55	1,56
60	0,19

La tabla anterior muestra la disminución del tiempo de operación de la reacción de hidrólisis de lactosa a medida que aumenta la temperatura, la cual causa un aumento de la velocidad de la inactivación enzimática.

Análogamente, el tiempo de operación de la reacción de hidrólisis en función de la temperatura y concentración de enzima para una conversión del 30% y 90% de lactosa, se visualiza en la Fig. 5.3 y Fig. 5.4:

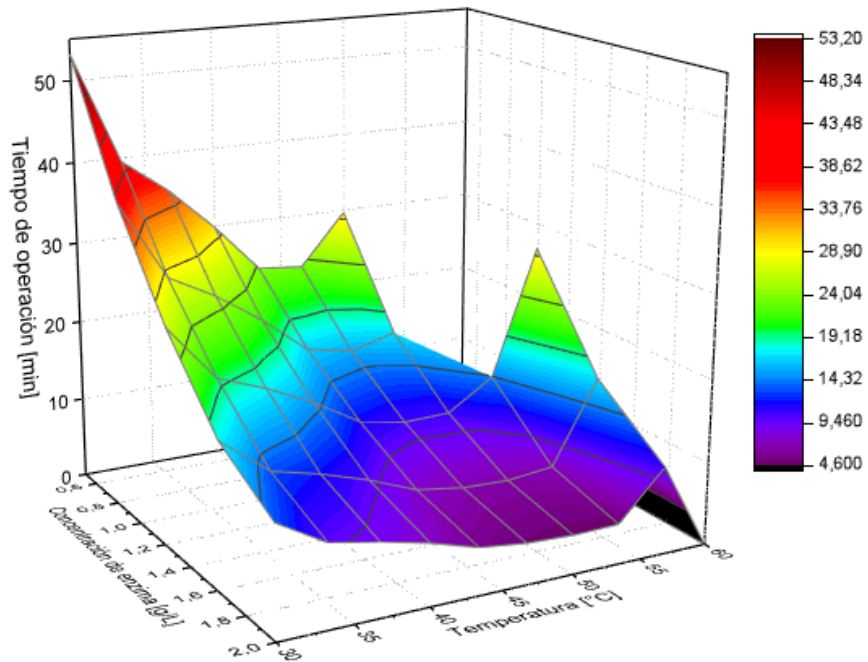


Figura 5.3: Tiempo de operación de la reacción de hidrólisis de lactosa variando la temperatura y concentración de enzima para una conversión de lactosa del 30% a una concentración de lactosa de 278,6 [mM].

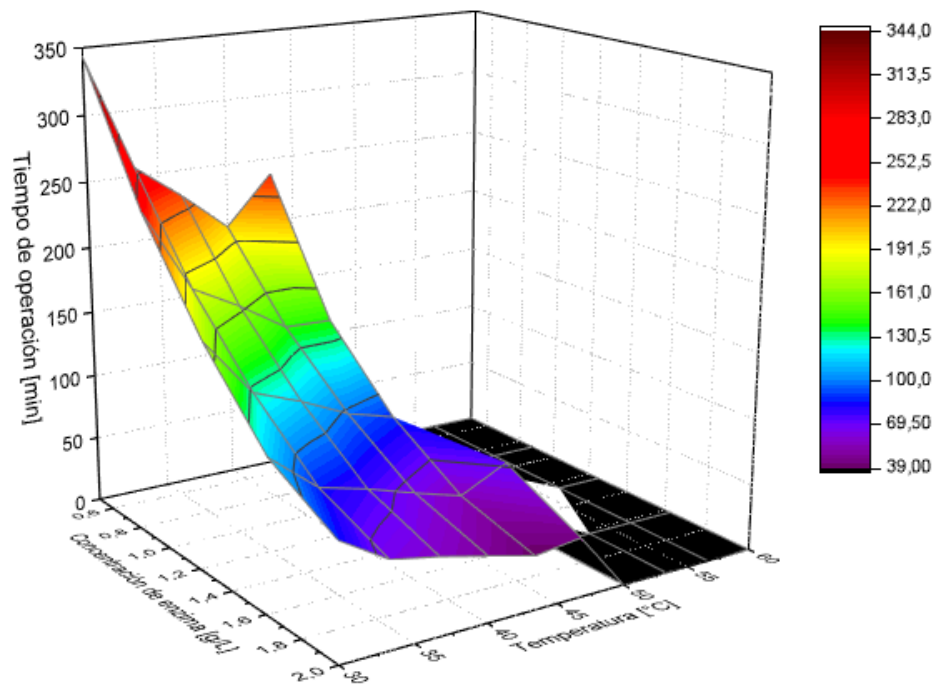


Figura 5.4: Tiempo de operación de la reacción de hidrólisis de lactosa variando la temperatura y concentración de enzima para una conversión de lactosa del 90% a una concentración de lactosa de 278,6 [mM].

5.2. Productividad Volumétrica

La productividad volumétrica en función de la temperatura y concentración de enzima inicial para una conversión del 30% se muestra en la Fig. 5.5. Mientras que la productividad volumétrica para una conversión del 90% se muestra en la Fig. 5.6:

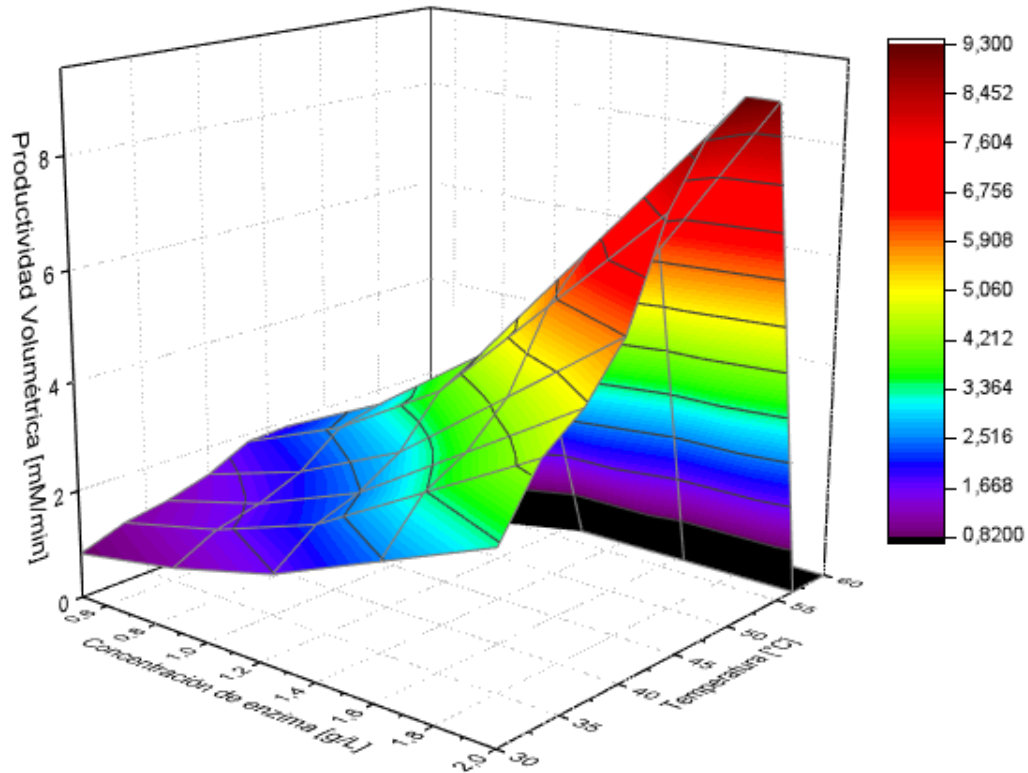


Figura 5.5: Productividad volumétrica de la reacción de hidrólisis de lactosa variando temperatura y concentración de enzima hasta una conversión del 30%, concentración de lactosa 278,6 [mM].

