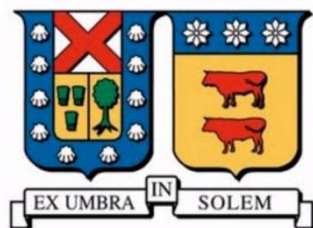


UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERIA QUIMICA Y AMBIENTAL
VALPARAÍSO – CHILE



“EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LA OPERACIÓN DE UN
REACTOR ENZIMÁTICO PARA LA HIDRÓLISIS DE
PROTEÍNAS DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA
PESQUERA”

ÓSCAR ANDRÉS VERA ARAYA

Memoria para optar al título de
INGENIERO CIVIL AMBIENTAL

COMISION DE MEMORIA

Dr. Pedro Valencia Araya:	Profesor Guía
Dr. Ricardo Simpson Rivera:	Profesor Guía

Valparaíso, 2016

Agradecimientos

Quiero agradecer en primer lugar a Dios.

También a mi madre, a Ricardo y a mi tía Ruth que me han apoyado en todo momento.

A mis hermanos que han sido a la vez buenos amigos y un gran soporte.

A mis amigos Antonio y Rodrigo que me han acompañado, guiado y enseñado desde la infancia.

A Felipe U. Por su simpatía y sana convivencia.

A mis amigos y compañeros en este gran camino Franco, Fabián, Felipe, Francisco, Lino, Javier, Charbel, Gastón y Héctor.

Agradecer por su paciencia y buena disposición a mi profesor guía Pedro y al profesor Ricardo.

¡A todos muchísimas gracias!

Resumen

En la actualidad la industria pesquera, genera grandes cantidades de residuos orgánicos (subproductos como las colas de pescado, piel, escamas, cabezas, espinas, etc.) y trata estos subproductos como desechos, residuos de poco valor o residuos a los cuales se les adjudican un bajo valor agregado, debido a su compleja composición y especialmente su alto contenido en sustancias orgánicas.

Una alternativa para la reutilización de los subproductos es hidrolizar enzimáticamente las proteínas del pescado lo que permite generar un producto con un alto valor agregado y propiedades funcionales que favorecen diversos procesos en la industria alimentaria.

En el procesamiento de los subproductos de la industria pesquera mediante hidrólisis enzimática de las proteínas del pescado, influyen varios factores y en especial las variables operacionales (Temperatura de operación, concentración inicial de sustrato, concentración inicial de enzima, conversión, entre otras.), pues se deben controlar de forma simultánea de manera que se cree un producto de propiedades funcionales acorde a los requerimientos del mercado y además que la producción resulte viable económicamente.

Es necesario un análisis en profundidad del comportamiento de las variables para la obtención de los parámetros operacionales que permitan optimizar económicamente el procesamiento de los subproductos. Para esto, se requiere estudiar un modelo matemático que determine el comportamiento de la reacción para así analizar las variables importantes en la operación como la concentración inicial de sustrato, temperatura de reacción, conversión y concentración inicial de enzima para posteriormente ver la incidencia de estas variables en la productividad, los costos y las utilidades.

Los resultados mostraron que las condiciones de operación que maximizan la producción no coinciden con los mínimos de las funciones de costos, por lo cual se analiza la función de utilidades que incluye a ambas y muestra de buena forma la viabilidad de la operación por cada lote.

Luego del análisis de la función de utilidades, considerando un volumen de reactor $V_r=1\text{m}^3$, el producto con un grado de hidrólisis $DH=5\%$ es el que presenta mayores beneficios económicos, donde los costos totales son un 18% de los ingresos, con un total de utilidades de \$188.767 pesos por lote con $S_o=166[\text{mM}]$, $T_{op}=54^\circ\text{C}$ y $E_o=0,04[\text{g/l}]$. Además se determinó que el costo de agua es el más bajo de los costos y el costo más importante es el costo de enzima el cual puede llegar al 88% de los costos totales. En cuanto al máximo en las utilidades por jornada estas ascienden a \$966.747 pesos y las condiciones operacionales son $T_{op}=66^\circ\text{C}$, $S_o=166[\text{mM}]$ y $E_o=0,77[\text{g/l}]$.

Contenidos

Resumen.....	3
Contenidos	4
1. Introducción	9
Objetivo General.....	11
Objetivos Específicos	11
2. Antecedentes	13
2.1. La industria pesquera en Chile.....	13
2.2. Importancia del Salmon en la industria pesquera en Chile.....	16
2.3. Aspectos ambientales de la industria del Salmón	19
2.4. Aprovechamiento de los subproductos de la industria del salmón	20
2.5. Proteínas del músculo de pescado	20
2.6. Hidrolizados de proteínas de pescado	22
2.6.1. Tipos de hidrolisis	22
Hidrólisis química	22
Hidrólisis ácida.....	22
Hidrólisis básica o alcalina.....	23
Hidrólisis enzimática de proteínas	23
2.7. La enzima.....	23
2.8. Grado de Hidrolisis.....	25
2.9. Hidrólisis enzimática de proteínas de pescado.....	25
2.10. Propiedades funcionales, tecnológicas y nutricionales.....	27
2.11. El proceso de hidrólisis enzimática de proteínas de pescado	28
2.12. Factores que afectan la hidrólisis enzimática de proteínas de pescado.....	29
2.12.1. Temperatura de reacción:.....	29
2.12.2. Concentración inicial de sustrato:	30
2.12.3. Concentración inicial de Enzima:	30
2.12.4. El pH de la mezcla	31
2.13. Modelo de cinética enzimática	31
2.13.1. Inhibición enzimática.....	32
2.13.2. Inactivación térmica.....	34

2.14. Balances de materia y energía en el reactor por lotes.....	35
Dimensionamiento del reactor por lotes.....	36
Balance de materia	36
Balance de energía	37
2.14.1. Régimen isotérmico en el reactor por lotes	40
2.15. Modelo de evaluación de desempeño de la hidrólisis enzimática	41
Modelo del comportamiento del reactor	42
3. Metodología	44
3.1. Uso del modelo de evaluación de desempeño de la hidrólisis enzimática	44
3.2. Las variables operacionales para el modelo de desempeño del reactor enzimático	45
3.3. Operación del reactor de hidrólisis enzimática de proteínas de pescados.....	48
3.4. Variables de optimización de la operación del reactor enzimático.	49
3.5. Análisis de las utilidades en función de las variables operacionales	54
3.6. Rangos de operación de las variables operacionales.	56
4. Resultados	60
4.1. Análisis de las variables operacionales.	60
4.1.1 Comportamiento de la conversión de sustrato en el reactor por lotes	60
4.1.2 Inactivación de la enzima en función de las variables operacionales.....	61
4.1.3 Productividad en función de la temperatura de operación y Eo	63
4.2. Análisis de Costos en función de las variables operacionales	67
4.3. Costos totales en función de las variables operacionales.....	73
4.4. Comportamiento general de los costos.....	82
4.5. Ingresos en función de las variables operacionales.....	83
4.6. Análisis de las utilidades.....	84
4.7. Maximización de las utilidades.....	87
4.8. Caso particular Caleta Portales.....	92
5. Conclusión.....	95
6. Referencias	98

Índice de Figuras

Figura 2.1.: Desembarque total de peces por subsector (2013).....	15
Figura 2.2: Participación en el desembarque total de peces por subsector.....	16
Figura 2.3: Desembarque total por región 2013 [Ton].....	16
Figura 2.4: Chile, Desembarque total por día, 2013.....	17
Figura 2.5: Chile: Exportaciones pesqueras y acuícolas.....	18
Figura 2.6: Clasificación de las proteasas.....	25
Figura 2.7: Mecanismo Catalítico de la Proteasa.....	27
Figura 2.8: Efecto de la temperatura en enzima Alcalasa.....	31
Figura 2.9: Efecto del pH en enzima Alcalasa.....	32
Figura 2.10: Mecanismo de reacción de hidrólisis enzimática de proteínas.....	33
Figura 2.11: Esquema para el modelo de comportamiento del reactor enzimático.....	43
Figura 4.1: Conversión versus tiempo de reacción $E_o=3$ [g/L], $S_o=40$ mM.....	55
Figura 4.2: Conversión versus tiempo de operación $E_o=3$ [g/L], $S_o=166$ mM.....	56
Figura 4.3: Conversión versus tiempo de operación $E_o=1,5$ [g/L], $S_o=40$ mM.....	56
Figura 4.4: Tiempo de operación versus temperatura de operación $DH=5\%$, $S_o=166$ mM.....	57
Figura 4.5: Tiempo de operación versus temperatura operación $DH=15\%$, $S_o=166$ mM.....	58
Figura 4.6: Tiempo de operación versus temperatura de operación $DH=15\%$, $S_o=87$ mM.....	59
Figura 4.7: Concentración S_o versus tiempo de operación $E_o=1$ [g/L], $S_o=166$ mM.....	59
Figura 4.8: Concentración S_o versus tiempo de operación $E_o=2$ [g/L], $S_o=166$ mM.....	60
Figura 4.9: Concentración de enzima versus tiempo de operación $E_o=1$ [g/L], $S_o=166$ mM.....	61
Figura 4.10: Actividad Enzimática versus tiempo de operación $S_o=1$ [g/L], $S_o=83$ mM.....	62
Figura 4.11: Productividad versus Temperatura, $DH=5\%$, a) $S_o=83$ mM, b) $S_o=166$ mM.....	63
Figura 4.12: Productividad versus Temperatura $DH=15\%$, a) $S_o=83$ mM, b) $S_o=166$ mM.....	64
Figura 4.13: Productividad versus Temperatura $DH=25\%$, a) $S_o=83$ mM, b) $S_o=166$ mM.....	65
Figura 4.14: Costo Calentamiento previo versus Temperatura $S_o=88$ mM.....	66
Figura 4.15: Costo de enzima versus Concentración inicial de Enzima.....	68
Figura 4.16: Costo de agua versus %S, Según volumen del reactor.....	68
Figura 4.17: Costo tratamiento térmico versus temperatura de operación $S_o=88$ mM.....	70
Figura 4.18: Costos totales versus temperatura de operación $DH=5\%$, $S_o=88$ mM, $V_r=0,5$ m ³	71
Figura 4.18: Costos totales versus temperatura de operación $DH=5\%$, $S_o=88$ mM, $V_r=0,5$ m ³	72

Figura 4.19: Costos totales versus temperatura de operación DH=5%, So=88mM, Vr=1,5m3.....	72
Figura 4.20: Costos totales versus temperatura de operación DH=15%, So=88mM, Vr=0,5m3.....	73
Figura 4.21: Costos totales versus temperatura DH=15%, So=88mM, Vr=1,5m3.....	74
Figura 4.22: Costos totales versus temperatura DH=25%, So=88mM, Vr=0,5m3.....	74
Figura 4.23: Costos totales versus temperatura DH=25%, So=88mM, Vr=1,5m3.....	75
Figura 4.24: Costos totales versus temperatura DH=5%, So=166mM, Vr=0,5m3.....	76
Figura 4.25: Costos totales versus temperatura DH=5%, So=166mM, Vr=1,5m3.....	77
Figura 4.26: Costos totales versus temperatura DH=15%, So=166mM, Vr=0,5m3.....	77
Figura 4.27: Gráfico Costos totales versus temperatura DH=15%, So=166mM, Vr=1,5m3.....	78
Figura 4.28: Gráfico Costos totales versus temperatura DH=25%, So=166mM, Vr=0,5m3.....	79
Figura 4.29: Costos totales versus temperatura DH=25%, So=166mM, Vr=1,5m3.....	80
Figura 4.30: Gráfico ingresos versus Grado de hidrolisis.....	82
Figura 4.31: Ingresos, costos y utilidades según grado de hidrolisis.....	84
Figura 4.32: Distribución porcentual de los costos para cada producto.....	85
Figura 4.33: Dimensiones del reactor con volumen Vr=6,7 m3.....	86

CAPÍTULO

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

I

1. Introducción

La industria pesquera en Chile es una actividad económica en desarrollo que permite la extracción y cultivo de varias especies de la fauna marina. Los principales organismos pertenecen a la familia de moluscos, crustáceos, peces y otros organismos, los mayores volúmenes de extracción y cultivo corresponden a peces y primordialmente especies de salmón, merluzas, sardinas, anchovetas, entre otras. En Chile la industria pesquera se distribuye a lo largo de todo el país y su producción dependerá de la zona geográfica, la estación del año, las vedas correspondientes, entre otros factores.

En esta industria, para dar valor agregado a la materia prima pesquera, existen plantas faenadoras que procesan el pescado generando una gran gama de productos congelados, conservas, aceites, harina de pescado, entre otros. Los cuales son destinados tanto al mercado interno como al mercado internacional.

A medida que se procesa la materia prima se generan una gran cantidad de residuos comúnmente llamados descartes o subproductos (tales como espinas, piel, viseras, escamas, aletas y cabezas del pescado) que deben ser tratados de forma eficiente para no provocar contaminación o perjudicar al medio circundante. Los subproductos generados en esta industria poseen alto contenido orgánico, lo cual dificulta su tratamiento y los lugares posibles de disponer, siendo un alto costo a considerar, lo que repercute directamente en los beneficios alcanzados en cada ciclo productivo.

Una forma de revalorizar estos subproductos, es utilizarlos como materia prima para ser procesados mediante hidrólisis enzimática para producir hidrolizado enzimático de proteína de subproductos de pescados. Este hidrolizado tiene propiedades funcionales que los productos similares en el mercado como la harina de pescado y otros no poseen, lo que le confiere valor agregado y ventajas considerables pues permite modificar propiedades tales como la solubilidad, emulsión, formación de espuma y mejoras en el sabor.

La operación de la hidrólisis enzimática de subproductos de pescado se puede realizar en reactores por lotes donde se debe controlar varias variables de operación de forma simultánea de manera que se produzca el hidrolizado enzimático y resulte viable económicamente. Entre las variables más importantes del proceso se encuentran: La concentración de sustrato, la concentración de enzima, la temperatura de proceso, la conversión de sustrato, el pH, entre otras.

Para comprender el efecto de cada variable de operación en el proceso, se analiza cada una de las variables por separado.

Temperatura de reacción: En la reacción de hidrólisis enzimática, a medida que aumenta la temperatura se eleva también la velocidad de reacción, pero esto va en desmedro de la

enzima, pues sufre inactivación térmica y esta inactivación es mayor al aumentar la temperatura. Por otro lado, a mayores temperaturas en el sistema, aumentan también los costos por calentamiento previo a la reacción.

Concentración inicial de sustrato: En la industria pesquera el consumo de agua afecta fuertemente los costos de producción, por lo cual, se desea que el consumo de agua para este proceso sea el mínimo posible, para esto el sustrato (proteínas de subproductos de pescado) debe tener la mayor concentración posible, pero debe permitir que el contenido dentro del reactor por lotes se comporte como un fluido tal que se logre una adecuada homogenización.

Cantidad de Enzima: La cantidad de enzima puede ser uno de los factores más influyentes en los costos de operación, pues mientras mayor es la concentración inicial de enzima en el sistema, mayor es la velocidad de reacción y la productividad, pero también mayores son los costos por lote.

Para esto, el presente estudio plantea la determinación teórica de las condiciones de operación óptimas, con esto se optimiza el proceso de producción de hidrolizado enzimático de proteínas de pescado de forma económica, minimizando los costos y aumentando la productividad, en condiciones que permitan la reacción de hidrólisis enzimática de proteínas de forma eficiente y económicamente favorable.