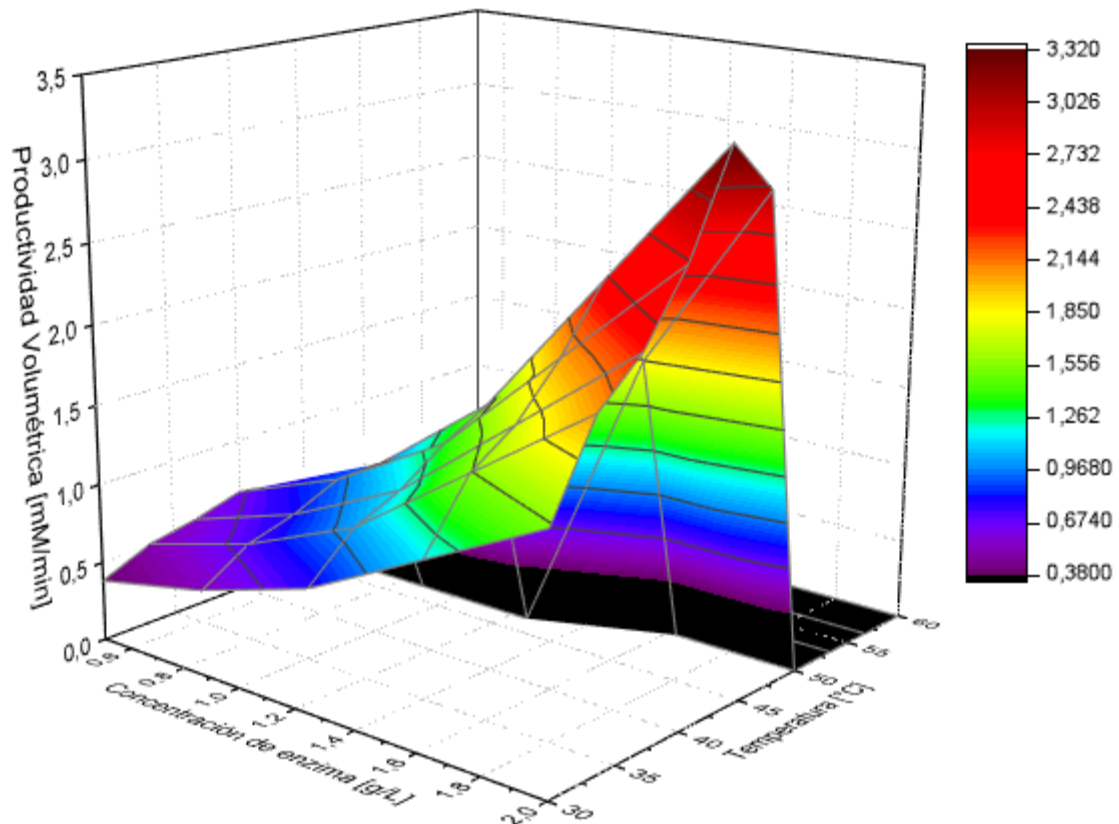


Figura 5.6: Productividad volumétrica de la reacción de hidrólisis de lactosa variando temperatura y concentración de enzima hasta una conversión del 90%, concentración de lactosa 278,6 [mM].

De los gráficos anteriores se visualiza un aumento de la productividad volumétrica a medida que aumenta la temperatura y la concentración de la enzima hasta un punto de inflexión que representa la productividad volumétrica máxima en la hidrólisis de lactosa, para posteriormente decaer debido a la desnaturalización de la enzima.

Al operar el reactor hasta alcanzar conversiones más altas se genera una menor productividad volumétrica que al operar a conversiones más bajas. Efecto visualizado al comparar las curvas de productividad volumétrica.

La productividad volumétrica máxima para una conversión del 30% es de 9,28 [mM/min], para una concentración de lactosa de 278,6 [mM] a una temperatura de 50 [°C] y una concentración de enzima de 2 [g/L]. Mientras que la productividad volumétrica máxima para una conversión del 90% es de 3,32 [mM/min], para una concentración de lactosa de 278,6 [mM] a una temperatura de 45 [°C] y una concentración de enzima de 2 [g/L].

La disminución de la concentración de lactosa produce un aumento de la productividad volumétrica.

La productividad volumétrica máxima para cada concentración de enzima inicial convirtiendo hasta un 30% y 90% de lactosa, se muestra en la Tabla 5.2, según la temperatura requerida para el óptimo productivo:

Tabla 5.2: Productividad volumétrica máxima variando la concentración de enzima.

Conversión lactosa		X	30%	X	90%
Eo [g/L]	T [°C]		Productividad volumétrica [mM/min]	T[°C]	Productividad volumétrica [mM/min]
0,5	48		1.894	40	0.656
0,7	48		2.820	45	0.938
1	48		4.203	45	1.494
1,5	50		6.719	45	2.409
2	50		9.282	45	3.320

El hecho de operar el reactor en condiciones de máxima productividad volumétrica, no justifica una correcta operación, dado que no considera los costos asociados al proceso de hidrólisis de lactosa, por lo cual, es necesario plantear un análisis económico para determinar cuál será el óptimo operativo considerando los costos en función de la temperatura, concentración de enzima inicial, concentración de lactosa y volumen de reactor.

5.3. Estudio económico de la operación del reactor

Se analizó la ganancia del proceso y los costos de operación identificados como costo de enzima, costo de leche, costo de energía requerida para agitación y costo de calentamiento de la mezcla por el calor cedido desde la chaqueta del reactor Batch.

El estudio consta de 5 variables, siendo estas la temperatura, concentración de enzima, volumen de reactor, concentración de lactosa y conversión, de las cuales se acotaron rangos de operación para cada una de ellas. El rango de la variable concentración de lactosa inicia en 151,4 [mM] la cual posee un 50% en peso de lactosa en la leche de vaca, por una parte y por otra, la leche de vaca se enriquece con leche en polvo llegando a valores de concentración de lactosa de 276,8 [mM]. La variable conversión de lactosa considera los valores de 30% y 90% para evitar la cristalización en el manjar y generar manjar deslactosado, respectivamente. Finalmente las 3 variables restantes de temperatura considera el rango de (30 - 60[°C]), concentración de enzima (0,5 - 2 [g/L]) y volumen de reactor (100 - 1000 [L]). El objeto de estos rangos es el estudio de las variables sobre la ganancia y los costos asociados a la operación.

5.3.1. Ganancia

La ganancia está definida por la cantidad de leche procesada en el reactor de hidrólisis, cuyo fin es convertirla en manjar. Considerando una densidad del manjar constante de 1030 [Kg/m³] y un precio de manjar de 1.710 [\$/Kg], se obtiene una relación lineal de la ganancia en función del volumen del reactor, tanto para una conversión del 30% como para una conversión del 90%. Del estudio se identificó que la ganancia no cambia al variar la conversión de lactosa, temperatura y concentración de enzima inicial.

5.3.2. Costo de enzima

La cantidad de enzima depende de las variables concentración de enzima inicial y el volumen del reactor. Se estudió gráficamente éste costo a medida que aumenta la concentración de enzima y el volumen de reactor. Se considera el rango de estudio entre 0,5 – 2 [g/L], variando el volumen del reactor entre 100 – 1000 [L]. El costo de enzima crece linealmente al aumentar la concentración de enzima inicial, mientras que también crece linealmente al aumentar el volumen de reactor. El aumento de temperatura no afecta al costo de enzima soluble, debido a que solo afecta en la inactivación enzimática.

5.3.3. Costos Agitación

Se analizó el costo de agitación en función del tiempo de operación para la reacción de hidrólisis y el volumen de reactor como variable de la relación de potencia de agitación, como muestra la Fig. 5.7:

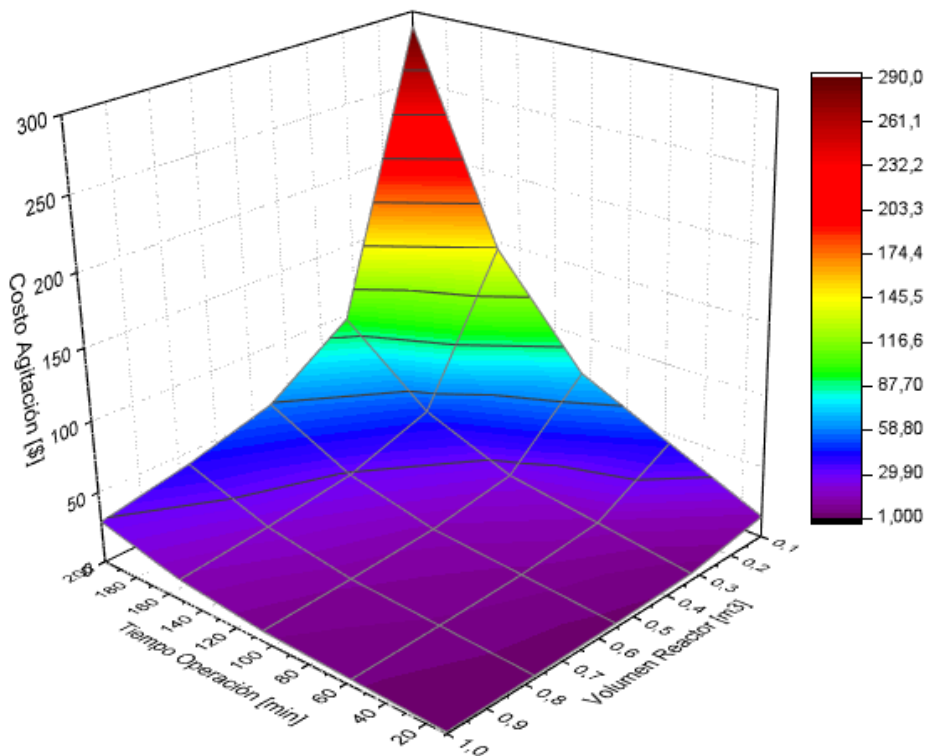


Figura 5.7: Costo en agitación dentro del reactor variando el tiempo de operación y el volumen de reactor. Considerando una temperatura de 40 °C y una concentración de enzima de 1 g/L.

Del gráfico anterior se observa que mientras aumenta el tiempo de operación, aumenta el costo de agitación. Caso contrario para el volumen de reactor ya que mientras éste aumenta, el costo de agitación disminuye.

Se estudió el efecto del volumen del reactor sobre la velocidad de agitación, con el fin de mantener un régimen turbulento, como muestra la Tabla 5.3, donde se observa que a medida que aumenta el volumen de reactor, la potencia de agitación se reduce debido a la suplencia energética que aporta el hecho de utilizar una paleta de agitador más grande, disminuyendo las RPM y así manteniendo el régimen turbulento.

Tabla 5.3: Dependencia volumétrica de la velocidad de agitación y potencia del agitador.