Objetivo General

Evaluar económicamente la operación de un reactor enzimático por lotes para la hidrólisis de proteínas de subproductos de pescados

Objetivos Específicos

1. Determinar el comportamiento de la reacción de hidrólisis enzimática de proteínas de pescado mediante simulación matemática
2. Calcular la productividad, costos, ingresos y utilidades en función de las variables operacionales: concentración de sustrato, temperatura de reacción, conversión y concentración de enzima.
3. Determinar las condiciones teóricas de operación del reactor que maximicen utilidades.

CAPÍTULO

ANTECEDENTES GENERALES

II

2. Antecedentes

2.1. La industria pesquera en Chile

El ecosistema del mar chileno permite el desarrollo de una variada fauna marina. La explotación de estos recursos ha favorecido el desarrollo de una creciente industria pesquera que se distribuye a lo largo de todo el litoral.

El desembarque pesquero es una medida de la cantidad de pescado extraído por el sector industrial, artesanal y cultivador, se expresa regularmente en toneladas extraídas en el periodo estimado y es indicativo de la cantidad de recurso pesquero en el mercado nacional e internacional.

En el gráfico de la Figura 2.1, se aprecia la participación de cada subsector en el desembarque total de peces, como también la creciente importancia de la pesca artesanal y de la acuicultura. Este último subsector se contempla como la actividad que permitiría incrementar mayormente la producción acuática en un futuro próximo.

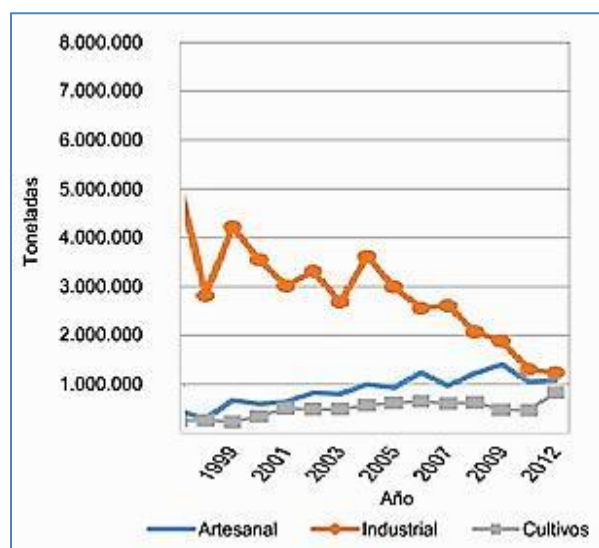


Figura 2.1.: Desembarque total de peces por subsector (2013)

Fuente: (Odepa, 2013)

La pesca industrial se ve disminuida por la escasez de peces en el territorio nacional. La pesca artesanal es la actividad que ha sufrido las mayores variaciones, donde los volúmenes no son homogéneos a lo largo del país.

En el caso de las cosechas provenientes de la acuicultura éstas muestran que luego de una estabilización debido a problemas sanitarios por el llamado virus ISA, un aumento significativo al año 2013 para alcanzar volúmenes en torno al millón de toneladas.

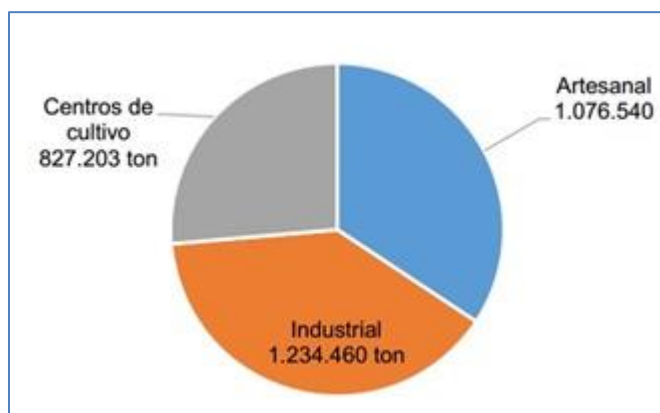


Figura 2.2: Participación en el desembarque total de peces por subsector

Fuente: (Odepa, 2013)

La utilización del desembarque total ha variado a través de los años. El cuadro mostrado más adelante, muestra la evolución del uso del desembarque. Los peces van mayoritariamente a la producción de harina, y en menor cantidad a congelados, conservas o fresco.

Tabla 2.1: Utilización del desembarque total

(% de participación en cada grupo)					
Producto	1970	1990	2000	2011	2012
Peces					
Fresco y enfriado	6%	3%	1%	11%	16%
Congelado, conserva y otros	3%	9%	19%	15%	19%
Harina	91%	88%	80%	74%	65%

Durante el 2013, la pesca y acuicultura nacional suministraron productos a consumidores de más de 110 países, dentro de los cuáles los más relevantes son Estados Unidos (25,5%), Japón (19,2%), Brasil (9,7%) y China (7,6%).

Los principales recursos hidrobiológicos durante el 2013, en términos de volúmenes y al igual que en los últimos años son:

En la pesca: Anchoqueta (*Engraulis ringens*), Sardina común (*Strangomera bentincki*), Huiro negro (*Lessonia nigrescens*), Jurel (*Trachurus murphyi*) y Jibia (*Dosidicus gigas*)

En la acuicultura: Salmón del atlántico (*Salmo salar*), Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y Salmón plateado (*Oncorhynchus kisutch*)

A nivel regional destacan, en términos globales (pesca y acuicultura) las regiones de Los Lagos, del Biobío, de Tarapacá y de Aysén, las cuáles explican el año 2013 el 75% del total de recursos hidrobiológicos provenientes de la pesca y la acuicultura a nivel nacional.

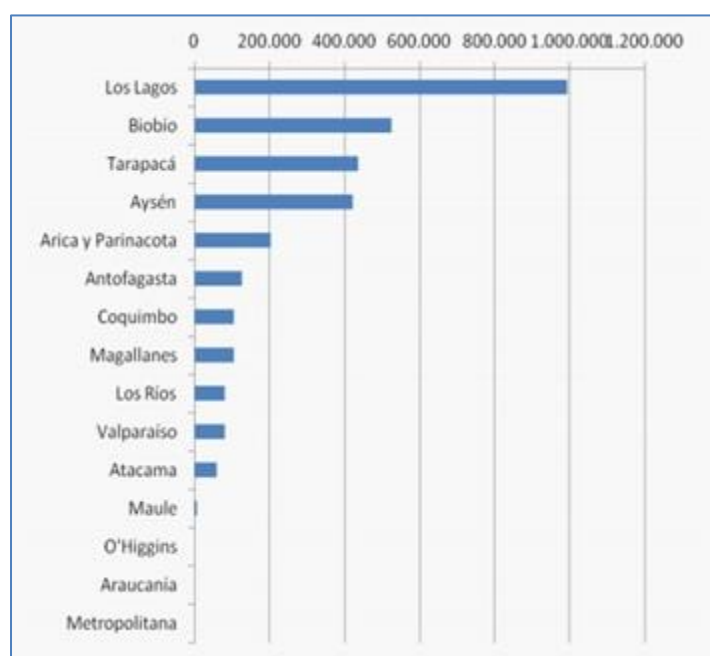


Figura 2.3: Desembarque total por región 2013 [Ton]

Fuente: (www.sernapesca.cl)

Durante el año 2013 la pesca estuvo fuertemente marcada por la disminución de captura de peces pelágicos, particularmente de la especie sardina común. Esta reducción fue más marcada en la flota artesanal, afectando de mayor manera a las embarcaciones de una eslora mayor a 15 m cuyo principal recurso objetivo lo constituyen los peces pelágicos. El patrón de desembarque diario efectuado a través de naves pesqueras, que incluye la suma de la pesca artesanal e industrial, presenta el año 2013 un comportamiento similar al año anterior, aunque los niveles fueron menores, lo que se hizo más marcado entre los meses de marzo a junio.

En general, durante casi todo el año 2013 los desembarques por día fueron inferiores a los logrados el 2012. Durante los meses de agosto y septiembre se aprecia una disminución

importante en los niveles de desembarque lo que está asociado a las restricciones existentes en ese período debido a las medidas de protección del proceso reproductivo que ocurre en una gran cantidad de peces que son explotados comercialmente.

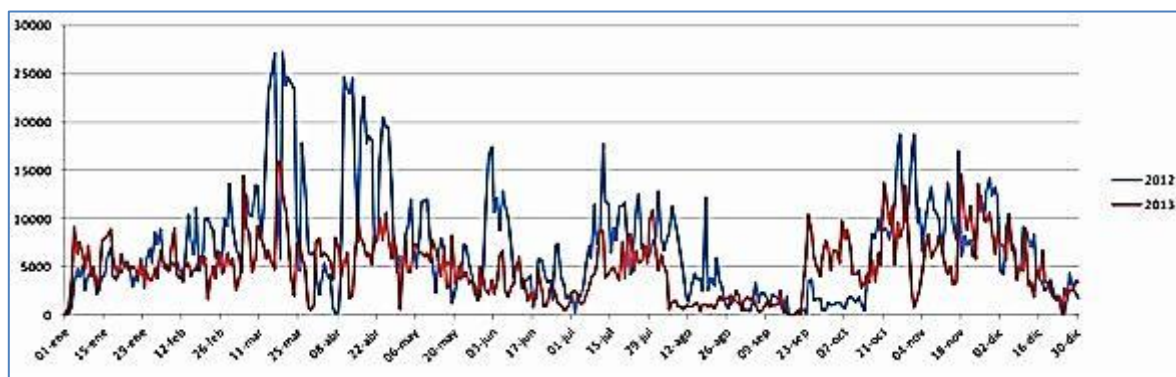


Figura 2.4: Chile, Desembarque total por día, 2013

Fuente: (www.sernapesca.cl)

2.2. Importancia del Salmon en la industria pesquera en Chile

La industria del salmón en Chile ha sido sin duda una de las promesas más relevantes a la hora de hablar de crecimiento en el país. A partir de los años noventa el cultivo del salmón se masificó y fue transformándose en una industria competitiva que podía participar del comercio mundial. Se crearon miles de empleos y se descubrió un concepto que parecía hacer que el crecimiento basado en recursos naturales fuera una alternativa real para alcanzar el desarrollo.

El año 2004 se decía que Chile estaba pisando los talones al mayor productor mundial de salmón, Noruega, país que tenía cerca del 38% de la producción mundial, seguida de Chile que tenía un 36% aproximadamente y ya había dejado a atrás al Reino Unido, quienes serían los terceros con un 7,8%. Esto representa para Chile ventas por sobre los \$2.500 millones de dólares anuales para ese año. Para el año 2012 Chile exporta sobre 1.500.000 Toneladas lo que significa una cifra cercana a los \$4.600 millones de dólares. Esto se aprecia en la figura 2.5.



Figura 2.5: Chile: Exportaciones pesqueras y acuícolas

Fuente: (Odepa, 2013)

La Industria nacional del Salmón ha desarrollado su actividad exportadora creando productos de alta calidad, cumpliendo con las certificaciones que requiere el mercado mundial para abastecer exitosamente con tres especies a más de 70 países, liderando mercados como Japón, Estados Unidos y Brasil.

Con exportaciones que bordean los USM\$3.000, el salmón es el segundo producto más exportado del país, después del cobre. El 40% de los retornos provienen del mercados japonés, principal destino del Salmón del Pacífico o Coho y Salmón del Atlántico, al que se le envía principalmente HG (entero sin cabeza) congelado. Estados Unidos representa el 30% del total de las exportaciones, al constituir el principal destino del Salmón Atlántico o Salar, recibido como filetes frescos vía aérea y Brasil, finalmente, es el tercer principal país de destino con el 11% del total nacional exportado, prioritariamente salmón entero fresco, por vía terrestre.

A continuación en la tabla 2.3 se desglosa cada tipo de salmón y las recaudaciones hasta el año 2012.

Tabla 2.3: Principales Exportaciones pesqueras y acuícolas

Producto	Volumen (Millones USD)				
	2008	2009	2010	2011	2012
Salmon del Atlántico	1497	1085	725	1215	1449
Trucha arcoíris	594	594	902	1066	893
Salmón el Pacífico	299	422	437	645	554
Peces pelágicos	492	513	392	354	317
Jurel	152	185	100	111	135
Salmón s/e	99	68	64	96	133

Fuente: Informe Subsecretaría de Pesca (2012)

Aun cuando el sector ha enfrentado diversas situaciones de crisis, mantiene una tendencia creciente en el valor de las exportaciones alcanzando el 2013 un total de 5.241 millones de dólares, un 16% más que en el año 2012 explicado por los resultados de la salmonicultura que representa el 70,3% del valor total de estas exportaciones.

Los volúmenes de exportaciones del Salmón se han visto afectados de tal manera que comienzan a ser similares al año 2009 recién en 2012, como se aprecia en la tabla 2.4, debido a la serie de políticas implementadas para combatir la problemática del virus ISA y sus repercusiones.

Tabla 2.4: Exportaciones de la acuicultura

Producto	Volumen (Miles de toneladas)				
	2008	2009	2010	2011	2012
Salmon del Atlántico	232	182	183	184	233
Trucha arcoíris	125	99	126	130	141
Salmón el Pacífico	89	90	84	112	118

Fuente: Odepa (2013)

2.3. Aspectos ambientales de la industria del Salmón

Los impactos ambientales de la salmonicultura se han intensificado con el desarrollo de la industria, lo cual ha sido objeto de debates muy amplios. Se ha identificado una gran variedad de impactos posibles, relacionados principalmente con la alimentación de los peces, con los sedimentos orgánicos en el fondo marino, con el proceso de transformación, con el control de enfermedades y con la generación del producto final, sin considerar los impactos derivados de las actividades proveedoras de insumos o equipos.

Para producir el alimento de los salmones se genera una importante presión sobre los bancos de peces. Además, las aguas reciben cantidades considerables de desechos, como el alimento no consumido por los peces, que sedimenta en el fondo marino. También se introducen antibióticos y sustancias químicas al ecosistema con el objeto de combatir enfermedades. Las ovas foráneas, por su parte, aumentan la probabilidad de expansión de enfermedades en el medio.

En el proceso de faena del producto se generan desechos que muchas veces terminan en los cursos de agua, con escaso tratamiento e incluso nulo. Afectando la diversificación de las especies, la eutrofización de las aguas y la problemática que conlleva este tipo de situaciones.

2.4. Aprovechamiento de los subproductos de la industria del salmón

Cada año más de 400.000 de toneladas de salmón son cosechadas. Cerca de 25% en masa del pescado, constituido principalmente por subproductos, se considera no apto para procesar y se pierde sin siquiera ser usado como alimento, en muchas de las plantas procesadoras.

Se define subproductos como aquellos productos constituidos por materias primas que por razón de especie, tamaño, calidad ó disponibilidad de procesos de elaboración, no resultan adecuados para el consumo directo por el hombre (Windsor, 1984). En la industria salmonera chilena luego que el filete de salmón es producido en las plantas procesadoras se genera un gran porcentaje de material que constituye desecho o residuo sólido orgánico, son subproductos factibles de aprovechar para la obtención de productos con valor comercial ya sea para consumo humano, animal e incluso enriquecimiento de suelos en la agricultura. Un porcentaje entre 15% y el 25% del pescado que ingresa a planta de proceso se transforma en residuo sólido orgánico, el cual se destinan mayoritariamente a la elaboración de harina y aceite de salmón. Estos subproductos están compuestos por recortes de pescado, vísceras, agallas, cabezas, colas, esquelones, espinas, escamas y piel.

A los procesadores ya no se les permite descartar sus despojos directamente en el océano, resultando en un costo muy alto de refinar el material antes de ser descartado o dispuesto adecuadamente.

Para satisfacer las necesidades de la industria de procesamiento de pescados, una alternativa a descartar estos subproductos debe ser desarrollada.

Las especies marinas, así como los subproductos generados a partir de su industrialización, representan una valiosa fuente de proteínas (Guerra, 2013).

2.5. Proteínas del músculo de pescado

Las proteínas forman parte del músculo de pescado y a su vez del tejido conjuntivo. Constituyen aproximadamente el 16% de la masa muscular y proporcionan una cantidad de energía considerable (aproximadamente 4 Kcal/g). Las diferencias de una proteína a otra se dan principalmente por la composición y proporciones de aminoácidos que las constituyen (Bertullo, 1975).

La cantidad de proteína en el pescado varía de especie a especie e incluso, dentro de ellas mismas. Esta diferencia es causada por la variabilidad de sus hábitos alimenticios, también por el contenido de grasa y agua, entre otros. El contenido proteico en el pescado es alto, teniendo las proteínas un excelente balance de aminoácidos esenciales, por lo cual están

clasificadas como de alta calidad, siendo además, altamente digeribles debido a fibras cortas del músculo.

La recuperación y modificación de las proteínas del músculo de pescado presentes en los subproductos y el uso de estos ingredientes funcionales en los sistemas alimentarios es una muy emocionante y prometedora alternativa. Sin embargo, la industria requiere de desarrollar procesos que permitan la recuperación de subproducto y su utilización tiene que ser económicamente más viable que el tratamiento de estos subproductos.

Con un dramático aumento de la población mundial y una captura mundial de peces actualmente a punto de exceder la estimación de límites sostenibles del sugerido 100 millones de toneladas por año, es evidente que existe una preocupación por utilizar nuestros recursos marinos con más inteligencia y previsión.

Mediante la producción de hidrolizados proteínicos, es posible la recuperación de proteínas utilizando los subproductos del procesamiento de pescado, lo que hace posible posteriormente crear un amplio espectro de productos con distintas funcionalidades, este producto es llamado, hidrolizado de proteínas de pescado.

2.6. Hidrolizados de proteínas de pescado

El término hidrólisis se atribuye al desdoblamiento de alguna molécula por acción del agua, en este caso, la hidrólisis de proteínas es la ruptura de los enlaces peptídicos que unen a los aminoácidos de una proteína. Con esta ruptura se descompone la estructura primaria de esta, resultando en péptidos de diferentes tamaños y aminoácidos libres, dependiendo del grado de avance de la reacción. Cuando el avance es completo hasta la obtención de solo aminoácidos libres se denomina hidrólisis total de la proteína.

La hidrólisis proteolítica no se desarrolla en una sola reacción. Se trata de un conjunto de reacciones simultáneas de ruptura de enlaces, con distintas especies cargadas en equilibrio, lo que da una gran complejidad a este proceso.

Kristinsson & Rasco, (2000) definen a los hidrolizados como proteínas que son química o enzimáticamente rotas en péptidos de diferentes tamaños. Los hidrolizados enzimáticos de proteínas han sido empleados como una alternativa aprovechable para convertir subproductos de la pesca en productos proteínicos comestibles con mayor funcionalidad denominados hidrolizados proteínicos de pescado (HPP).

2.6.1. Tipos de hidrolisis

Hidrólisis química

La hidrólisis química se refiere a la ruptura del enlace peptídico por la acción de un agente químico, ya sea un ácido o una base. Este método posee la ventaja de que es relativamente económico y fácil de realizar. Sin embargo, es un proceso difícil de controlar, el cual arroja un producto con composición y funcionalidades variables. Además posee la desventaja de que los hidrolizados obtenidos no son muy funcionales y sufren pérdida del valor nutricional, ya que se lleva a cabo en condiciones de temperatura y pH que desnaturan algunos aminoácidos (Kristinsson & Rasco, 2000)

Hidrólisis ácida

Esta hidrólisis ácida es la más comúnmente usada, el ácido clorhídrico corresponde al ácido fuerte utilizado, este tipo de hidrólisis es aplicada principalmente en vegetales utilizados como agente saborizante. Es un proceso de bajo costo en donde se obtiene un producto de poco valor nutritivo, pero se llegan a altos grados de hidrólisis. Consecuente a esto, al aplicarlo en la proteína de pescado, se logran productos de alta solubilidad y se puede llegar a una hidrólisis total en condiciones definidas. No obstante, tras el proceso de neutralización el producto queda con grandes cantidades de sal, siendo muy desagradable y perdiendo funcionalidad. La hidrólisis ácida también se destruye el triptófano, un aminoácido esencial.

Hidrólisis básica o alcalina

Es utilizada en una amplia gama de proteínas, sin embargo se obtienen productos con una pobre funcionalidad y bajo valor nutricional. Comúnmente es realizada con Hidróxido de Sodio.

Respecto a la aplicación con residuos de pescados como sustrato, se obtienen péptidos muy grandes y, por ende, de baja solubilidad. Además se ha observado la formación de D-aminoácidos, que no son absorbidos por los seres humanos, la formación de sustancias tóxicas y la eliminación de algunas favorables para el organismo tales como la cisteína, serina y treonina (Kristinsson & Rasco, 2000)

Hidrólisis enzimática de proteínas

La hidrólisis enzimática o bioquímica se utiliza para producir alimento de proteína hidrolizada y se lleva a cabo mediante la utilización de enzimas para hidrolizar enlaces peptídicos.

Esto se puede hacer a través de las enzimas proteolíticas que ya están presentes en las vísceras de pescado y el músculo (proteasas endógenas), o mediante la adición de enzimas de otras fuentes (proteasas exógenas). Para comprender el proceso de hidrólisis enzimática, es muy importante entender la naturaleza y la actividad de enzimas proteolíticas (Kristinsson & Rasco, 2000)

2.7. La enzima

Las enzimas son catalizadores bioquímicos vitales para los seres vivos pues aceleran las reacciones químicas entre los constituyentes orgánicos dentro de la célula que de otra forma tomarían un tiempo extremadamente largo en ocurrir. Esto es posible debido al sitio activo que poseen las enzimas y su alta especificidad con ciertos sustratos, que les permite catalizar un tipo de reacción específica mediante la formación de un complejo enzima-sustrato. La actividad de una enzima dependerá de la integridad de su conformación proteica nativa, pues su sitio activo se encuentra conformado por residuos de aminoácidos que se agrupan de manera tridimensional para formar un nicho donde el sustrato es ligado y químicamente transformado. Así la estabilidad de la configuración tridimensional de la estructura proteica de la enzima resulta fundamental para su funcionalidad.

Dentro de las clasificaciones de enzimas existen las hidrolasas, estas se encargan de catalizar hidrólisis de un enlace químico y son las enzimas más utilizadas en la industria de alimentos. Un tipo de hidrolasa son las enzimas proteolíticas o proteasas, las cuales son enzimas que hidrolizan los enlaces peptídicos de proteínas. Se catalogan las enzimas proteolíticas como las más importantes económicamente y más ampliamente usadas. Estas enzimas se pueden clasificar según su origen (animal, vegetal, bacteriano o fúngico), por su modo de acción catalítica (endo- o exo-actividad) o en base a la naturaleza química de su

sitio catalítico. Las endoproteasas hidrolizan enlaces amídicos internos de la cadena de la proteína. Las exoproteasas, por el contrario, hidrolizan enlaces peptídicos de los extremos de la cadena peptídica (Benitez, Ibarz, & Pagan, 2008). De acuerdo a la naturaleza química del grupo o elemento catalítico del sitio activo, se clasifican en serin-, cisteín-, carboxi- y metaloproteasas.

En la figura 2.8, se muestra un esquema de clasificación de las diversas proteasas

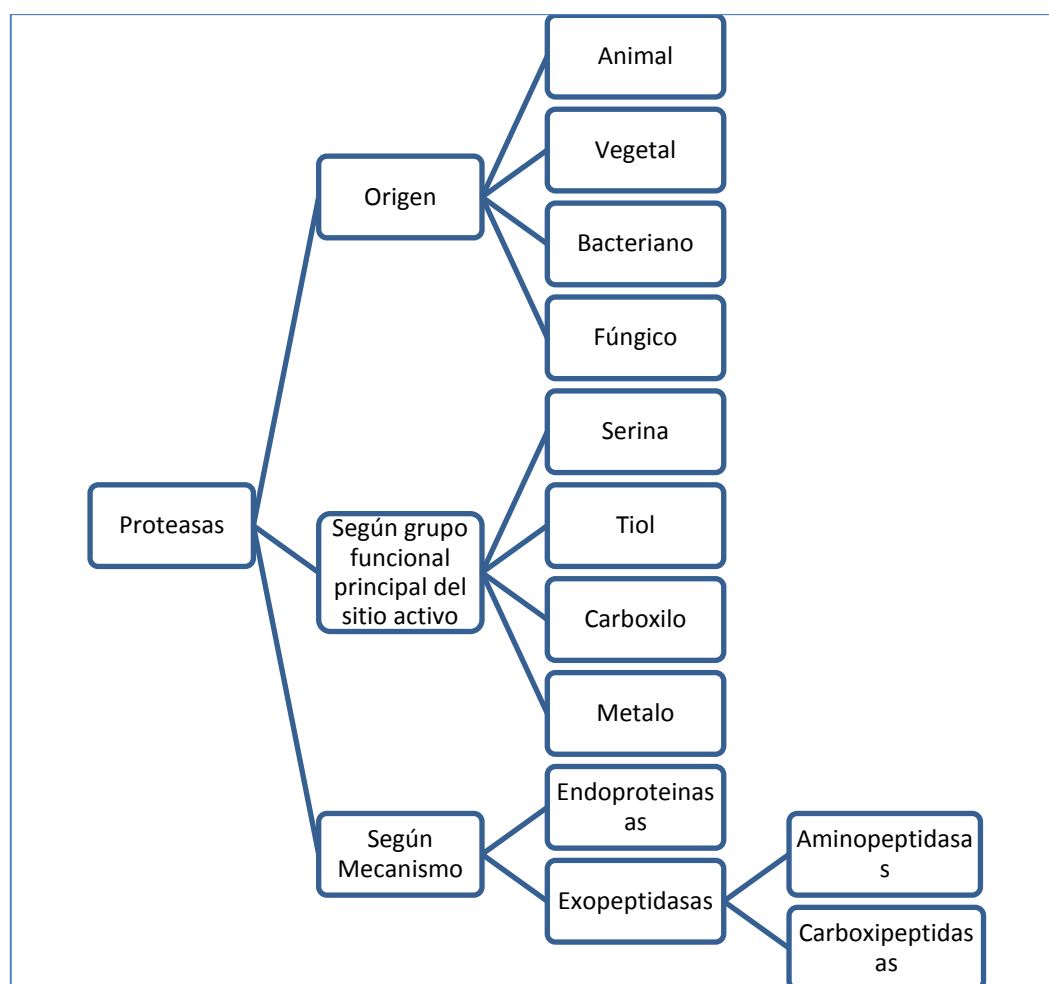


Figura 2.8: Clasificación de las proteasas

La subtilisina es una endoproteasa de preparación enzimática industrial y grado alimentario, se utiliza frecuentemente a nivel industrial y experimental. Es una preparación enzimática de origen microbiano que se ha aplicado, entre otras, en la producción de hidrolizados solubles de proteína de pescado (Kristinsson & Rasco, 2000) (Shahidi, Han, & Synowiecki, 1995). Está constituida principalmente por subtilisina, proteasa alcalina serínica producida por una especie bacteriana seleccionada de *B. licheniformis*.

La subtilisina Carlsberg, también llamada subtilisina, subtilisina-A, subtilopeptidasa-A y Alcalasa (Novozymes), fue preparada y cristalizada por primera vez por Guntelberg y Ottesen en el año 1952.

La subtilisina Carlsberg está formada por un péptido de 274 residuos de aminoácido sin enlaces disulfuro, y tiene una masa molecular de 27.3 kDa con un punto isoeléctrico de 9.4. La enzima se caracteriza por tener una especificidad de amplio espectro, hidrolizando la mayoría de los enlaces peptídicos, preferentemente aquellos con residuos de aminoácidos aromáticos. La enzima tiene un pH óptimo de actividad entre pH 8-9, así como una alta estabilidad dentro de una amplia escala de pH, siendo inactivada rápidamente en valores de pH por debajo de 5.0 y superiores a 11 (Novozymes, 2007).

2.8. Grado de Hidrolisis

El grado de hidrólisis (DH) es el parámetro clave para el seguimiento y control de las reacciones de hidrólisis de proteínas. Representa la proporción de enlaces peptídicos hidrolizados sobre el número total de enlaces. Se calcula de acuerdo con la ecuación 2.1 mostrada más adelante, donde h es el número de enlaces peptídicos hidrolizados y h_{tot} el número total de enlaces peptídicos presentes en la proteína nativa. Ambos h y h_{tot} son expresados en meq/g

$$DH = \frac{h}{h_{tot}} * 100 \quad (2.1)$$

Los métodos para determinar el DH se basan en: la cuantificación de los grupos α -amino libres, la determinación de nitrógeno soluble tras precipitar la proteína con ácido tricloroacético y la valoración del protón liberado tras la ruptura de un enlace peptídico a determinados valores de pH.

2.9. Hidrólisis enzimática de proteínas de pescado.

El mecanismo de reacción de la proteólisis enzimática está constituido por tres reacciones consecutivas. Primero, la formación de un complejo enzima-sustrato (proteína), y después la rotura del enlace amídico dando como resultado la liberación de un péptido. Finalmente, el péptido restante se separa de la enzima después de un ataque nucleofílico de una molécula de agua. El proceso puede reiniciarse sobre los dos nuevos péptidos o sobre uno solo de ellos. Estos tres pasos se representan esquemáticamente en la figura mostrada a continuación en la figura 2.7:

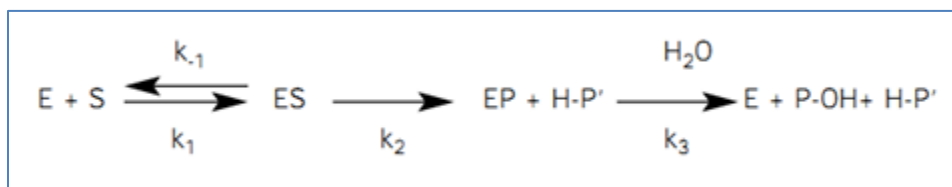


Figura 2.7: Mecanismo Catalítico de la Proteasa. E: enzima, S: sustrato, P,P': péptidos resultantes, k_x : constante de velocidad de reacción.

Este método posee diversas ventajas, entre las más importantes es que las condiciones de proceso son moderadas, puede ser llevado a cabo a temperaturas entre 40 y 60 °C y pH entre 4 y 10, lo que hace que los costos de operación industrial no sean tan elevados y no se sacrifique el valor nutritivo del producto debido a condiciones extremas. Además, si bien se deben inactivar las enzimas para detener la reacción, no es necesario añadir otras sustancias para neutralizar los hidrolizados obtenidos, como es el caso de los métodos químicos.

Finalmente otro beneficio del uso de enzimas es su alta selectividad para ciertos sustratos, lo que permite que reaccione, en este caso, específicamente con el tipo de aminoácidos que forman el enlace susceptible de hidrolizar por la enzima.