Nr [RPM]	Vr [m3]	P [KW]	Vr [m3]
310,79	0,4	4,50	0,4
267,83	0,5	3,60	0,5
237,18	0,6	3,00	0,6
214,01	0,7	2,57	0,7
195,79	0,8	2,25	0,8
181,00	0,9	2,00	0,9
168,72	1	1,80	1

Se analizó el efecto de la temperatura y concentración de enzima inicial sobre el costo de agitación en la Fig. 5.8:

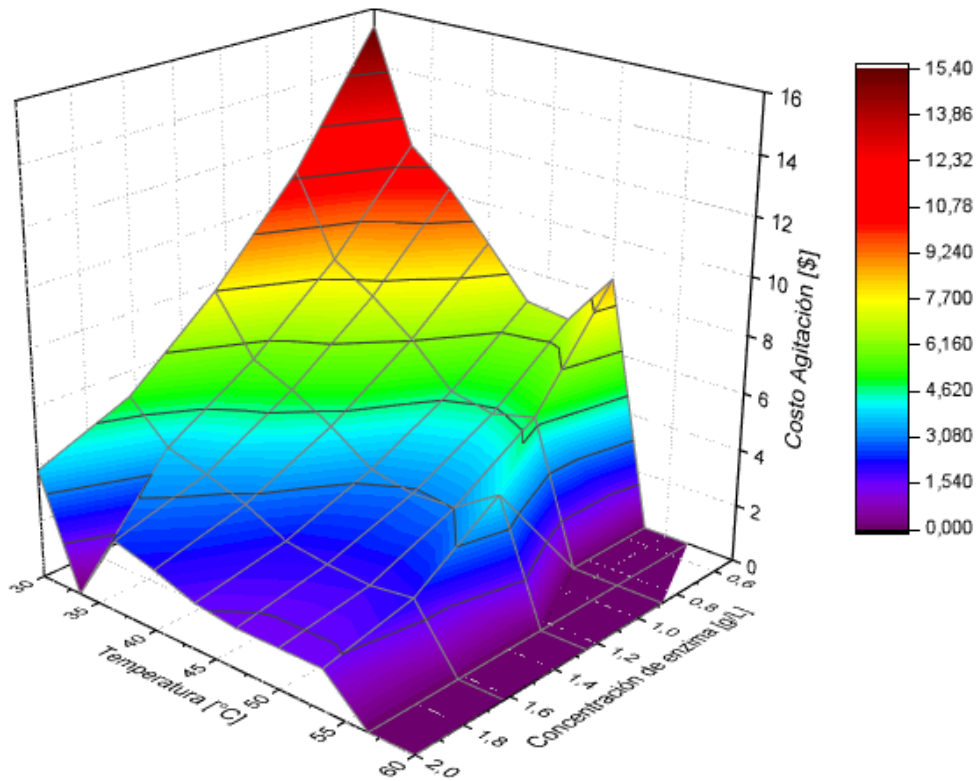


Figura 5.8: Costo en Agitación dentro del reactor en función de la temperatura y concentración de enzima inicial. Considerando un volumen de reactor de 500 [L] y una conversión de lactosa del 30%.

Del gráfico anterior se observa que si aumenta la temperatura, disminuye el costo de agitación. También se observa que si aumenta la concentración de enzima, disminuye el costo de agitación. Esto se debe principalmente a que para una mayor temperatura y una mayor concentración de enzima, el tiempo de operación es menor.

Por otro lado, un aumento de la conversión de lactosa genera un aumento del costo de agitación, efecto causado por el aumento del tiempo de operación para llegar a conversiones más altas.

5.3.4. Costo en Leche

Se analizó el costo de la leche en función del volumen de reactor, el cual mantiene una relación lineal. Este es uno de los mayores costos debido a los sucesivos lotes requeridos para satisfacer la demanda láctea diaria.

5.3.5. Costos Calefacción

Se analizó el costo de calefacción para la fase 1 de calentamiento de la leche refrigerada hasta la temperatura de operación. El costo de calentamiento depende del tiempo de calentamiento de la mezcla por una parte, y por otra, depende de la masa de vapor en función del volumen del reactor, como se muestra en la Fig. 5.9:

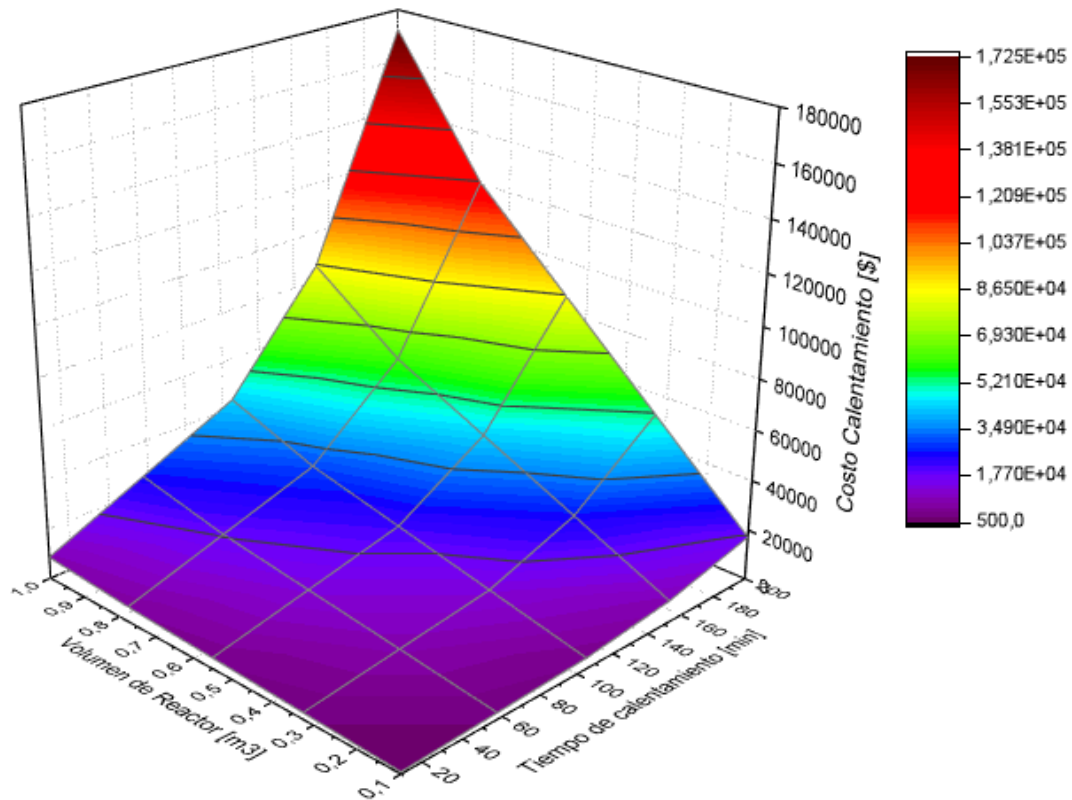


Figura 5.9: Costo de vapor para el calentamiento de leche refrigerada hasta 40 [°C] a una concentración de 1 [g/L]. En función del el volumen de reactor [m³] y tiempo de calentamiento [min].

Del gráfico anterior se observa que a medida que aumenta el tiempo de calentamiento, aumenta el costo de calentamiento de la leche. Mientras que a medida que aumenta el volumen del reactor, también aumenta el costo de calentamiento. Esto se debe principalmente a que para mayores tiempos y volumen de reactor, es necesario una mayor masa de vapor saturado circulando por la chaqueta del reactor Batch.

Por otro lado, se analizó el costo de calentamiento en función de la temperatura y el volumen de reactor, como muestra la Fig. 5.10:

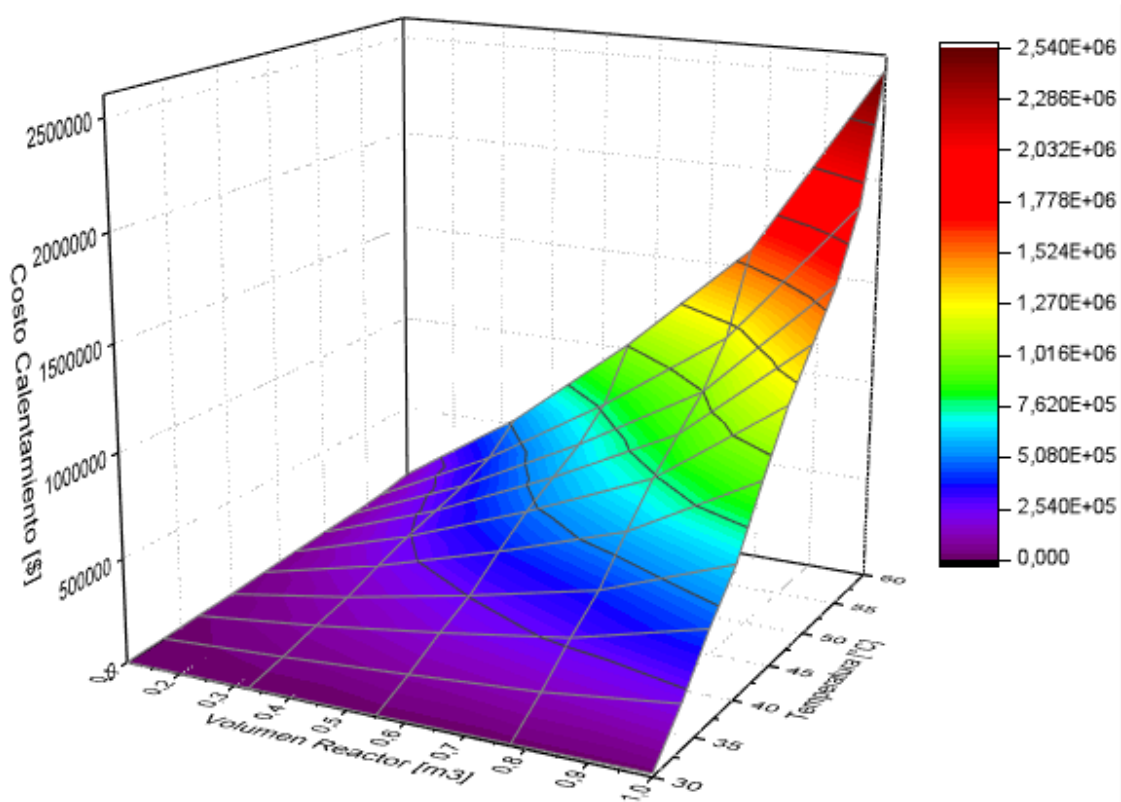


Figura 5.10: Costo de vapor para el calentamiento de la leche hasta la temperatura de operación en función del volumen de reactor [m³] y temperatura [°C].