Desde el punto de vista termodinámico las enzimas actúan rebajando la barrera energética que representa la energía requerida para lograr un complejo de transición activado que dará origen al producto. Desde un punto de vista cinético, la capacidad catalítica de la enzima, se traduce en un incremento en la velocidad de reacción en la hidrólisis proteica. En ausencia de la enzima, la velocidad es generalmente despreciable.

Para preparar hidrolizados de proteína de pescado las enzimas proteolíticas de las plantas y microorganismos son las más adecuadas (Kristinsson & Rasco, 2000). Las enzimas utilizadas para dicho fin deben tener las siguientes características: ser de calidad alimentaria y, si son de origen microbiano, éstos no deben ser patógenos. Finalmente la elección de una enzima en específico debe ser según un criterio de eficacia y costo (Kristinsson & Rasco, 2000)

Existen varias proteasas comerciales que han sido utilizadas en la hidrólisis de proteínas tales como la Alcalasa, Flavourzima y Corolasa.

Kristinsson & Rasco (2000) Estudiaron los efectos de diversas enzimas comerciales sobre la hidrólisis de proteína de músculo de salmón atlántico, obteniendo como resultado que la Alcalasa 2.4L presentaba mejores resultados en cuanto a rendimientos, eficiencia, propiedades de hidrolizado y relación costo-eficiencia.

2.10. Propiedades funcionales, tecnológicas y nutricionales

La hidrólisis enzimática puede cambiar las propiedades de proteínas en tres formas: Disminuyendo el peso molecular, aumentando el número de grupos ionizables y causando exposición de grupos hidrófobos. Estas interacciones controlan las propiedades fisicoquímicas de los hidrolizados enzimáticos y por ende de las formulaciones alimenticias a las que son adicionadas, también son responsables directos de la función y comportamiento de sistemas alimenticios. Las propiedades fisicoquímicas en combinación son importantes cuando los hidrolizados enzimáticos de proteína interactúan con otros componentes de comidas tales como grasas, aceites y agua (Shan H, et al 2012).

Las propiedades funcionales de hidrolizados de proteína del pescado son importantes, en particular si son utilizadas como ingredientes en artículos alimenticios. La hidrólisis enzimática de proteínas del pescado puede generar una mezcla de aminoácidos libres, di, tri, y oligopeptidos, además incrementa el número de grupos polares y la solubilidad del hidrolizado, y por eso modifica características funcionales de las proteínas, mejorando su biodisponibilidad y calidad funcional.

Kristinsson & Rasco (2000) Definen las propiedades funcionales de las proteínas en alimentos como: "las propiedades funcionales y químicas que afectan el comportamiento de las proteínas en los sistemas de alimentarios durante el proceso de preparación, almacenamiento y consumo".

La elección de sustrato y la o las enzimas que hidrolizará la proteína, como también el grado de hidrólisis, afectan directamente las propiedades fisicoquímicas de los hidrolizados resultantes. La especificidad de la enzima es importante para la funcionabilidad de la mezcla de péptidos resultante ya que determina la hidrofobicidad y tamaño molecular medio. Estas variaciones tienen relación directa con la funcionabilidad y posibles usos de la mezcla (Kristinsson & Rasco, 2000).

El tamaño y las propiedades químicas de las proteínas hidrolizadas tienen un impacto en su funcionalidad, por lo tanto si se quiere producir un hidrolizado con propiedades mejoradas es necesario controlar la especificidad de la enzima y el grado de hidrólisis de la reacción.

Las propiedades nutricionales de la hidrólisis enzimática reflejan por ejemplo su digestibilidad aumentada y alergenicidad disminuida cuando se las compara con las proteínas parentales. Las propiedades fisiológicas abarcan bio-actividades potenciales del hidrolizado, las cuales se originan de la liberación de péptidos bioactivos. Finalmente, las propiedades que representan funcionalidad tecnológica, son la solubilidad, propiedades emulsificantes y espumantes (Benitez Ricardo, 2008).

2.11. El proceso de hidrólisis enzimática de proteínas de pescado

La tecnología para elaborar hidrolizados enzimáticos proteicos ha sido desarrollada, existe en el mercado y dispone de una amplia gama de preparados de proteasas comerciales, como por ejemplo: Alcalasa 2.4, Flavourzyme, Protamex, Neutrase de Novozymes y Protex 6L de Genencor International. Otras empresas fabricantes de enzimas son Gist Brocades y Merck (Atalah & Araya, 2007).

Las opciones actuales de procesamiento de los subproductos son: producción de harina de pescado, producción de aceite de pescado, concentrados proteicos, hidrolizados proteicos de diversos subproductos animales y vegetales, fertilizantes, compost y ensilaje.

En Chile, la producción de hidrolizados enzimáticos de proteínas de pescado está en estudio, y las empresas que manejan subproductos de pescado están enfocadas mayoritariamente a la producción de harina y aceite, los que son destinados al consumo animal. La materia prima se compone de especies marinas de costo variable, de residuos generados por industrias pesqueras y de la mortalidad producida en los centros cultivo y de engorda. Debido a que el destino de estos productos es básicamente la alimentación animal, no existe mayor interés de las empresas en separar los distintos subproductos, los cuales en el caso de plantas acuícolas corresponden a cabezas, vísceras, espinas y piel. La sangre y otros fluidos es un residuo que no se recupera y es descargada en forma de RIL.

El proceso de hidrólisis enzimática de proteínas de pescado puede llevarse a cabo en diversos reactores. En caso de realizarse en un reactor por lotes, o también denominado reactor Batch, la mezcla de subproductos de pescado se adiciona agua y se homogeniza mediante por agitación mecánica (Para esto el reactor correspondiente debe ser diseñado, de forma que lo posea). La mezcla de subproductos antes de comenzar la hidrólisis debe ser calentada a la temperatura de operación establecida y la energía necesaria para alcanzar la temperatura de operación es suministrada mediante vapor por medio de un enchaquetado o camisa calefactora o resistencias eléctricas.

La hidrólisis enzimática se da a lugar una vez la mezcla homogenizada alcanza la temperatura de operación entonces en ese momento se adiciona la enzima subtilisina en la cantidad necesaria o requerida para lograr el grado de hidrólisis correspondiente

La actividad proteolítica debe controlarse eficazmente y en función de las propias características de especificidad de sustrato, de la enzima utilizada y del modo de acción particular. Es posible limitar la proteólisis hasta un nivel adecuado que permita inducir cambios que se deseen en la funcionalidad de las proteínas.

Se ha demostrado que la hidrólisis enzimática limitada, se puede controlar operativamente por el tiempo de reacción o grado de la hidrólisis, ofreciendo condiciones de temperatura,

concentración inicial de sustrato, concentración inicial de enzima, pH del medio, entre otras, para obtener mejoras específicas y reproducibles en las propiedades funcionales de las proteínas (Adler y Nissen, et al 1976).

2.12. Factores que afectan la hidrólisis enzimática de proteínas de pescado

En la proteólisis enzimática de subproductos de pescado se debe controlar varias variables de operación de forma simultánea para producir el hidrolizado.

Las condiciones de operación se pueden dividir en dos grupos:

Variables controlables: Dentro de este grupo se encuentra la temperatura de reacción u operación, el tiempo de reacción y el pH

Los parámetros de proceso, entre los cuales se encuentra el volumen de reactor y el grado de hidrólisis, la concentración inicial de sustrato y la concentración inicial de enzima.

Para comprender la complejidad y el efecto de cada variable de operación, se analiza cada una por separado.

2.12.1. Temperatura de reacción:

En la reacción de hidrólisis enzimática, a medida que aumenta la temperatura se eleva también la velocidad de reacción, pues se incrementa la velocidad de desplazamiento tanto de las macromoléculas de sustrato como las de enzima, lo cual conduce a un mayor número de choques entre ellas; es decir, aumenta la energía cinética. Pero este aumento en la temperatura afecta directamente la inactivación de la enzima, pues sufre inactivación térmica y esta inactivación es mayor al aumentar la temperatura. Esto se aprecia en el gráfico 2.8 donde la enzima Alcalase a la temperatura de 60°C se alcanza un máximo en la función de rompimiento enlaces α -aminos o enlaces peptídicos, y para cualquier otra temperatura la actividad enzimática es menor especialmente para temperaturas superiores a los 70°C. Por otro lado, a mayores temperaturas en el sistema, aumentan también los costos por calefacción.

La inactivación térmica de la enzima está presente en un amplio rango de temperatura, pero a temperaturas superiores a la temperatura óptima correspondiente, la enzima es afectada por la inactivación térmica en tal grado que su velocidad de inactivación es superior a la de reacción.

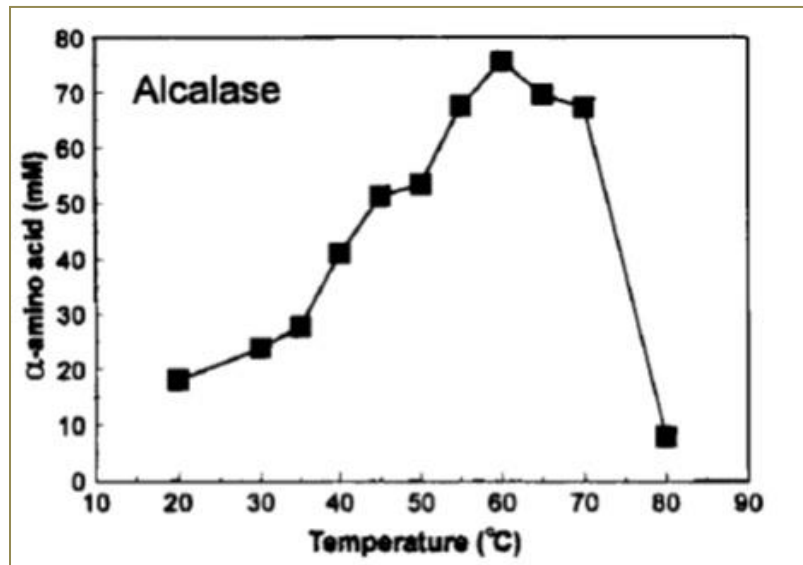


Figura 2.8: Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática de Alcalase

2.12.2. Concentración inicial de sustrato:

En la industria pesquera el consumo de agua afecta los costos de producción, por lo cual, se desea que el consumo de agua para este proceso sea el mínimo posible.

El sustrato debe tener una concentración tal que el contenido dentro del reactor por lotes se comporte de forma que se logre una adecuada homogenización.

A bajas concentraciones de sustrato, la velocidad es proporcional a la concentración de sustrato, de tal manera que si se duplica la concentración de sustrato, se duplica la velocidad (reacción de primer orden). A concentraciones intermedias de sustrato, la velocidad se incrementa menos que en la primera parte con el incremento de la concentración, iniciando alrededor de la $\frac{1}{2}$ de la V_{max} y a altas concentraciones de sustrato, la velocidad es independiente de la concentración de sustrato (reacción de orden cero), así la velocidad alcanzada es cercana a la máxima. También a mayores concentraciones iniciales de sustrato aumenta la cantidad de producto para un mismo tiempo reacción, aumentando así la productividad el proceso.

La concentración inicial de sustrato puede ser controlada añadiendo agua hasta alcanzar la concentración deseada. Además es importante destacar que el agua es un componente esencial pues actúa como reactante en la reacción de hidrólisis enzimática

2.12.3. Concentración inicial de Enzima:

Al ser una reacción enzimática, se debe invertir en enzima. Donde esta cantidad a agregar es llamada Concentración inicial de enzima (E_0) y es un factor influyente en los costos de operación, pues mientras mayor es la concentración inicial de enzima en la reacción, mayor

es la velocidad de reacción, y menores los tiempos de reacción, pero también mayores son los costos por lote por concepto de consumo de enzima.

2.12.4. El pH de la mezcla

Valores extremos de pH comúnmente inactivan y/o afectan la actividad de la enzima de manera considerable. En el intervalo de pH en el que la inactivación es reversible el proceso involucra una ionización reversible de grupos funcionales en el sitio o áreas activas de la molécula (Richardson & Hislop, 1985). Esto afecta la reacción enzimática pues al interactuar el sustrato con la enzima a valores extremos de pH, la enzima cambia su conformación al estar protonados (valores bajos de pH) o desprotonados (valores altos de pH) ciertos aminoácidos.

La figura 2.9 muestra el efecto del pH sobre la concentración de enlaces peptídicos rotos, donde el pH óptimo se encuentra entre pH =9 y pH=10, para valores sobre o bajo este rango la actividad catalítica disminuye y por sobre pH= 10,5 la enzima pierde gran parte de la capacidad catalítica.

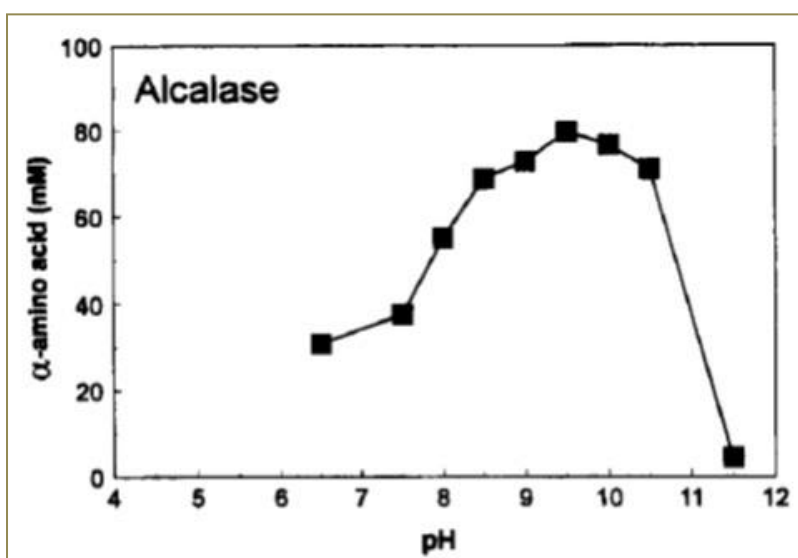


Figura 2.9: Efecto del pH en el rompimiento de enlaces peptídicos con enzima Alcalase

2.13. Modelo de cinética enzimática

La velocidad con que ocurre esta reacción dependerá como se ha mencionado antes, de factores como temperatura, pH, concentración inicial de sustrato y concentración de enzima, entre otros.

La velocidad de reacción puede ser explicada mediante un modelo propuesto por Michaelis-Menten el que cuenta con las siguientes hipótesis: La enzima E y el sustrato S

forman un compuesto intermedio ES; La concentración inicial de enzima se mantiene constante $[E_0] = [E] + [ES] + [EP]$; el proceso $ES \rightarrow EP + H-P'$, es irreversible, suponiendo una concentración de sustrato baja; y la hipótesis cuasi-estacionaria que se refiere a que después de una fase inicial transitoria, la concentración de las distintas formas enzimáticas (E, ES, EP) no varía.

El modelo matemático de Michaelis-Menten se define como:

$$v = \frac{V_{max} * S}{K_m + S} \quad (2.2)$$

Donde:

v: velocidad de reacción

V_{max} : Velocidad máxima de reacción

S: Concentración de sustrato

K_m : Constante de Michaelis-Menten o constante de disociación del complejo ES.

2.13.1. Inhibición enzimática

La inhibición es la disminución de la actividad enzimática por algún agente químico o un ligando.

La inhibición reversible está caracterizada por un equilibrio entre la enzima y el inhibidor, definido éste por una constante de equilibrio que mide la afinidad de la enzima (E) por el inhibidor (I). La inhibición reversible implica que desaparece el efecto inhibitorio si se remueve el inhibidor, y que al existir inhibición esta depende de la concentración del inhibidor [I].

La inhibición puede apreciarse como una disminución de V_{max} o aumento de K_m solamente, o por una combinación de efectos sobre ambos.

En el caso de la hidrólisis enzimática de proteínas de pescado existe la inhibición enzimática de tipo mixta, en la que el inhibidor puede unirse a la enzima ya sea o no que la enzima ya se haya enlazado el sustrato, pero tiene una mayor afinidad por un estado o la otra. Se llama "mixto", ya que es una "mezcla" conceptual de inhibición competitiva, en la que el inhibidor sólo se une a la enzima libre, y la inhibición acompetitiva, en la que el inhibidor sólo se puede ligar a la enzima si el sustrato ya se ha unido. La inhibición acompetitiva es un caso especial de inhibición mixta. Las constantes de inhibición, son

constantes de velocidad para la reacción o disociación entre complejos enzima-enzima/inhibidor y enzima/sustrato-enzima/sustrato/inhibidor.

Inhibición mixta puede resultar en una disminución en la afinidad aparente de la enzima para el sustrato en los casos en que el inhibidor favorece la unión de la enzima libre, o en un aumento en la afinidad aparente cuando el inhibidor se une favorablemente al complejo enzima-sustrato. En cualquiera de los casos la inhibición disminuye la velocidad máxima aparente de reacción enzimática.

El modelo de reacción enzimática con inhibición por producto de tipo mixta es:

$$v = \frac{v_{max} * S}{K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + S \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)} \quad (2.3)$$

Valencia et al (2014), en su trabajo de identificación de los mecanismos claves que envuelven la hidrólisis de proteínas de pescado con enzima alcalase, expone el tipo de cinética de inhibición específica que experimenta la proteasa, como se muestra a continuación:

$$v_0 = \frac{v_{max} * S_0}{K_m + S_0 + \frac{S_0^2}{K_s}} \quad (2.4)$$

Considerando la cinética enzimática con inhibición de tipo mixta, modulación positiva tanto como para producto como para sustrato e inactivación térmica de primer orden se muestra el modelo matemático de la reacción de hidrólisis enzimática de proteínas de pescado con enzima subtilisina

$$v = \frac{k_{cat} * E_0 * e^{-k_d t} * S}{K_m \left(1 + \frac{P}{K_p}\right) + S \left(1 + \frac{P}{K_p} + \frac{S}{K_s}\right)} \quad (2.5)$$

Con

$$k_d = \left(1 - \frac{0.970 \cdot S_0}{2.21 + S_0}\right) \cdot e^{\left(115 - \frac{39746}{T}\right)} [1/min] \quad (2.6)$$

Tanto k_d , K_p como K_p' son obtenidos de estudios previos de Valencia, et al (2014)

Constantes cinéticas y termodinámicas

Las constantes cinéticas son k_{cat} y k_d .

Mientras que las constantes termodinámicas son K_m , K_i y K_s :

$$k = k_0 e^{\frac{E_a}{RT}} \quad (2.7)$$

Se determinan estas utilizando datos de Valencia et al (2014),

Tabla 2.2: Constantes cinéticas para la hidrólisis de músculo de salmón por Alcalasa a diferentes temperaturas

Constantes cinéticas	Temperatura		
	40°	50°C	60°C
Vmax (mM/min)	0,581±0,028	1,07±0,018	2,14±0,18
K _m (mM)	4,39±0,60	6,54±0,26	9,54±1,59
K _s (mM)	826±396	575±89,3	233±82,7
Vmax/K _m	0,0348	0,0430	0,0588

Fuente: Valencia et al (2014)

Recurriendo a estudios previos de Valencia et al (2014), las constantes cinéticas y termodinámicas son:

$$k_{cat}(T) = e^{\left(22.56 - \frac{6801}{T}\right)} [mM \cdot l/g \cdot min] \quad (2.8)$$

$$K(T) = e^{\left(14.4 - \frac{4045}{T}\right)} [mM] \quad (2.9)$$

$$K_s(T) = e^{\left(\frac{6564}{T} - 14.46\right)} [mM] \quad (2.10)$$

2.13.2. Inactivación térmica

Además Valencia et al (2014) considera la inactivación térmica de la enzima de primer orden, para calcular las constantes de inactivación propone la ecuación de actividad relativa.

$$\frac{E}{E_0} = e^{-k_d t} \quad (2.11)$$

2.14. Balances de materia y energía en el reactor por lotes

Este tipo de reactor admite tanto los reactivos como catalizadores al principio y los procesa con un curso predeterminado de reacción durante el cual no se alimenta ni se extrae algún material. Por lo común tiene la forma de tanque con o sin agitación y se utiliza primordialmente en la producción a pequeña escala y mediana escala. La mayor parte de los datos cinéticos básicos para el diseño de reactores se obtienen en esta clase de equipos (Perry, 1992)

Durante su manejo generalmente en este tipo de reactor se realizan las siguientes operaciones:

1. Se agrega una carga de reactivos.
2. La mezcla al interior del reactor debe alcanzar la temperatura de reacción y se agrega los catalizadores.
3. Se mantiene la temperatura por el tiempo determinado, durante los cuales se realiza la reacción.
4. Se lleva al reactor a la temperatura necesaria para descargar el producto.
5. Se lava el reactor.

Con los cinco pasos anteriores se conforma el llamado ciclo de operación. La característica principal en los reactores de este tipo es la variación de las concentraciones en función del tiempo.

Un esquema general de este tipo de reactores se aprecia en la figura 2.10.

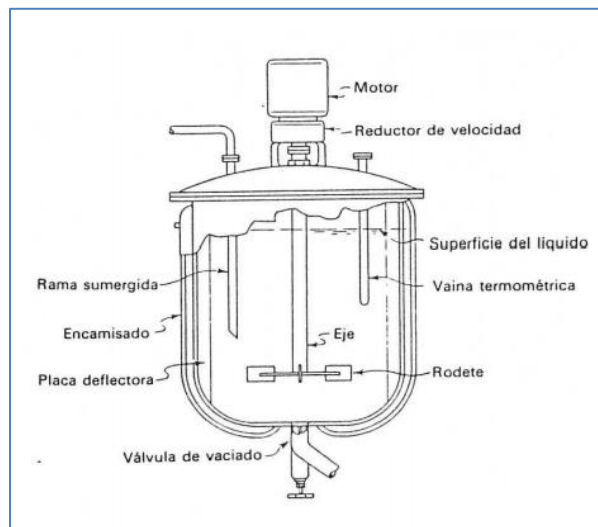


Figura 2.10: Esquema general reactor por lotes

Las Partes principales de un reactor por lotes son: Motor del agitador, Agitador, mecanismo reductor, válvula de muestreo, eje del agitador, entrada y salida de fluido calefactor, placas de desvío o deflectores, camisa calefactora, válvula de vaciado.

Dimensionamiento del reactor por lotes

Existen diversos métodos para dimensionar el reactor por lotes para el caso de este estudio se utilizan criterios de diseño bibliográficos, los cuales corresponden a fórmulas simples para determinar las diversas dimensiones del reactor por lotes a partir del volumen del reactor o el diámetro del reactor.

$$\frac{D_r}{L_p} = 3 \quad \frac{D_r}{A_d} = 3 \quad \frac{A_d}{E_d} = 5 \quad \frac{L_p}{F_r} = 3 \quad \frac{D_r}{A_{ch}} = 40 \quad \frac{D_r}{H_r} = 1$$

D_r = Diámetro del reactor; L_p = Largo de las paletas; A_d = Ancho deflector; E_d = Espacio deflector; F_r = Fondo del Reactor; A_{ch} = Ancho Chaqueta; H_r = Altura del reactor.

Balance de materia

El balance de materia para un reactor por lotes con una reacción de hidrólisis enzimática de proteína de pescado es de la forma:

Flujo de moles que entra – Flujo de moles que sale – Flujo de moles que reacciona = Flujo de moles acumulados

Como en un reactor por lotes no entra ni sale materia, si se considera un balance de materia para el sustrato, queda de la forma:

– Flujo de moles de sustrato que reacciona = Flujo de moles de sustrato acumulados

$$v * V_r = - \frac{dN_s}{dt} \quad (2.12)$$

$$X = \frac{N_{s0} - N_s}{N_{s0}}$$

$$N_s = N_{s0}(1 - X)$$

$$v * V_r = \frac{-dN_{s0}(1-X)}{dt} \quad (2.13)$$

Considerando volumen constante en el interior del reactor y homogeneidad en la mezcla.

$$-v = S_0 * \frac{dX}{dt} \quad (2.14)$$

Dónde:

N_s = Moles de sustrato

X = Conversión de sustrato

v = Velocidad de reacción

S_0 = Concentración inicial de sustrato

V_r = Volumen del reactor

Balance de energía

El balance de energía establece ecuaciones para determinar el calor asociado a la mantención del régimen isotérmico en el interior de reactor, determinación del área de transferencia, entre otros. Para un reactor por lotes es de la forma:

Flujo de energía de reacción – Flujo de energía transferido = flujo de energía acumulado

$$-\Delta H V_r * v - U A_T (T_f - T_r) = M C p_s \frac{dT}{dt} \quad (2.20)$$

Como no hay acumulación de energía

$$-\Delta H V_r * v = U A_T (T_f - T_r) \quad (2.21)$$

Considerando volumen constante en el interior del reactor, y homogeneidad térmica en cada punto de la mezcla.

Dónde:

M = Masa de mezcla

ΔH = Entalpía de reacción

A_T = Área de transferencia

T_r = Temperatura del reactor

C_p = Capacidad calorífica de la mezcla

V_r = Volumen del reactor

T_f = Temperatura del fluido calefactor

U = Coeficiente global de transferencia de calor

La entalpía de reacción ΔH

La entalpía de reacción de la hidrólisis enzimática se considera la ruptura del enlace peptídico, para esto se toma un estudio realizado por Dobry & Sturtevant (1952) para calores de hidrólisis en amidas y péptidos.

El ΔH de reacción es:

$$\Delta H_r = -10,7 \left[\frac{kJ}{mol} \right] = \left[\frac{J}{mmol} \right]$$

Si se considera la velocidad de reacción v

$$v = -S_0 \frac{dX}{dt}$$

Entonces el flujo de energía de reacción queda:

$$\Delta H V v = -10,7 * V_r * -\frac{S_0 dX}{dt} \left[\frac{J}{min} \right]$$

Coefficiente de transferencia de calor U

Para el cálculo del coeficiente de transferencia de calor U , se utiliza la ecuación:

$$\frac{1}{U} = \frac{1}{h} + \frac{e}{k}$$

Para determinar h *coeficiente de película de pared interior*, se utiliza la correlación obtenida de Perry (1992) para reactores con enchaquetado y agitadores de 4 paletas.

$$\frac{h D_j}{K} = \alpha \left(\frac{L_p^2 N_r \rho}{\mu} \right)^b \left(\frac{C_p \mu}{K} \right)^{1/3} \left(\frac{\mu}{\mu_w} \right)^m \quad (2.6)$$

Dónde:

D_j = Diámetro del reactor [m].

El diámetro del reactor está asociado al volumen del reactor por lo cual, este valor es un parámetro operacional y dependerá directamente del volumen de reactor definido en cálculos posteriores

K = Conductividad Térmica de la mezcla en el reactor [J/s m K].

k = Conductividad Térmica del acero inoxidable 316 [J/s m K].

L_p = Longitud del agitador [m].

N_r = Velocidad del eje del agitador [Rev /s].

P = Densidad.

μ = Viscosidad de la mezcla [Pa s].

μ_w = Viscosidad de la mezcla a la temperatura de la pared [Pa s].

C_p = Calor específico de la mezcla [J / kg K].

Con $\alpha=0,36$; $b=2/3$; $m=0,21$ para números de Reynolds [300,300000].

Calor específico de la mezcla de sustrato C_p

El calor específico puede ser obtenido por la fórmula:

$$C_p = \sum_{i=1}^n X_i * C_{p_i} \quad (2.7)$$

Donde X_i corresponde a la fracción de cada componente en la mezcla y C_{p_i} corresponde al calor específico de cada componente.

El Salmón Fresco posee aproximadamente un 66% de agua, 21% de proteínas y un 12% de grasa, entre otros componentes como el colesterol, calcio, Iodo, fosforo, Niacina, y vitaminas que están en menores proporciones y juntas corresponden al 1% restante Rivero (2006).

Los calores específicos son tomados de Hallstrom y Col (1988) donde reporta los calores específicos de los constituyentes de los alimentos, para el agua $C_p= 4.182$ [kJ/kg°C]; para las proteínas $C_p= 1.550$ [kJ/kg°C]; para la grasa $C_p= 1.670$ [kJ/kg°C].

Tabla 2.1: Calores específicos por constituyente

Constituyente	Fracción Másica	C_p J/Kg°C	Producto (FM* C_p)
Agua	0,67	4184	2803,28
Proteína	0,21	1550	325,5
Grasa	0,12	1670	200,4
Sumatoria			3329

El Calor específico del pescado Salmón es 3329 [J/kg°C].

El Calor específico de la mezcla de reacción es:

$$Cp_m = \frac{\text{Masa agua en el reactor}}{\text{Masa reactor}} * Cp_{\text{agua}} + \frac{\text{Masa sustrato en el reactor}}{\text{Masa reactor}} * Cp_{\text{sustrato}}$$

Densidad de la mezcla de sustrato

La densidad de la mezcla se obtiene por un modelo propuesto en trabajos anteriores a Valencia et al (2014), donde esta presenta una forma polinómica del tipo:

$$\text{Densidad} = -0,0000853 * \%S_0^3 + 0,00056 * \%S_0^2 + 0,0063 * \%S_0 + 1 \quad (2.8)$$

Con lo cual, la densidad puede ser expresada en función del porcentaje sustrato inicial en la mezcla.

2.14.1. Régimen isotérmico en el reactor por lotes

Para efectos de este estudio se mantiene el reactor en condiciones isotérmicas lo que se logra con el sistema de camisa de intercambio de calor, si el sistema se considera cerrado, presión constante, isotérmico y sin cambios de fase, el flujo de energía a retirar es el generado por la reacción.

$$\dot{Q} = -\Delta H V_r * v \quad (2.21)$$

Reemplazando en la ecuación 2.5

$$\dot{Q} = -10700 * V_r * \frac{k_{cat} * E_0 * e^{-k_d t} * S}{K_m \left(1 + \frac{P}{K_p}\right) + S \left(1 + \frac{P}{K_p} + \frac{S}{K_s}\right)} \quad [J/min] \quad (2.22)$$

Una vez que se alcanza la temperatura de reacción, la temperatura se conserva debido a la energía proporcionada por la reacción que es de carácter exotérmica. Al realizar un balance de energía, energía de reacción igual a energía absorbida por la mezcla, es posible determinar la temperatura una vez concluida la hidrólisis proteica, la cual se expone a continuación.

$$T^{\circ}final = Top - \frac{\dot{Q}}{V_r * \rho * Cp} \quad (2.23)$$

La temperatura de final del reactor para cualquiera sea los parámetros de operación es a lo más 0,52[°C] superior a la temperatura de operación.