Del gráfico anterior se observa que a medida que aumenta la temperatura, aumenta el costo de calentamiento. El costo de calentamiento no cambia al variar la concentración de lactosa, ya que sólo depende de los parámetros de diseño del reactor Batch y constantes de operación de la leche.

Se analizó el costo de calefacción para la fase 2 donde ocurre la reacción de hidrólisis enzimática de la leche, la cual requiere de energía para mantener un régimen isotérmico en el reactor Batch. El costo de calor de reacción depende del tiempo de operación de la reacción de hidrólisis por una parte, y por otra, depende de la masa de vapor en función del volumen del reactor, como se muestra en la Fig. 5.11:

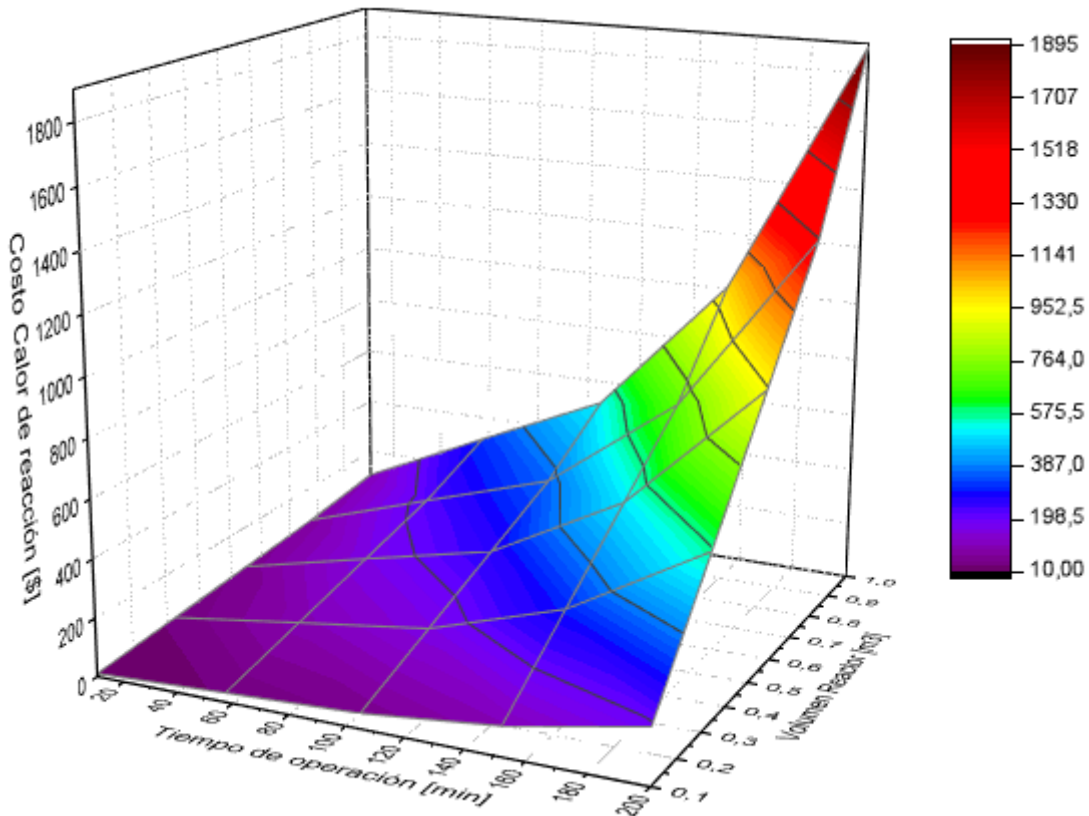


Figura 5.11: Costo de calor durante la reacción de hidrólisis de lactosa a una temperatura de operación de 40 [°C] y concentración de 1 [g/L]. En función del tiempo de operación de la reacción de hidrólisis y el volumen de reactor Batch.

Del gráfico anterior se observa que a medida que aumenta el tiempo de operación de la reacción, aumenta el costo de calefacción de la reacción de hidrólisis enzimática de la leche. Mientras que a medida que aumenta el volumen del reactor, también aumenta el costo de calefacción de reacción. Esto se debe principalmente a que para mayores tiempos y volumen de reactor, es necesario una mayor masa de vapor saturado circulando por la chaqueta del reactor Batch.

Por otro lado, se analizó el costo de calefacción de la reacción en función de la temperatura y la concentración de enzima inicial, para una conversión del 30% y un volumen de reactor de 500 [L], como muestra la Fig. 5.12 y Fig. 5.13:

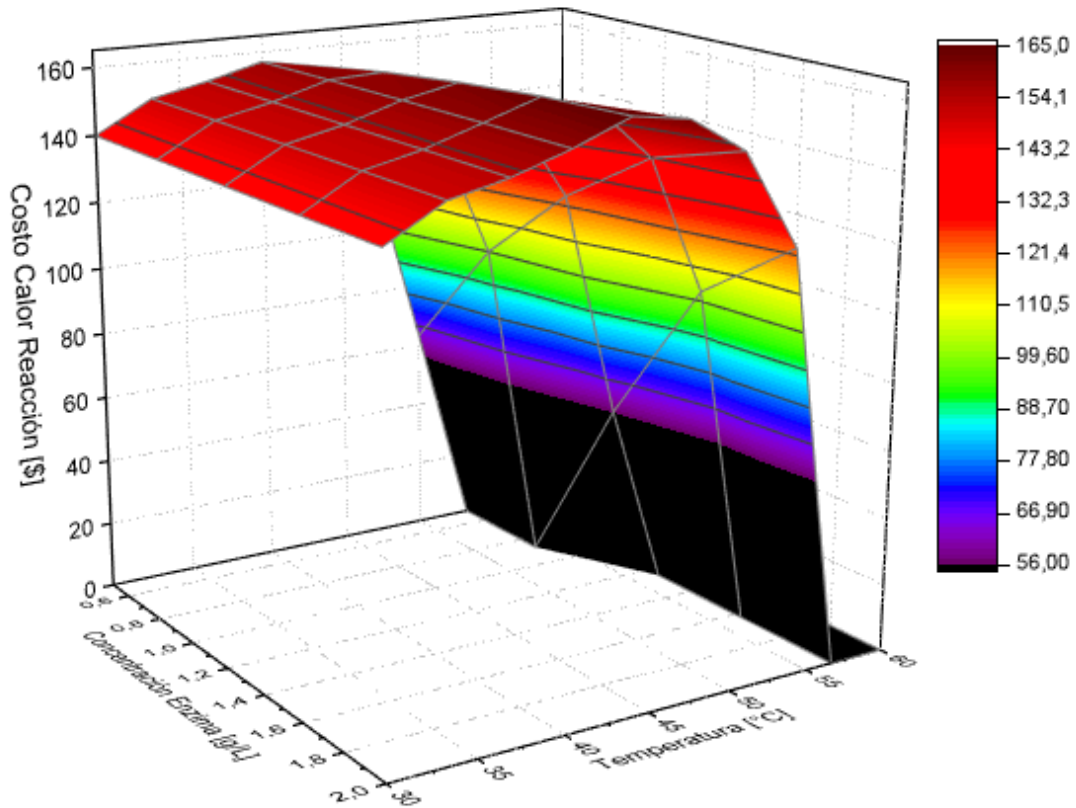


Figura 5.12: Costo de calor durante la reacción de hidrólisis de lactosa en función de la temperatura y concentración de enzima inicial. Considerando una conversión de lactosa del 30% y un volumen de reactor de 500[L].