2.15. Modelo de evaluación de desempeño de la hidrólisis enzimática

El estudio de la cinética enzimática es importante desde una perspectiva científica fundamental, ya que permite la formulación de modelos moleculares para la acción de la enzima, y también por razones tecnológicas, ya que permite la formulación de modelos cinéticos para el diseño y evaluación de desempeño del reactor enzimático. El segundo aspecto que se destaca es que un modelo para el diseño de reactores enzimático o para la evaluación del desempeño requiere: 1) una expresión cinética de la reacción catalizada; 2) un balance de materiales sobre el proceso; 3) una expresión para la inactivación de la enzima durante el funcionamiento del reactor; 4) una expresión que representa las limitaciones de transferencia de masa eventuales. Con todo esto, establecer las bases para el análisis cinético, operación y diseño de reactores enzimáticos (Illanes et al, 2008).

El modelo de desempeño de la hidrólisis enzimática en este estudio se recrea mediante el uso de información bibliográfica referente al diseño del reactor por lotes, los mecanismos principales que envuelven la hidrólisis enzimática de proteínas y estudios de Valencia et al (2014).

Primero se reconstruye un modelo que muestra el comportamiento de la hidrólisis proteica, para esto se sigue el procedimiento desarrollado por Illanes et al (2008) llamado “Construcción de un modelo de diseño de un reactor enzimático y evaluación de su desempeño”, el cual se muestra a continuación:

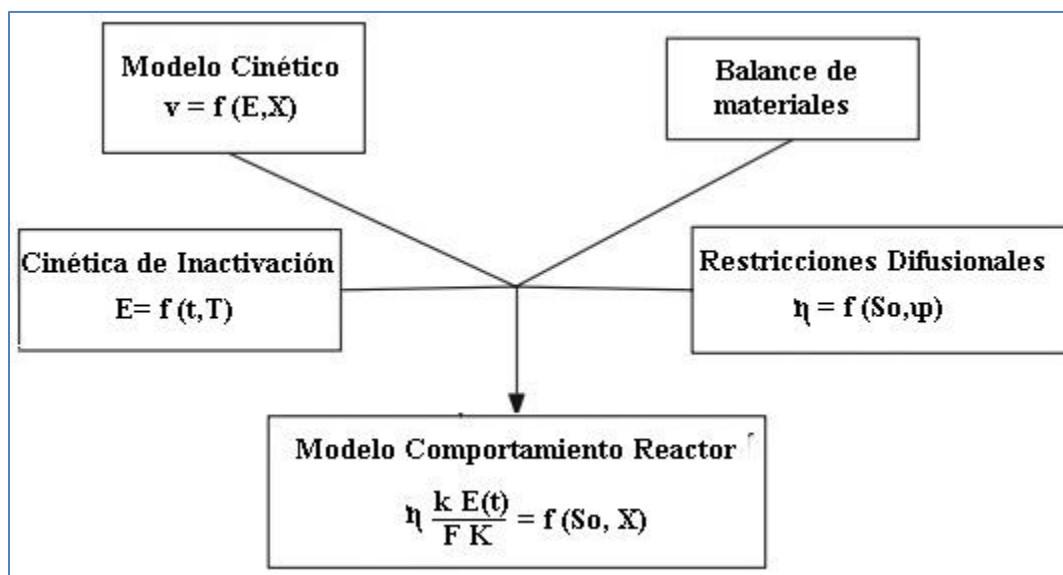


Figura 2.11: Esquema para el modelo de comportamiento del reactor enzimático

El Modelo Cinético, donde la velocidad de reacción enzimática corresponde a una función de la concentración de enzima y de la conversión; luego el Balance de Materiales que este

estudio considera reactor del tipo Batch o reactor por lotes; Posteriormente la cinética de inactivación, donde se debe desarrollar una ecuación que contemple la inactivación térmica de la enzima, la modulación por sustrato y por producto (en este caso son consideradas ambas, pues la enzima interactúa modulando tanto con el sustrato como con el producto); Las Restricciones Difusionales toman importancia al momento de operar con enzima inmovilizada, lo cual no corresponde a este estudio pues se trabaja con enzima libre en el reactor.

Con el modelo completo es posible analizar cada una de las variables importantes de la hidrólisis enzimática de proteínas de pescado, esto permite ver la respuesta a los cambios en las variables operacionales, el desarrollo de la reacción, verificar el comportamiento y desempeño del reactor frente a situaciones o condiciones extremas.

El análisis posterior se realiza de forma gráfica para ver el comportamiento de variables como la concentración inicial de enzima, la concentración inicial de sustrato, la temperatura, el volumen del reactor y la conversión. Posteriormente al conocer el comportamiento de estas variables llamadas operacionales se podrá determinar cómo afecta a otras variables que sirvan de control u optimicen la operación (también llamadas variables de optimización), como la productividad, los costos, los ingresos y las utilidades.

Finalmente conociendo el comportamiento de todas las variables a analizar (tanto operacionales como de optimización), se puede determinar la optimización del reactor de forma que se minimicen los costos y se maximice la productividad y las utilidades.

Modelo del comportamiento del reactor

Siguiendo el esquema para la construcción de un modelo de diseño de un reactor enzimático y evaluación de su desempeño presentado por Illanes et al, (2008), se obtiene un modelo para la evaluación de la hidrólisis enzimática de proteínas de pescado en un reactor por lotes, considerando la ecuación 2.5 y 2.14, queda como se expone a continuación:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{e^{\left(22.56 - \frac{6801}{T}\right)} * E_0 * e^{-\left(1 - \frac{0.970 \cdot S_0}{2.21 + S_0}\right)} \cdot e^{\left(115 - \frac{39746}{T}\right)} t (1-X)}{e^{\left(14.4 - \frac{4045}{T}\right)} \left(1 + \frac{XS_0}{K_{p1}}\right) + (1-X) \left(1 + \frac{XS_0}{K'_{p2}} + \frac{(1-X)}{e^{\left(\frac{6564}{T} - 14.46\right)}}\right)} \quad (2.23)$$

La ecuación 2.23 corresponde a una ecuación diferencial la cual consta de parámetros operacionales como la concentración inicial de enzima E_0 como la concentración inicial de sustrato S_0 , además variables operacionales tales como la temperatura de operación y la conversión de sustrato.

CAPÍTULO

METODOLOGÍA

III

3. Metodología

3.1. Uso del modelo de evaluación de desempeño de la hidrólisis enzimática

Se utilizó la ecuación 2.23 correspondiente al modelo de diseño de un reactor enzimático y evaluación de su desempeño, ya antes mostrado en la sección de antecedentes, para determinar la variación del sustrato en función del tiempo, o bien, la rapidez de cambio de la conversión. Para resolver numéricamente esta ecuación se usó el método de Runge Kutta de orden 4, el cual es utilizado para encontrar aproximaciones de las soluciones de ecuaciones diferenciales y sistemas de ecuaciones diferenciales, lineales y no lineales. .

Una vez resuelta la ecuación e incorporado las diversas constantes cinéticas y termodinámicas, se tiene una herramienta matemática que permite analizar el comportamiento simultáneo de varias variables de operación en el tiempo. Las variables importantes a analizar son la temperatura de reacción, la concentración de sustrato inicial, la conversión de sustrato en producto, la concentración de enzima y la concentración de producto y cada una de estas variables son determinadas para distintos tiempos con las formulas expuestas más adelante.

El modelo entonces permite determinar la variación de la conversión en el tiempo, la variación del producto en el tiempo, la variación de la enzima en el tiempo, del sustrato y el tiempo mismo, el cual es tomado como tiempo de reacción. Así, las distintas variables pueden ser analizadas gracias al modelo matemático para cualquier tiempo. Para aquellas ecuaciones de variables como la productividad, donde el producto depende del tiempo, se utiliza la solución analítica, de esta forma se evita redundancia de datos y resultados erróneos.

A continuación se muestra un esquema de la información de entrada del modelo y la salida principal que es el tiempo de operación.

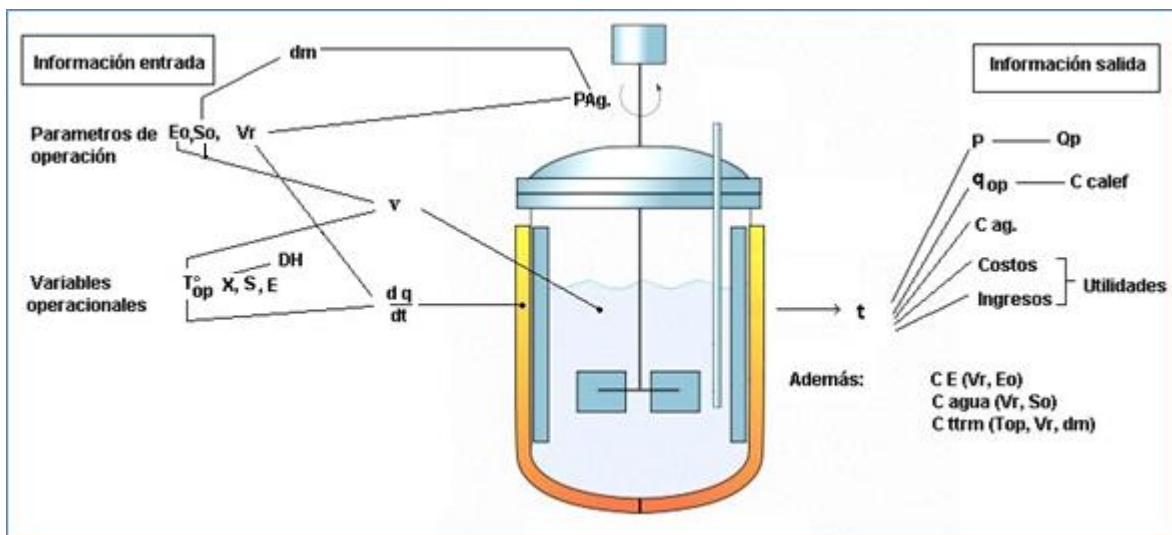


Figura 3.1: Esquema de entradas y salidas de información para el modelo de hidrólisis enzimática

Definiendo la información de entrada esto es los parámetros de operación como también las variables operacionales se verifica de las diversas ecuaciones la incidencia en tanto la velocidad de reacción como en la potencia de agitación. Además aplicado el modelo matemático de hidrólisis enzimática, es posible obtener para cada tiempo de operación, la cantidad de producto, el grado de hidrólisis y cantidad de enzima residual.

Entonces se cuenta con la información para realizar un análisis del comportamiento del reactor, se examinan las variables de operación y su comportamiento general.

Posteriormente de forma similar se realiza un segundo análisis, esta vez de las variables con influencia económica en la operación de la proteólisis enzimática, para determinar cómo afectan en las variables de optimización correspondiente a los distintos costos, la productividad y los ingresos. Cada variable es analizada en el rango de operación ya establecido.

Finalmente se determinan las condiciones de operación que optimizan económicamente el proceso de hidrólisis enzimática mediante la búsqueda de máximos de productividad, ingresos y utilidades, como también mínimos en las funciones de costos.

3.2. Las variables operacionales para el modelo de desempeño del reactor enzimático

La ecuación diferencial que modela el desempeño del reactor enzimático es resuelta numéricamente por el método de Runge-Kutta de cuarto orden. Pues sirve para obtener soluciones aproximadas a problemas de valor inicial

Una ventaja de este método es que permite experimentar con una ecuación diferencial modificando valores y coeficientes, con el fin de obtener información más compleja sobre el proceso de hidrólisis enzimática. Además que el utilizar la solución analítica puede resultar engorroso el análisis simultaneo de datos.

Las funciones utilizadas en el método numérico son:

$$m_1 = y(x, t) = - \frac{k_{cat}(T) \cdot E_0 \cdot e^{-k_d(T) \cdot t} \cdot S_0(1 - X)}{K(T) \left[1 + \frac{S_0 X}{K_{p1}} \right] + S_0(1 - X) \left[1 + \frac{S_0 X}{K_{p2}} + \frac{S_0(1 - X)}{K_S(T)} \right]}$$

$$m_2 = - \frac{k_{cat}(T) \cdot E_0 \cdot e^{-k_d(T) \cdot (t+0,5k_1h)} \cdot S_0(1 - X + 0,5h)}{K(T) \left[1 + \frac{S_0(X + 0,5h)}{K_{p1}} \right] + S_0(1 - X + 0,5h) \left[1 + \frac{S_0(X + 0,5h)}{K_{p2}} + \frac{S_0(1 - X + 0,5h)}{K_S(T)} \right]}$$

$$m_3 = - \frac{k_{cat}(T) \cdot E_0 \cdot e^{-k_d(T) \cdot (t+0,5k_2h)} \cdot S_0(1 - X + 0,5h)}{K(T) \left[1 + \frac{S_0(X + 0,5h)}{K_{p1}} \right] + S_0(1 - X + 0,5h) \left[1 + \frac{S_0(X + 0,5h)}{K_{p2}} + \frac{S_0(1 - X + 0,5h)}{K_S(T)} \right]}$$

$$m_4 = - \frac{k_{cat}(T) \cdot E_0 \cdot e^{-k_d(T) \cdot (t+k_3h)} \cdot S_0(1 - X + h)}{K(T) \left[1 + \frac{S_0(X + h)}{K_{p1}} \right] + S_0(1 - X + h) \left[1 + \frac{S_0(X + h)}{K_{p2}} + \frac{S_0(1 - X + h)}{K_S(T)} \right]}$$

$$\Phi = y(x, t)_{i+1} = y(x, t)_i + \frac{1}{6}(m_1 + 2m_2 + 2m_3 + m_4)$$

El método numérico permite determinar la conversión y la temperatura de operación en el tiempo considerado tiempo de reacción.

Se define como variables operacionales aquellas variables que resultan claves en el desempeño del reactor enzimático y en la optimización de este, y por lo tanto, se requiere conocer su influencia en la performance de la hidrólisis enzimática. Las variables operacionales son:

Concentración de sustrato (S): La concentración sustrato (S) disminuye a medida que transcurre la reacción de hidrólisis enzimática de proteínas, donde la concentración en cualquier tiempo se sustrato se determina por el método numérico Runge Kutta mediante la suma de la concentración de sustrato anterior más el producto del paso por iteración (h) con el parámetro de pendientes o factor phi (Φ) correspondiente al intervalo anterior.

La concentración de sustrato entonces es una variable de operación y la ecuación para su determinación es:

$$Sustrato = S_{i+1} = S_i + \Phi_i h \quad (3.1)$$

Concentración de Producto (P): Donde se considera producto inicial es cero y el producto es expresado como la concentración de enlaces peptídicos hidrolizados enzimáticamente, se determina la concentración de producto por el método numérico Runge Kutta mediante la ecuación.3.2:

La concentración de producto entonces es una variable de operación.

$$Producto = P_{i+1} = P_i - \Phi h \quad (3.2)$$

Grado de hidrólisis (DH): El grado de hidrólisis da cuenta de los enlaces peptídicos rotos susceptibles de hidrolizar enzimáticamente y se calculan según la siguiente expresión, donde la consecución de cada grado de hidrólisis corresponde cada producto, para ese tiempo de reacción:

El grado de hidrólisis entonces es un parámetro de operación.

$$Grado\ de\ hidrolisis = DH = \frac{Enlaces\ peptidicos\ hidrolizados}{Número\ total\ de\ enlaces\ peptídicos} * 100 \quad (3.3)$$

La conversión de sustrato (X): Referida a la cantidad de sustrato reaccionado respecto de la cantidad de sustrato inicial S_0 .

La conversión de sustrato entonces es una variable de operación.

$$Conversión\ de\ sustrato = X = \frac{S_0 - S}{S_0}$$

Concentración de enzima (E): Es la concentración de enzima que posee actividad catalítica para cualquier tiempo de reacción t. Para tiempo $t=0$, la concentración de enzima corresponde a la inicial (E_0), la concentración de enzima en el tiempo se determina según la expresión.

$$Concentración\ de\ enzima\ en\ el\ tiempo = E = E_0 * e^{-k_d t} \quad (3.4)$$

La concentración de enzima es considerada una variable de operación y E_0 un parámetro operacional.

Volumen del reactor (Vr): El volumen de reactor analizado y utilizado en las diversas funciones corresponde al volumen efectivo, es decir, al volumen de mezcla en el reactor por lotes.

En los diversos análisis a realizar, la magnitud del volumen de reactor corresponde a un valor fijo dentro de rango de análisis. Por lo tanto es considerado un parámetro de operación

La industria pesquera a la cual se dirige este proyecto, podrá contar con un reactor o podrá diseñar uno que esté acorde a su velocidad de generación de subproductos y los tiempos de operación correspondientes, como también la demanda de producto y posteriormente utilizar la información que este proyecto presenta.

Temperatura de operación (Top): la temperatura de operación está referida a la temperatura a la cual comienza la reacción de hidrólisis enzimática. Y es considerada una variable de operación.

3.3. Operación del reactor de hidrólisis enzimática de proteínas de pescados

Ya conocidas las diferentes variables operacionales, es importante mostrar la manera de operar o también llamado el ciclo de operación del reactor enzimático, el cual consta para efectos de este estudio de las siguientes etapas:

- a) En el reactor por lotes se vierte la masa de subproductos y la masa de agua necesaria.
- b) Se agita la mezcla y se enciende el paso de vapor, hasta alcanzar la temperatura reacción.
- c) Una vez alcanzada la temperatura de reacción se adiciona la enzima y se mantiene la agitación por el tiempo de reacción necesario.
- d) Cumplido el tiempo de reacción, se eleva la temperatura hasta los 85[°C] hasta que $E/E_o=0,001$
- e) Posteriormente se apaga el sistema calefactor y se descarga el reactor.
- f) Una vez descargado el reactor se inicia un nuevo ciclo.

3.4. Variables de optimización de la operación del reactor enzimático.

Se define como variables de optimización, aquellas variables que permiten obtener máximos o mínimos según corresponda, de forma que se obtenga información pertinente a los rangos de las variables de operación y/o parámetros que optimicen el proceso. Las variables de optimización son:

Productividad (Q_p): Es la relación entre la cantidad de producto obtenido y el tiempo de operación asociado.

$$Productividad = Q_p = \frac{P}{t_{op}} = \frac{S_0 X}{t_{op}} \quad (3.5)$$

Donde el tiempo de operación del reactor por lotes en función de variables operacionales es:

$$t_{op} = \frac{\ln \left\{ \frac{K_m k_d}{k_{cat} E_0} \ln(1-x) + \frac{K_m k_d S_0}{K_p k_{cat} E_0} (-x - \ln(1-x)) + \frac{k_d S_0 x}{k_{cat} E_0} + \frac{k_d S_0^2 x^2}{2 K_p k_{cat} E_0} + \frac{S_0^2 k_d x}{K_s k_{cat} E_0} - \frac{S_0 k_d x^2}{2 K_s k_{cat} E_0} + 1 \right\}}{k_d} \quad (3.6)$$

En esta ecuación la temperatura de operación es variable operacional y la concentración inicial de enzima se considera parámetro operacional, los demás constituyentes de cada término son parámetros de operación, constantes cinéticas y termodinámicas.

La función de productividad es evaluada con diversos valores de conversión, concentración inicial de sustrato, determinado el tiempo de reacción necesario para el grado de hidrólisis a analizar, se obtiene un punto de productividad, luego de creada una matriz se genera un gráfico de productividad para el grado de hidrólisis respectivo.

Tanto la concentración inicial de sustrato como la conversión son parámetros operacionales

Costo de la enzima: Es el costo monetario por concepto de uso de enzima en cada lote, se determina con la siguiente expresión:

$$Costo\ de\ enzima = C_E = E_0 * P_{enz} * V_r \quad (3.7)$$

En esta ecuación todos los constituyentes son parámetros operacionales

Donde P_{enz} : Precio de la enzima es 39.550 [\$/kg] (Blumnos, comunicación personal)

Costo calentamiento previo a la reacción: Es el costo asociado a la energía que se requiere para elevar la mezcla de temperatura ambiente a la temperatura de operación

$$\text{Costo calentamiento previo a la reacción} = \frac{\rho_m V_r C_{p_m} (T_{op} - T_{amb}) P_v}{\lambda_v} \quad (3.8)$$

En esta ecuación todos los constituyentes son parámetros operacionales

Donde T_{amb} : Temperatura ambiental; P_v : Precio del vapor; λ_v : Calor latente de vaporización del agua;

El tiempo asociado al calentamiento previo puede ser calculado por:

$$t_{CP} = \rho \frac{V_r C_{p_m}}{UA} * \ln \left(\frac{T_v - T_i}{T_v - T_{op}} \right) \quad (3.9)$$

Para determinar los costos por calefacción es necesario conocer el cambio en la temperatura debido a la reacción exotérmica, para esto se utiliza la siguiente ecuación

$$T_{final}^{\circ} = T_{op}^{\circ} + \frac{\Delta H * v}{\rho C_{p_m}}$$

Y realizando los cálculos respectivos se obtiene que en todas las pruebas dentro de los rangos preestablecidos para las variables no supera la T_{final}° a la T_{op}° en más de 0,52[°C]

Costos por tratamiento térmico: Una vez que el producto alcanza el grado de hidrólisis deseado la mezcla debe pasar por un proceso en el que se inactive la enzima de manera que se detenga la hidrólisis enzimática, se considera inactivada la enzima cuando alcanza un porcentaje del 0,1% de enzima residual, esto es $E = 0,001 * E_o$, y se logra en todos los casos estudiados cuando se eleva la temperatura a 85[°C] y se mantiene por un minuto. Los costos asociados se calculan mediante las siguientes ecuaciones.

$$\text{Costos por tratamiento termico} = C_i = \frac{q * P_v}{\lambda_v}$$

$$\text{Costos por tratamiento termico} = \frac{\rho_m V_r C_{p_m} (85 - T_{op}) * P_v}{\lambda_v} \quad (3.10)$$

En esta ecuación todos los constituyentes son parámetros operacionales

Costos por consumo de agua: En la reacción de hidrólisis es necesario que exista una adecuada densidad de la mezcla y una cantidad de agua en el sistema determinada por la concentración de sustrato (La máxima $S_o = 7,5\%$ p/p).

Si se considera densidad del agua $D_{\text{agua}}=1[\text{kg/m}^3]$, el volumen de agua necesario en cada lote (M_W) se puede determinar mediante las ecuaciones usadas por Kristinsson & Rasco (2000) y Valencia et al (2014), como sigue a continuación:

$$\text{Densidad} = d_R = -0,0000853 * (\%S_0)^3 + 0,00056 * (\%S_0)^2 + 0,0063 * (\%S_0) + 1$$

$$\%S = \frac{M_S}{M_T} * 100 \quad (3.11)$$

$$M_T = d_R * V_R \quad (3.12)$$

$$M_P = \frac{M_R * P_R}{100} \quad (3.13)$$

$$M_W = M_T - M_R \quad (3.14)$$

$$M_W = d_R * V_R - \frac{M_P}{P_R} * 100$$

$$M_W = d_R * V_R - \frac{\frac{\%S * M_T}{100}}{P_R} * 100$$

$$M_W = d_R * V_R - \frac{\%S * d_R * V_R}{P_R}$$

$$M_W = d_R * V_R \left[1 - \frac{\%S}{P_R} \right] \quad (3.15)$$

Donde

M_W : Masa de agua en [kg]

M_R : Masa de solidos

M_P : Masa de sustrato o masa de proteína

$\%S$: Es el porcentaje de proteína en la mezcla

P_R : Contenido de proteína en el pescado Salmón (21,1%)

M_T : Masa total en el reactor

V_R : Volumen de reactor

Entonces los costos de agua por cada lote se pueden determinar con la siguiente ecuación:

$$\text{Costos por consumo de agua} = C_w = \frac{d_R * V_R \left[1 - \frac{\%S}{P_R} \right] * P_w}{\rho_w} \quad (3.16)$$

Donde P_w : Corresponde al precio del $[m^3]$ de agua

En esta ecuación todos los constituyentes son parámetros operacionales

Costos por agitación: Corresponde a los costos debido a la energía requerida para agitar el reactor

$$\text{Costos por agitación} = C_a = P_a * t_{op} * P_{kwh} / 60000 \quad (3.17)$$

Donde P_a es la potencia de agitación, $P_a = N_p * \rho * (RPS)^3 * \left(\frac{V_r}{3}\right)^5 \quad (3.18)$

N_p corresponde al número de potencia para el agitador de paletas y enchaquetado para un Reynolds cercano a los $Re=250.000$. $N_p=5$

RPS: Son las revoluciones por segundo del agitador

ρ : Es la densidad de la mezcla

V_r : Es el volumen del reactor.

En esta ecuación todos los constituyentes son parámetros operacionales

Ingresos (I): Como una forma de valorizar el producto del proceso de hidrólisis enzimática se crea la función de ingresos. Los ingresos dan cuenta del recurso monetario por concepto de valorización del producto, esto considerando que el producto es el contenido del reactor posterior a la proteólisis con grado de hidrólisis entre $DH=5\%$ y $DH=25\%$. (Se entiende que el producto del proceso operativo no ha sido filtrado, secado y envasado, donde se asume que es vendido en su totalidad). Los ingresos entonces dependen principalmente del grado de hidrólisis, del volumen de reactor y de la concentración inicial de sustrato.

Además se considera un precio de producto $P_p=\$2500$ [pesos/kg], el cual corresponde a un cuarto del precio para un producto de similares características. Se decide un cuarto del producto pues el hidrolizado no es un producto final y requiere de procesamientos posteriores, como el filtrado, secado y envasado.

Un producto final de similares características se encuentra publicado en la siguiente dirección web. (<http://spanish.alibaba.com/product-tp/fish-protein-hydrolysate-75-powder-50012695543.html>) donde el precio es de $\$16$ [USD/kg]

El precio del producto se utiliza para el análisis económico, si bien al aumentar el grado de hidrólisis en la proteólisis pueden aumentar los costos del proceso y por ende el precio de venta del producto, para efecto de facilitación de cálculos se usa un precio promedio de producto $P_p=\$2500$ [pesos/kg]. También considerar que un mayor precio de producto

afectará las utilidades pero no las condiciones de operación que maximizan las utilidades pues dependen solo de los costos totales.

En análisis posteriores se determina el precio de producto que equilibra los costos y los ingresos, y así consecuentemente se podrá inferir acerca de los ingresos del proceso.

La función de ingresos se muestra a continuación.

$$Ingresos = \frac{\%S_0}{100} * \rho * V_r * P_p \quad (3.19)$$

En esta ecuación todos los constituyentes son parámetros operacionales

Costos totales (CT): Los costos totales corresponden a la suma de todos los costos esto es, costos de enzima, costos por calentamiento previo, costos de tratamiento térmico, costos de agua y costos por agitación.

$$CT = E_0 * P_{enz} * V_r + \frac{\rho_m V_r C_p (T_{op} - T_{amb}) P_v}{\lambda_v} + \frac{\rho_m V_r C_p (85 - T_{op}) * P_v}{\lambda} + \frac{d_R * V_R \left[1 - \frac{\%S}{P_R}\right] * P_w}{\rho_w} + N_p * \rho * (RPS)^3 * \left(\frac{V_r}{3}\right)^5 * t_{op} * P_{kwh} / 60000$$

En esta ecuación todos los constituyentes son parámetros operacionales a excepción del tiempo de operación el cual depende de variables como la temperatura operación y la conversión.

Utilidades: La utilidades es una medida del grado de beneficio que trae el proyecto y se determina calculando la diferencia entre los ingresos y los costos, la función objetivo a maximizar es la siguiente:

$$Utilidad = Ingresos - costos$$

$$Utilidades = \frac{\%S_0}{100} * \rho * V_r * P_p - \left(E_0 * P_{enz} * V_r + \frac{\rho_m V_r C_p (T_{op} - T_{amb}) P_v}{\lambda_v} + \frac{\rho_m V_r C_p (85 - T_{op}) * P_v}{\lambda} + \frac{d_R * V_R \left[1 - \frac{\%S}{P_R}\right] * P_w}{\rho_w} + P_a * t_{op} * \frac{P_{kwh}}{60000} \right) \quad (3.20)$$

Donde el tiempo de operación ha sido expuesto anteriormente en la ecuación 3.5

3.5. Análisis de las utilidades en función de las variables operacionales

Se observa el comportamiento de las utilidades tomando como función objetivo la ecuación 3.20 que presenta las variables operacionales temperatura de operación y concentración inicial de enzima, los demás componentes de esta ecuación corresponden a parámetros de operación y constantes tanto cinéticas como termodinámicas. Así realizar un análisis de sensibilidad de las utilidades respecto de las variables operacionales dentro del rango de observación.

Posteriormente se analizan las utilidades diarias pues es importante tomar en cuenta que las utilidades por lote, tienen asociado un tiempo operación, donde este puede influir en la cantidad de lotes posibles de procesar en una jornada diaria. Por lo tanto, puede ocurrir la situación en la que un producto tenga altas utilidades por lote pero también un alto tiempo de operación lo que significará en un número reducido de lotes por jornada y por ende utilidades por jornada menores que las recabadas por un producto con utilidades por lotes similares pero bajos tiempos de operación.

Para buscar máximos en la función de utilidades, se fijan parámetros como el grado de hidrólisis (DH=5%, DH=10%, DH=15% y DH=20%) y la concentración inicial de sustrato $S_0=166[\text{mM}]$. Las variables cambiantes o de decisión para la optimización son la temperatura de operación y la concentración inicial de enzima. La función objetivo de utilidades a maximizar es la siguiente:

$$\begin{aligned}
 \text{Utilidades Diarias} = & \left(\frac{\%S_0}{100} * X * \rho * V_r * P_p - \frac{\rho_m V_r C_p (T_{op} - T_{amb}) P_v}{\lambda_v} - \right. \\
 & \frac{\rho_m V_r C_p (85 - T_{op}) * P_v}{\lambda} - E_0 * P_{enz} * V_r - P_a * \\
 & \left. \frac{\ln \left\{ \frac{K_m K_d}{K_{cat} E_0} \ln(1-x) + \frac{K_m K_d S_0}{K_p K_{cat} E_0} (-x - \ln(1-x)) + \frac{K_d S_0 x}{K_{cat} E_0} + \frac{K_d S_0^2 x^2}{2 K_p K_{cat} E_0} + \frac{S_0^2 K_d x}{K_s K_{cat} E_0} - \frac{S_0 K_d x^2}{2 K_s K_{cat} E_0} + 1 \right\}}{K_d} * \frac{P_{kwh}}{60000} - \frac{M_W * P_W}{\rho_w} \right) * \\
 & \text{truncamiento} \left[\frac{8 * 60 [\text{min}]}{(\text{tiempo total de operación}) [\text{min}]} \right]
 \end{aligned}
 \tag{3.21}$$

En esta ecuación todos los constituyentes son parámetros operacionales a excepción del tiempo de operación, donde este depende de las variables operacionales: concentración inicial de enzima y temperatura de operación.