Un aumento en la conversión de lactosa de un 30% a un 90% se aprecia según la Fig. 5.13, donde es posible apreciar la variación del costo de calor para la reacción:

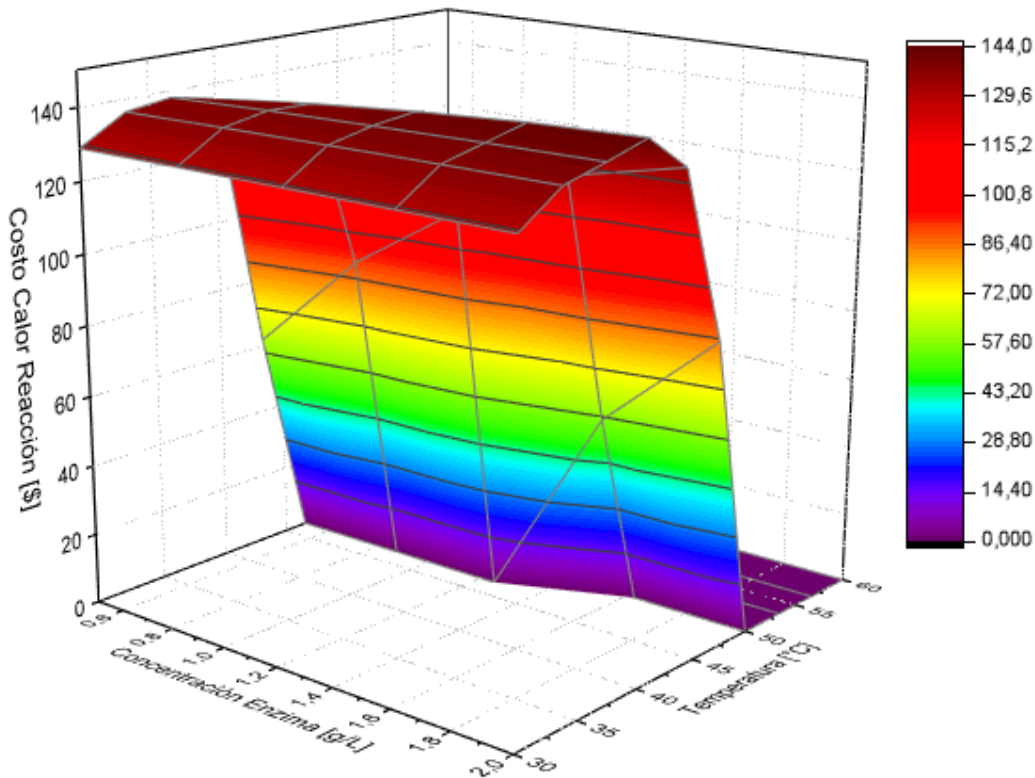


Figura 5.13: Costo de calor durante la reacción de hidrólisis de lactosa en función de la temperatura y concentración de enzima inicial. Considerando una conversión de lactosa del 90% y un volumen de reactor de 500[L].

De los gráficos anteriores de costo de calor en la reacción se observa que a medida que aumenta la temperatura de operación, aumenta el costo de calor en la reacción hasta un costo máximo, para luego decaer hasta la desnaturalización de la enzima. Por otro lado un aumento de la concentración de enzima, aumenta el costo de calor en la reacción.

Al operar a conversiones de lactosa más altos, trae como consecuencia un menor costo de calor en la reacción por una parte, y por otra, disminuye la temperatura de operación para el máximo costo de calor en la reacción. Distinguiendo que para una conversión del 30% el costo máximo se alcanza a los 45 [°C], mientras que para una conversión del 90% el costo máximo se alcanza a los 40 [°C]. Por otro lado, un aumento de la concentración de lactosa en la leche, genera un aumento de los costos de calor en la reacción, debido a que existe más sustrato para reaccionar.

Según el análisis de ambas masas de vapor a utilizar, se calcula que es necesario utilizar más vapor para el calentamiento del reactor hasta la temperatura de operación, requiriendo sobre el 80% del vapor necesario para mantener la reacción. Esto fue analizado para distintos valores de conversión, temperatura y concentración de enzima.

A modo de discusión, en el proceso de calefacción es requerido calentar la leche cruda refrigerada hasta la temperatura de operación, para posteriormente mantener dicha temperatura con vapor por el tiempo de reacción para lograr la conversión requerida. Sin embargo, esto representa un desaprovechamiento de los recursos de calor de la empresa, puesto que la primera etapa de calentamiento puede ser suprimida al recircular una línea externa al proceso de hidrólisis con un fluido a alta temperatura, que al pasar por un intercambiador de calor funcional para el caso, permitiría evitar el gasto extra de vapor en la chaqueta.

Se analizó la proporción de los costos tanto para el costo en enzima (1), costo en leche (2), costo en agitación (3) y costo en vapor (4) en la Fig. 5.14. El estudio constó de 6 gráficos donde se varió el volumen del reactor, la concentración de la enzima inicial y la temperatura de operación.

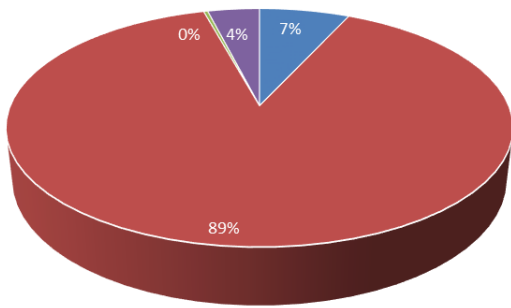
De los gráficos se observa que si aumenta el volumen de reactor, disminuye la proporción de costo de la leche mientras aumenta la proporción del costo de vapor. Mismo caso para el aumento de la temperatura. Mientras que para un aumento de la concentración de enzima inicial, la proporción de costo de enzima aumenta mientras que la proporción de costo de leche baja.

El mayor costo corresponde al costo de leche, seguido por de enzima, el costo de vapor y finalmente el costo de agitación.

El tiempo de operación para el caso (a) es 53,2 [min] a 30[°C] y 0,5 [g/L], para el caso (b) es 23,7 [min] a 45[°C] y 0,5 [g/L], para el caso (c) es 5,7 [min] a 45[°C] y 2 [g/L]. Mientras que para los casos (d), (e) y (f) son los mismos tiempos que en (a), (b) y (c), respectivamente, ya que el tiempo de operación no depende del volumen de reactor.

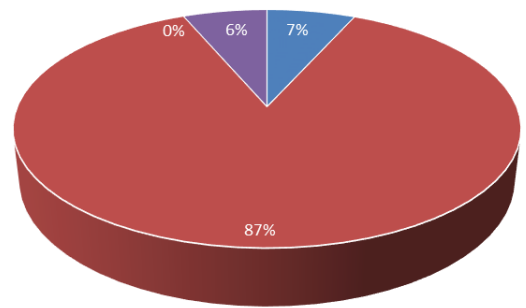
(a) 1- Enzima 2- Leche 3- Agitación 4- Vapor

■ 1 ■ 2 ■ 3 ■ 4



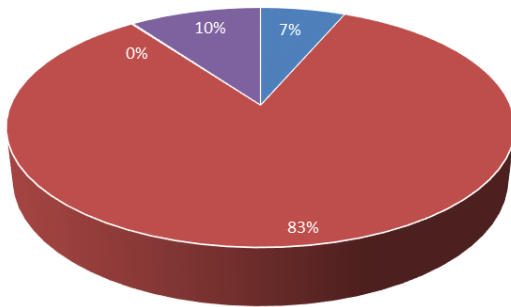
(d) 1- Enzima 2- Leche 3- Agitación 4- Vapor

■ 1 ■ 2 ■ 3 ■ 4



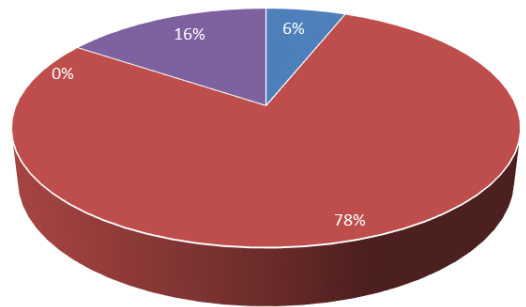
(b) 1- Enzima 2- Leche 3- Agitación 4- Vapor

■ 1 ■ 2 ■ 3 ■ 4



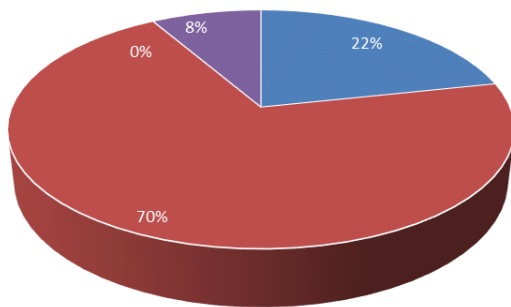
(e) 1- Enzima 2- Leche 3- Agitación 4- Vapor

■ 1 ■ 2 ■ 3 ■ 4



(c) 1- Enzima 2- Leche 3- Agitación 4- Vapor

■ 1 ■ 2 ■ 3 ■ 4



(f) 1- Enzima 2- Leche 3- Agitación 4- Vapor

■ 1 ■ 2 ■ 3 ■ 4

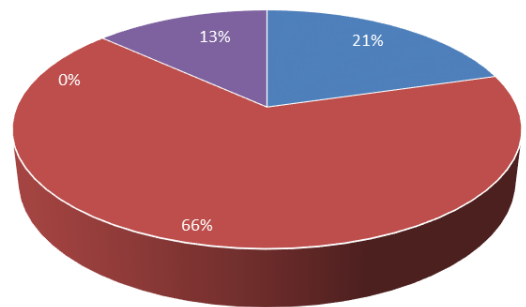


Figura 5.14: Proporciones de costos; (1) Costo Enzima, (2) Costo Leche, (3) Costo Agitación, (4) Costo Vapor; (a) $V_R=100$ [L], $E_0=0.5$ [g/L], $T=30$ [°C]. (b) $V_R=100$ [L], $E_0=0.5$ [g/L], $T=45$ [°C]. (c) $V_R=100$ [L], $E_0=2$ [g/L], $T=45$ [°C]. (d) $V_R=1000$ [L], $E_0=0.5$ [g/L], $T=30$ [°C]. (e) $V_R=1000$ [L], $E_0=0.5$ [g/L], $T=45$ [°C]. (f) $V_R=1000$ [L], $E_0=2$ [g/L], $T=45$ [°C].

5.3.6. Utilidad

Se analizó la utilidad en función de la temperatura de operación y la concentración de enzima inicial, para una conversión de lactosa del 30%, una concentración de lactosa de 276.8 [mM] y un volumen de reactor de 500 [L], como muestra la Fig. 5.15:

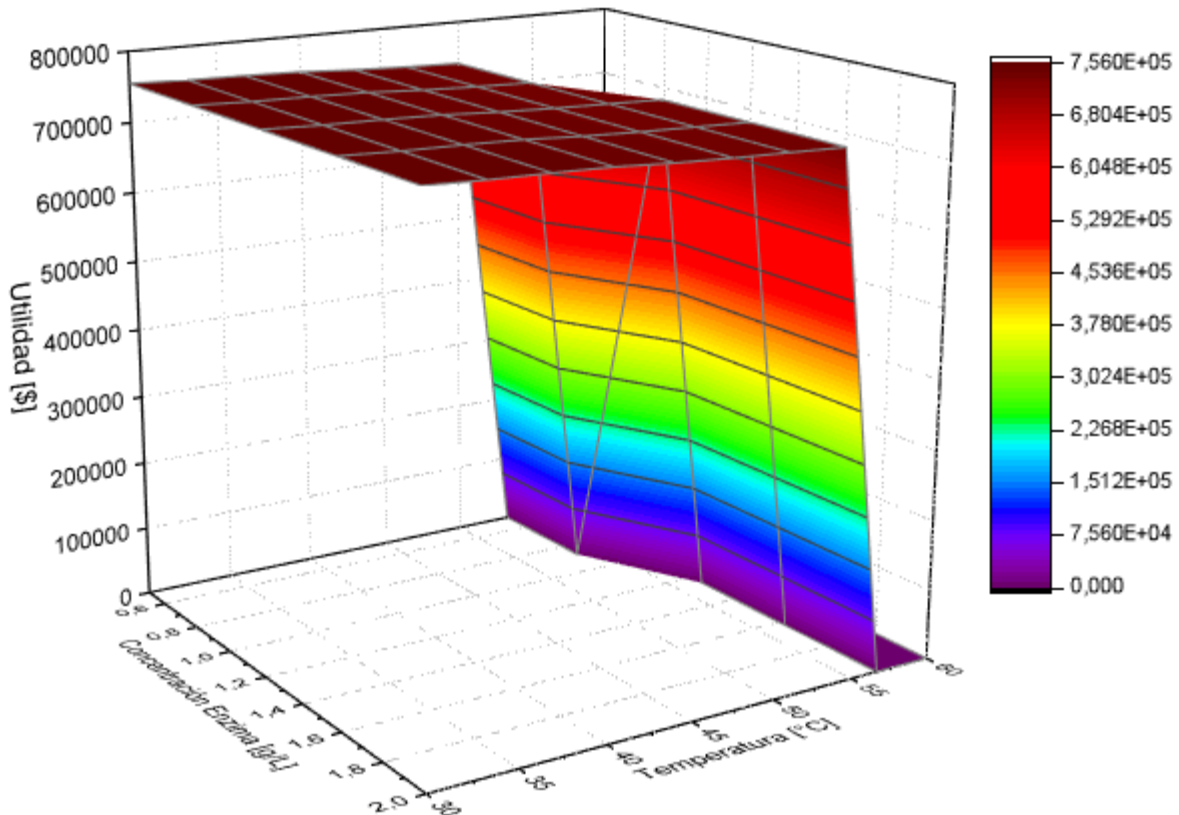


Figura 5.15: Utilidad del proceso de hidrólisis de lactosa según el precio del manjar reducido en lactosa. Considerando una conversión del 30%, una concentración de lactosa de 276.8 [mM] y un volumen de reactor de 500 [L].

Del gráfico anterior se aprecia que la diferencia de utilidad en los rangos de operación es poco significativa una vez que comienza a desnaturalizarse la enzima. Si bien a medida que aumenta la concentración de enzima la utilidad también lo hace, y a medida que aumenta la temperatura la utilidad disminuye. La diferencia entre la máxima utilidad y la mínima utilidad no supera el 2,6%. La máxima utilidad para este caso se observa a los 30 [°C] y 2 [g/L].

A modo de comparación se analizó la utilidad para una conversión del 90%, considerando la misma concentración de lactosa y volumen de reactor que el caso anterior, como muestra la Fig. 5.16:

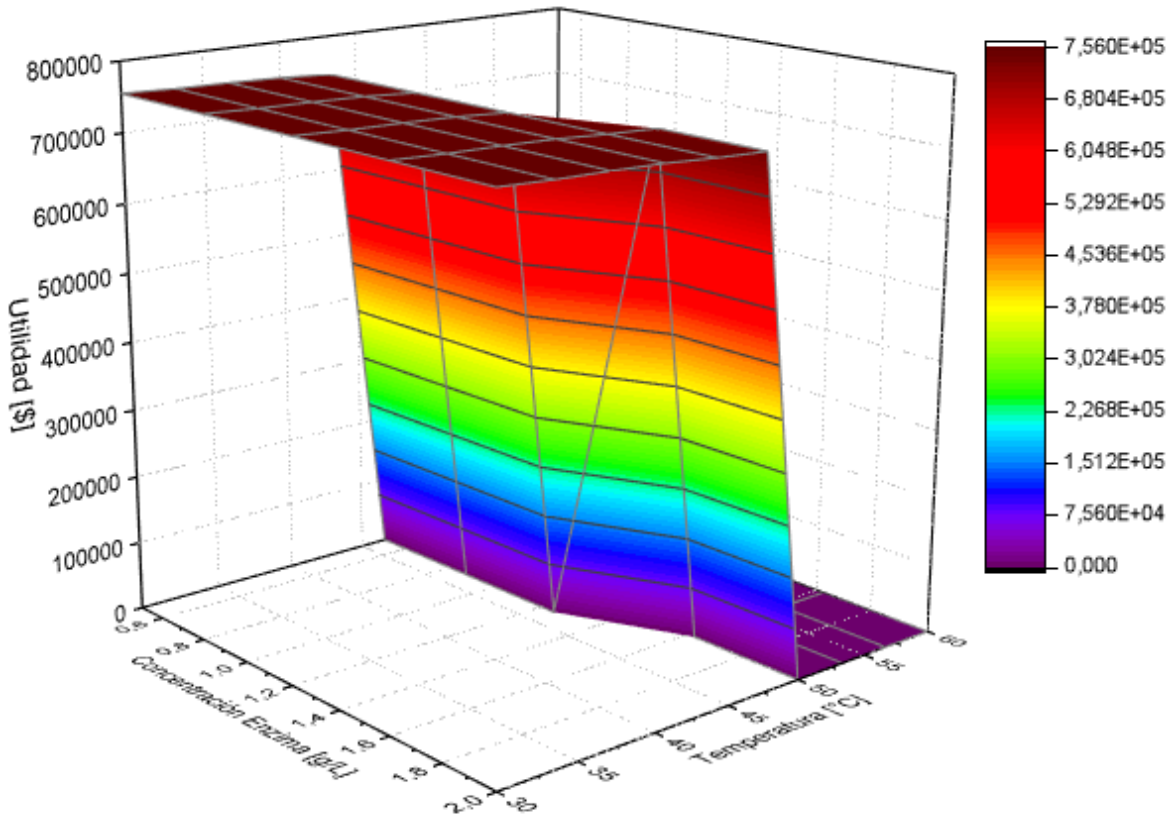


Figura 5.16: Utilidad del proceso de hidrólisis de lactosa según el precio del manjar reducido en lactosa. Considerando una conversión del 90%, una concentración de lactosa de 276.8 [mM] y un volumen de reactor de 500 [L].

Un aumento de la conversión genera una disminución en la utilidad. Sin embargo la diferencia de utilidad en los rangos de operación es poco significativa, con una diferencia del 2% entre el mayor y menor valor de utilidad.

Una disminución de la concentración de lactosa a 154,1 [mM], para una conversión del 30% y un volumen de reactor de 500 [L], produce un aumento de la utilidad manteniendo la diferencia no significativa entre el menor y mayor valor de utilidad.

Un aumento del volumen de reactor a 1000 [L], para una conversión del 30% y una concentración de lactosa de 276.8 [mM], se aprecia en la Fig. 5.17:

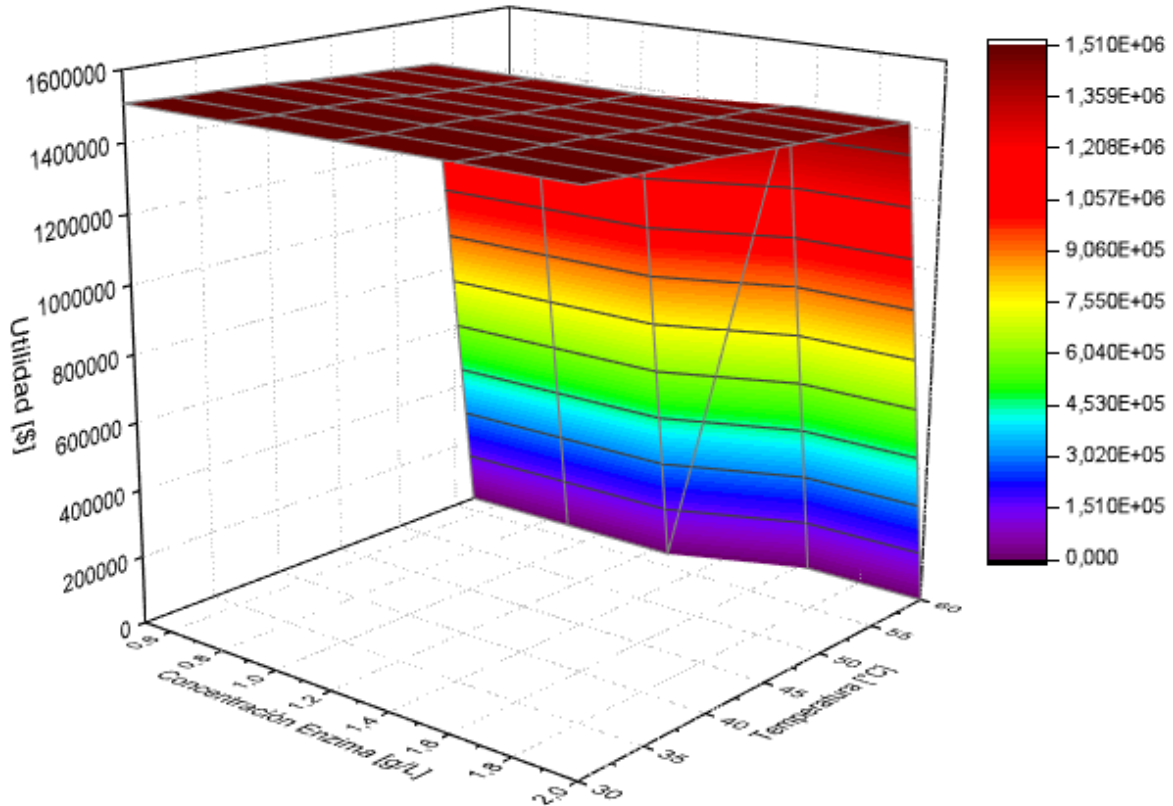


Figura 5.17: Utilidad del proceso de hidrólisis de lactosa según el precio del manjar reducido en lactosa. Considerando una conversión del 30%, una concentración de lactosa de 276.8 [mM] y un volumen de reactor de 1000 [L].

Del gráfico anterior se observa que mientras mayor es el volumen de reactor, mayor es la utilidad. Sin embargo la diferencia de utilidad en los rangos de operación es poco significativa, con una diferencia del 3.8% entre el mayor y menor valor de utilidad.

Aunque los gráficos anteriores consideran solo el costo para el proceso de hidrólisis de lactosa de la leche y no así los procesos adicionales para la producción del manjar, donde los gráficos de utilidades disminuyen en un 85% considerando los costos adicionales. Sin embargo los gráficos no varían significativamente en la diferencia de utilidad en los rangos de operación entre la mayor y la menor utilidad de cada lote.

De los resultados del estudio fue posible determinar que la máxima productividad volumétrica para una conversión del 30% de lactosa a una concentración de lactosa de 276,8 [mM] de 9,28 [mM/min], se alcanza a 50 [°C] y 2 [g/L]. Mientras que del estudio económico fue posible determinar que el costo mínimo de agitación para un volumen de reactor de 500 [L], una conversión del 30% de lactosa a una concentración de lactosa de 276,8 [mM] de 1.4 [\$] por lote, se alcanza a 50 [°C] y 2 [g/L]. Sumado a que el costo mínimo de calefacción para un volumen de reactor de 500 [L], una conversión del 30% de lactosa a una concentración de lactosa de 276,8 [mM] de 6.950 [\$] por lote, se alcanza a 30 [°C] y 0.5 [g/L]. Finalmente la máxima utilidad para un volumen de reactor de 500 [L], una conversión del 30% de lactosa a una concentración de lactosa de 276,8 [mM] de 755.196 [\$] por lote, se alcanza a 30 [°C] y 2 [g/L].

Considerando un caso particular en que se desea satisfacer una demanda de producto hidrolizado de 20 [m³/día], fue posible establecer un análisis para la variable de volumen del reactor. El tiempo de operación permite calcular la cantidad de ciclos de operación en un turno de trabajo de 24 [h] y con esto se calculó el cociente entre la demanda por turno y los ciclos por turno, el cual representa el volumen de cada carga. Como el tiempo de operación de cada carga depende de la temperatura y concentración de enzima, se determinó un análisis de sensibilidad de la utilidad según el volumen del reactor. Observando que mientras menor sea la temperatura y menor sea la concentración de enzima, mayor será el volumen de reactor pues mayor será el tiempo de operación de cada carga.

La utilidad crece linealmente en función del volumen del reactor sin presentar un máximo de operación. Se tiene una máxima utilidad de 755.196 [\$] por lote, para un volumen de reactor de 185 [L] a una conversión del 30% de lactosa y una concentración de lactosa de 276,8 [mM], se alcanza a 30 [°C] y 2 [g/L].

Lo cual satisface la demanda diaria de producto hidrolizado en 108 ciclos de 13.3 [min] por turno. Se tiene una máxima utilidad de 755.186 [\$] por lote, para un volumen de reactor de 185 [L] a una conversión del 90% de lactosa y una concentración de lactosa de 276,8 [mM], se alcanza a 30 [°C] y 2 [g/L]. Lo cual satisface la demanda diaria de producto hidrolizado en 16 ciclos de 85.8 [min] por turno.

Los óptimos de productividad volumétrica y el mínimo de costos no coinciden respecto de la temperatura y concentración de enzima. En consecuencia las utilidades tampoco coinciden.

CAPITULO 6

CONCLUSIÓN

6. Conclusión

El estudio económico determinó que el proceso es rentable incluso disminuyendo el precio del manjar en un 80% donde la utilidad neta es cero.

El mayor costo para el proceso de hidrólisis de lactosa es el costo en leche, seguido por el costo de enzima, el costo de vapor y finalmente el costo de agitación.

Al operar a conversiones de lactosa más bajas la productividad volumétrica aumenta, los costos de insumos disminuyen y la utilidad aumenta.

7. Referencias

- Abu-Reesh, I. Optimal design for CSTR in series performing enzymatic lactose hydrolysis. *Bioprocess Engineering* 23, (6): 709-713. 2000.
- Alvaro, G, Fernandez-Lafuente, R, Blanco, R y Guisán, J. Stabilizing effects of penicillin G sulfoxide, a competitive inhibitor of penicillin G acylase. *Enzyme Microb Technol.* 42, (9): 455-464. 1993.
- Ballesteros, A, Plou, F, Iborra, J y Halling, P. Stability and stabilization of biocatalysts, Elsevier Science, (1): 756. 1998.
- Bairoch, A. The enzyme database in 2000. *Nucleic Acids Research*, 28, (1): 304. 2000.
- Bommarius, A y Karau, A. Deactivation of formate dehydrogenase (FDH) in solution and at gas-liquid interfaces. *Biotechnology and Bioengineering*, 21, (6): 1663-1672. 2005.
- Bourdillon, C, Hervagault, C y Thomas, D.. Increase in operational stability of glucose oxidase by the use of an artificial cosubstrate. *Biotechnology and Bioengineering*, 27 (11): 1619-1622. 1985.
- CNE. Comisión Nacional de Energía. Chile. 2014. <
<http://www.cne.cl/tarificacion/electrica/precio-nudo-corto-plazo/abril-2014/>>
- Garcia, M, Quintero, R y López-Munguía, A. *Biología Alimentaria*. Limusa, (1): 637. 2004.
- Cantarella, M, Alfani, F y Cantarella, L. Entrapment of enzymes and cells in poly (2-hydroxyethyl methacrylate) supports. *Immobilization of Enzymes and Cells*. Bickerstaff, G. Humana Press, (6): 67-76. 1997.
- Caussette, M y Gaunand, A. Enzyme inactivation by inert gas bubbling. *Progress in Biotechnology*, (15): 393-398. 1998.
- Charles, A. *Ciencia de la Leche*, Reverté, (1): 873. 1985.
- Cheng, C y Wu, J. Substrate protection of immobilized glucose isomerase. *Biotechnology and Bioengineering*, 30, (7): 817-824. 1987.
- D'Souza. Immobilized enzymes in bioprocess. *Science & Technology* 77, (1): 69-79. 1999.
- Eckart.S.A. Valor conversión de hidrólisis de lactosa para evitar cristalización del manjar. [Entrevista por correo]. Valparaíso. 2015. (Pedro Valencia Araya, Entrevistador)

- Esnaola, V. Situación del mercado del manjar en Chile. ODEPA. 2015.
- Fadnavis, N y Luisi, P. Immobilized enzymes in reverse micelles: studies with gel-entrapped trypsin and chymotrypsin in AOT reverse micelles. *Biotechnology and Bioengineering*. (10): 1277-1282. 1989.
- Garman, J, Coolbear, T y Smart, J. The effect of cations on the hydrolysis of lactose and the transferase reactions catalysed by β -galactosidase from six strains of lactic acid bacteria. *Microbiology & Biotechnology*, (46): 22-27. 1996.
- Godfrey, T y Reichelt, J. *Industrial Enzymology, The Application of Enzymes In Industry, Lactose hydrolysis*. Nature Press, 20, (2): 221-259. 1983.
- Golberg, R y Tewari, Y. A Calorimetric and Equilibrium Investigation of the hydrolysis of lactose. *The journal of biological chemistry* 264, (17): 9897-9900. 1989.
- Guisán, J. Immobilization of enzymes and cells. *Methods in Biotechnology* 22, (7): 1-13. 2006.
- Harris, M. *Introducción a la antropología General*. USA, Alianza Editorial, (1): 720. 2005.
- Habio. Sichuan Habio Bioengineering Ltda. Enzima comercial. [www.Alibaba.com](http://spanish.alibaba.com/product-detail/lactase-beta-galactosidase-enzyme-for-functional-food-60470258852.html?s=p). (<http://spanish.alibaba.com/product-detail/lactase-beta-galactosidase-enzyme-for-functional-food-60470258852.html?s=p>).
- Hough, M. Sensory and objective measurement of sandiness in Dulce de Leche. *Diary Sci*, (73): 604-611. 1990
- Horvath, C y Jean-Marc, E. External and internal diffusion in heterogeneous enzymes systems. *Biotechnology and Bioengineering* 16, (7): 909-923. 1974.
- Illanes, A, Altamirano, C, Aillapan, A, Tomasello, G y Zuñiga, M. Packed-bed reactor performance with immobilised lactase under thermal inactivation. *Enzyme and Microbial Technology* 23, (2): 3-9. 1998.
- Illanes, A. *Enzyme Biocatalysis. Principles and Applications*. India, Springer Netherlands, 392. 2008.
- Jenness, R y Patton, S. *Principles of Dairy Chemistry*. USA. Hohn Wiley & Sons Inc, 446. 1959.

- Jurado, E, Camacho, F, Luzon, G y Vicaria, J. A new kinetic model proposed for enzymatic hydrolysis of lactose by a β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. *Enzyme and Microbial Technology* 31, (1): 300-309. 2002.
- Jurado, E, Camacho, F, Luzon, G y Vicaria, J. Kinetic models of activity for β -galactosidases: influence of pH, ionic concentration and temperature. *Enzyme and Microbial Technology* 34, (1): 33-40. 2004.
- Katchalski-Katzir, E. Immobilized enzymes. Learning from past successes and failures. *Trends Biotechnology* 11, (11): 471-478. 1993.
- Klibanov, A. Stabilization of enzyme against thermal inactivation. *Adv Appl Microbiology*, (29): 1-28. 1983.
- Kobayashi, T y Laidler, K. Kinetic analysis for solid-supported enzymes. *BBA-Enzymology* 302, (1): 1-12. 1973.
- Kumar, R, Krishnamurthy, A y Subbaraman Shankar, H. Kinetics and reaction engineering of penicillin G hydrolysis. *Chemical Technology and Biotechnology* 66, (3): 243-250. 1996.
- Liauricchio. Lactose intolerance. *Post. Med.* 63, (95): 113-116. 1994.
- Levenspiel, O. *Ingeniería de las Reacciones Químicas*. Reverté, 634. 1987.
- Misset, O. Stability of industrial enzymes. Elsevier, (1): 111-131. 1993.
- Morcillo, J. *Temas básicos de química*. Pearson Educacion, 708. 1981.
- Muscat, A y Vorlop, K. Poly (carbamoyl sulfonate) hydrogels. *Methods in Biotechnology*, (1): 125-131. 1997.
- Murray, R, Bender, D y Botham, K. *Bioquímica de Harper*. MCGRAW-HILL, 685. 1977.
- Nestlé.S.A. Valor aproximado costo del proceso de hidrólisis en la producción del manjar. [Entrevista por correo]. Los Ángeles. 2016. (Cesar Rodríguez, Entrevistado).
- ODEPA. Estudio de Mercado Dulce de Leche. Exportaciones del manjar aumentaron 3.2% en el primer semestre de 2014. <<http://www.odepa.cl/?s=manjar>>.
- Ordoñez, J. *Tecnología de los Alimentos, Volumen II, Alimentos de Origen Animal*. Síntesis, 368. 1998.
- O'Neill, S. Thermal inactivation of immobilized enzymes in continuous reactors. *Biotechnology and Bioengineering* 14, (3): 473-491. 1972.

- Ospina, S, López-Munguía, A, Luz, R y Quintero, R. Characterization and use of a penicillin acylase biocatalyst. *Chemical Technology and biotechnology* 53, (2): 205-213. 1992.
- Perry, R. *Manual de Ingeniería Química*. MCGRAW-HILL, 2577. 2008.
- ProChile. Demanda mundial de leche incrementara un 36% la próxima década. 2015. <<http://www.prochile.gob.cl/noticia/demanda-mundial-de-leche-incrementara-en-un-36-en-la-proxima-decada/>>.
- Roger, V. *Lactología Técnica, Composición y Estructura de la Leche*. Acribia, 425. 1991.
- Ross, J. *Heterogeneous Catalysis: Fundamentals and applications*. Elsevier, 232. 2011.
- Santos, A, Ladero, M y García-Ochoa, F. Kinetic modeling of lactose hydrolysis by a *β*-galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. *Enzyme and Microbial Technology* 22, (7): 558-567. 1998.
- Serralheiro, M, Empis, J y Cabral, M. Peptide synthesis by microencapsulated chymotrypsin. *Annals of the new york academy of sciences* 613, (10): 638-642. 1990.
- Smith, T, Campbell, P y Atwood, T. *Oxford dictionary of biochemistry and molecular biology*. Oxford University Press, 736. 2006.
- St Clair, N, Navia, M. Cross-linked enzyme crystals as robust biocatalysts. *J. Am. Chem* 114, (18): 7314-7316. 1992.
- Vaghjiani, Production and characterisation of cross-linked enzyme crystals (CLECs) for application as process scale biocatalysts. *J. Am. Chem* 114, (18): 314-316. 2000.
- Villaume, I y Thomas, D. Catalysis may increase the stability of an enzyme. En the example of horse liver alcohol dehydrogenase. *Butterworth scientific ltda* 12, (1): 506-508. 1990.
- Walstra, P, Geurts, T, Noomen, A, Jellema, A y van Boekel, M. *Dairy Technology. Principles of milk properties and processes*. Marcel Dekker, 791. 1999.

8. Anexos

8.1. Anexo 1

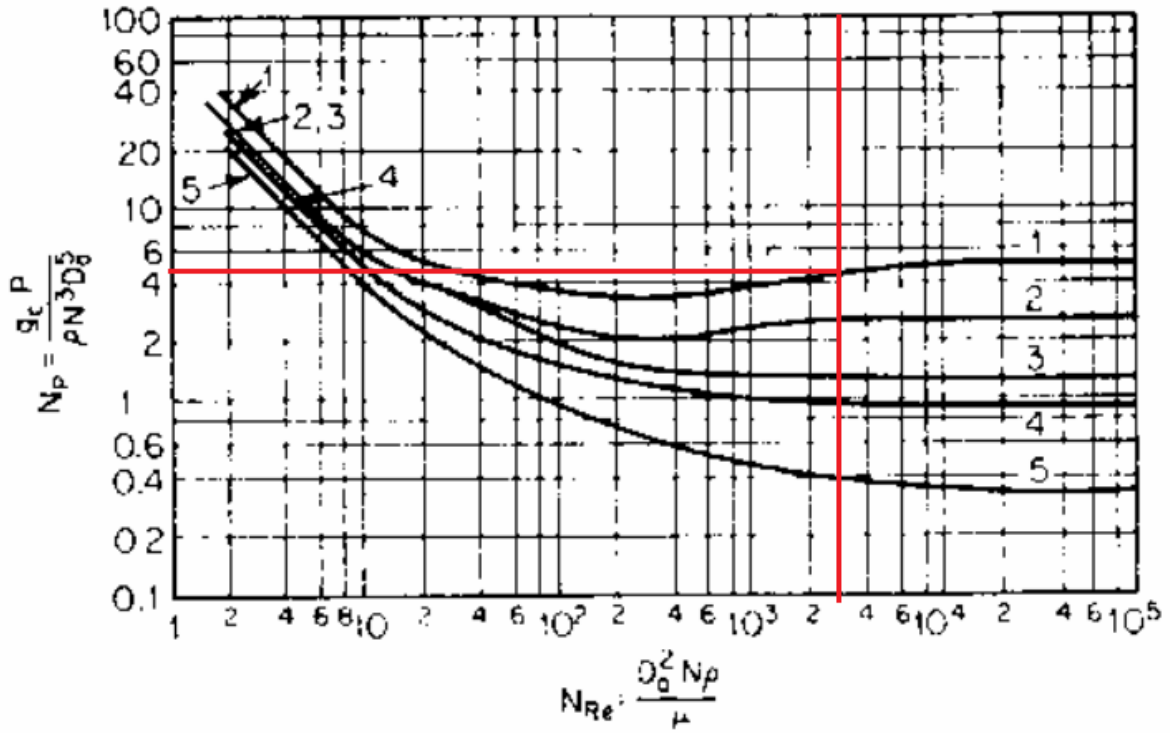


Figura 8.1: Correlación número de potencia en función del Reynolds.

8.2. Anexo 2

Tabla 8.1: Caso Variables óptimas de operación para 20 [m³/turno] demandado

Interfaz Variables Optimas		
Constantes		
Precio Producto	1,71	S/gr
Precio Enzima	34	S/gr
Precio Vapor	13.6	\$/Kg
Precio Electricidad	53,7	\$/KWh
Precio Leche	220	\$/Kg
Demanda	20	m3/turno
Densidad Manjar	1030	Kg/m3
Variables		
So	276.8	mM
X	0,3	
T	303	K
Eo	2	g/L
Vr	500	L
Estudio Productividad		
Tiempo operación	13.3	min
Productividad Volumétrica	9,282	mM/min
Calor requerido	888.464	KJ/s
masa de vapor	23,62	Kg/min
Potencia Agitador	0,32	KW
Estudio Económico		
Ganancias operacionales	\$ 888.650	\$/lote
Costos Operacionales		
Costo Enzima	\$ 34.000	\$/lote
Costo Vapor	\$ 6.950	\$/lote
Costo Agitación	\$ 3,8	\$/lote
Costo Leche	\$110.000	
Utilidad	\$ 755.196	\$/lote
Costo Totales	\$ 150.954	\$/lote