Y las restricciones se indican a continuación:

$$E_0 > 0,1$$

$$30 [^{\circ}\text{C}] < T_{op} < 85 [^{\circ}\text{C}]$$

$$V_r > 0$$

$$Lotes\ diarios \geq 1$$

La ecuación 3.21 puede ser resuelta mediante métodos matemáticos del tipo numérico, al analizar varias variables se requiere además la determinación de máximos en las funciones respectivas, para determinar los máximos globales se utiliza el método de resolución GRG Nonlinear de la herramienta Solver de Microsoft Excel 2010.

3.6. Rangos de operación de las variables operacionales.

Resulta indispensable el determinar rangos de operación de cada una de las variables, pues de lo contrario se estudiaría rangos en los cuales la enzima pueda resultar insuficiente o excesiva; la temperatura de operación fuese tan baja como para extender la hidrólisis por periodos demasiado prolongados o temperaturas tan altas que inactiven la enzima completamente en tiempos muy cortos; la concentración de sustrato sea tan baja que la cantidad de producto también lo sea, o tan alta que la mezcla a hidrolizar resulte un fluido demasiado viscoso y dificulte la operación, entre otros.

En diversos estudios se han utilizado variados rangos en las investigaciones, pero se usarán principalmente los recomendados por estudios como Valencia et al, (2014), o aquellos afín en FONDECYT N°11110249.

A continuación se nombra las variables operacionales en el proceso de hidrólisis enzimática y el rango de operación utilizado en los cálculos posteriores.

Temperatura de operación: La temperatura de operación se analiza desde una temperatura de 40[°C] que es una temperatura a la cual se evidencia actividad enzimática, hasta una temperatura de 80[°C], aumentando de diez en diez grados.

Concentración inicial de enzima: La concentración inicial de enzima se analiza desde 0,1 [g/L] a 3,0 [g/L], se utiliza este rango debido a que concentraciones inferiores los tiempos de reacción pueden resultar demasiado prolongados y a concentraciones superiores resulta ser excesiva. Las concentraciones iniciales de enzima más utilizadas son 0,1 [g/L]; 0,2 [g/L]; 0,5 [g/L]; 1 [g/L]; 2 [g/L] y 3 [g/L].

Concentración de sustrato inicial: La concentración de sustrato inicial es analizada en el rango de 20-166[mM] y en dos puntos principalmente una concentración media correspondiente a 83[mM] y una concentración alta de 166 [mM]. Concentraciones muy bajas resulta una mezcla muy diluida y a concentraciones superiores la mezcla es muy densa y dificulta su procesamiento.

Conversión: La conversión es analizada principalmente desde 0 a 0,7576, no se utiliza conversiones mayores debido a que se requieren tiempos de operación demasiado altos para alcanzar la conversión respectiva.

Grado de Hidrólisis: Investigadores como Gbogouri et al, (2004) han demostrado que para grados de hidrólisis por sobre DH=17%, la proteína se encuentra cercana al 100% soluble por lo cual grados de hidrólisis superiores no presentan cambios significativos en las propiedades funcionales y los tiempos de reacción son elevados.

Aun así, este estudio utiliza valores superiores de forma de mostrar la magnitud de los tiempos de reacción teóricos necesarios para los casos estudiados.

El grado de hidrólisis es tomado de forma discreta con 5% correspondiente una conversión de 0,1894; 10% para una conversión de 0,3788; 15% para una conversión de 0,5682 y 20% para una conversión de 0,7576.

Volumen de reactor: Este estudio considera diversos volúmenes de reactor de forma de determinar la sensibilidad de las variables que permiten la optimización a distintas variables operacionales, si bien el volumen de reactor es proporcional a las utilidades, si afecta por separado cada uno de los costos asociados a la operación. Es estudiado entre el rango de 0,2 [m³] a 10 [m³], se utiliza estos rangos debido a que son los tamaños más usados en la industria. Las magnitudes del volumen de reactor más utilizadas son 0,2 [m³]; 0,45 [m³]; 1 [m³]; 2 [m³], 3 [m³] y 10 [m³].

Los rangos de operación analizados son resumidos en la tabla 4.5

Tabla 3.1: Rangos de operación para variables y parámetros operacionales

Variable Operacional	Rango mínimo	Rango Máximo	Unidades
Temperatura	40	80	[°C]
Conversión	0,1894	0,7576	[-/-]
Grado de Hidrolisis	5	20	[%]

Parámetro Operacional	Rango mínimo	Rango Máximo	Unidades
Volumen Reactor	0,2	10	[m ³]
Conc. Inicial Enzima	0,1	3	[g/l]
Conc. Inicial Sustrato	20	166	[mM]

Dimensionamiento del reactor por lotes

Las dimensiones del reactor según los criterios de diseño expuestos en el apartado de antecedentes se exponen en la Tabla 4.5, según el volumen de reactor.

Tabla 3.2: Dimensiones de cada reactor por lotes según Volumen de reactor

Vr [m ³]	Dr [m]	Lp [m]	Hr [m]	Fr [m]	Ad [m]	Ach [m]	Ed [m]
0,2	0,63	0,21	0,63	0,070	0,053	0,016	0,011
0,45	0,83	0,28	0,83	0,092	0,069	0,021	0,014
1	1,084	0,361	1,084	0,120	0,090	0,027	0,018
2	1,366	0,455	1,366	0,152	0,114	0,034	0,023
3	1,563	0,521	1,563	0,174	0,130	0,039	0,026
5	1,853	0,618	1,853	0,206	0,154	0,046	0,031
10	2,335	0,778	2,335	0,259	0,195	0,058	0,039

Como ejemplo se expone las dimensiones del reactor con el volumen $V_r=3,0[m^3]$

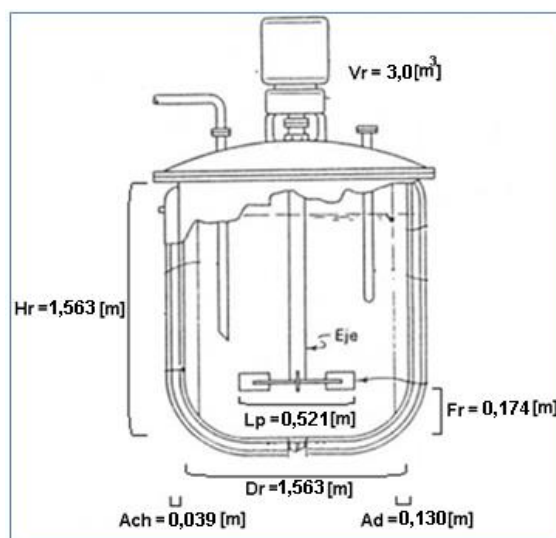


Figura 3.2: Dimensiones del reactor con volumen $V_r=3,0 m^3$

CAPÍTULO

RESULTADOS

IV

4. Resultados

4.1. Análisis de las variables operacionales.

Primero se realizan diversos análisis del comportamiento de las variables operacionales. Posterior a esto se observa la productividad y su respuesta al cambio en las variables operacionales. Luego de esto, el análisis se enfoca en los costos e ingresos del proceso de hidrólisis en función de los parámetros operaciones y por último se realiza un análisis de las utilidades con el fin de determinar si existen condiciones de operación que reporten beneficios económicos en el proceso de proteólisis.

4.1.1 Comportamiento de la conversión de sustrato en el reactor por lotes

A continuación se muestra el comportamiento de la conversión de sustrato en el reactor por lotes.

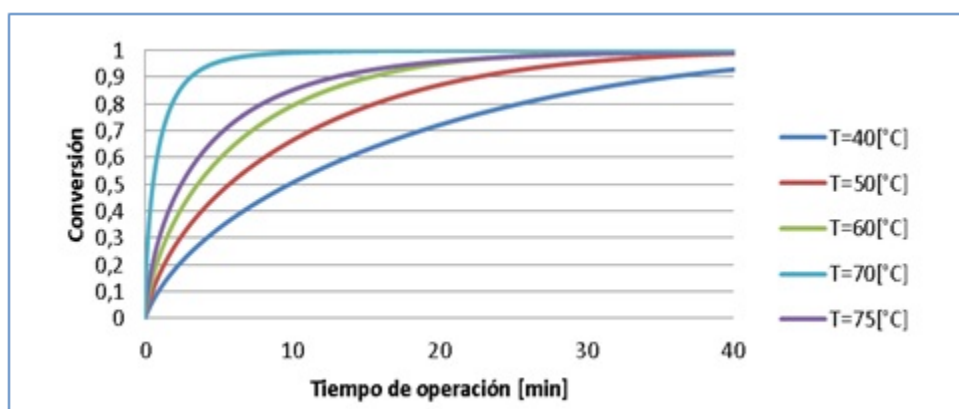


Figura 4.1: Conversión versus tiempo de reacción $E_0=3$ [g/L], $S_0=40$ mM, para diferentes T° operación

Como se puede apreciar en la Figura 4.1, al aumentar la temperatura es mayor la velocidad inicial de reacción de hidrólisis, esto también puede verificarse observando la pendiente inicial de cada gráfica. Esta gráfica muestra la influencia de la temperatura en la hidrólisis proteica a temperaturas menores, la inactivación térmica es menor pero la velocidad de reacción es baja también.

Una conversión mayor significa un hidrolizado enzimático con mayor grado de hidrólisis, para el cual se requiere tiempos de operación superiores.

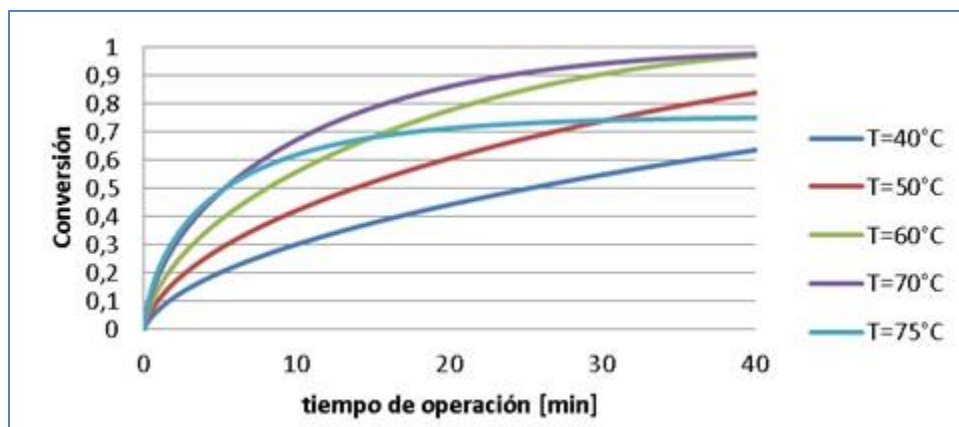


Figura 4.2: Conversión versus tiempo de operación $E_0=3$ [g/L], $S_0=166$ mM, para diferentes T° operación

Un aumento en la concentración de sustrato inicial a $S_0=166$ [mM] mostrado en la Figura 4.2, influye en el tiempo en que se hidrolizará ésta, de ahí que para una misma temperatura y conversión se requiera un tiempo mayor. Se aprecia además que a mayor temperatura de operación, las distintas graficas de conversión presentan mayor velocidad inicial de reacción, esto se verifica por la pendiente en cada gráfica en los primeros minutos. Para la gráfica de temperatura de operación de 75°C no se alcanza la conversión máxima.

4.1.2 Inactivación de la enzima en función de las variables operacionales

Las distintas curvas de inactivación se obtienen de la función de actividad enzimática relativa, esto es el cuociente entre la concentración de enzima y la concentración de enzima inicial.

$$\frac{E_t}{E_0} = e^{-k_d \cdot t}$$

La variable operacional temperatura de operación y los parámetros concentración inicial de enzima y concentración inicial de sustrato, se evalúan uno a la vez y en los rangos preestablecidos, y se registra el tiempo transcurrido en la reacción de hidrólisis para cada uno de los casos.

A continuación se analiza el efecto de las variables operacionales sobre la inactivación térmica de la enzima.

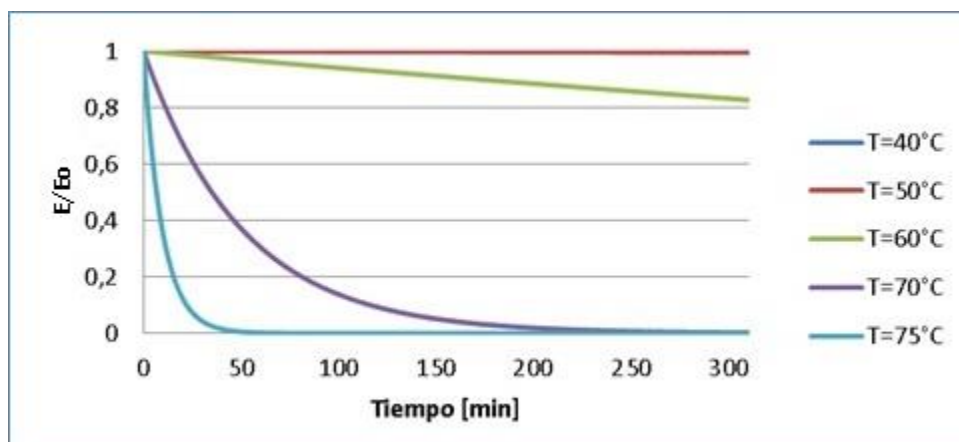


Figura 4.6: Cinética de inactivación térmica de Alcalase, $E_0=1$ [g/L], $S_0=166\text{mM}$

La temperatura de operación es el factor más importante en lo que respecta a la cantidad de enzima activa presente en el sistema. A medida que aumenta la temperatura de operación, el decaimiento de la cantidad de enzima activa es mayor, tanto así, que para una temperatura de 75°C luego de los 50 minutos de operación la actividad de la enzima es prácticamente cero, bajo las condiciones mostradas en el gráfico 4.6. Se puede ver también en este grafico que la concentración de enzima para temperaturas de operación menores a los 60°C disminuye en menos del 10% en dos horas

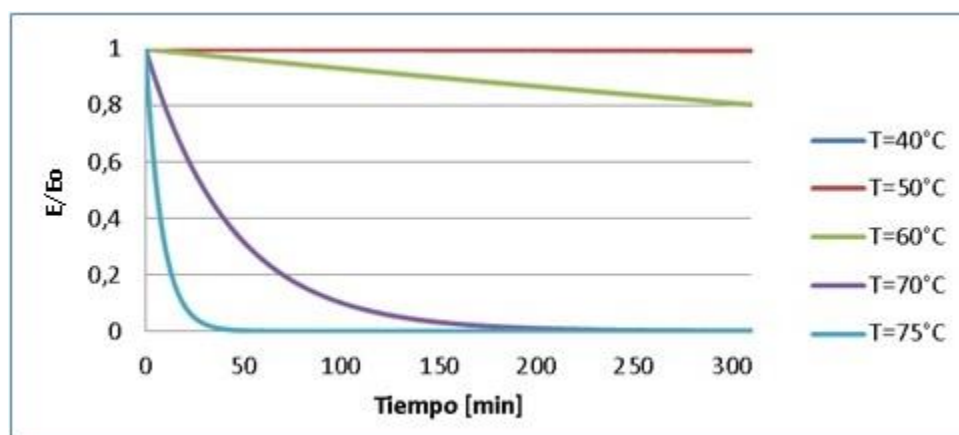


Figura 4.7: Cinética de inactivación térmica de Alcalase $S_0=1$ [g/L], $S_0=88\text{mM}$

Al analizar un caso en que la concentración de sustrato es 88mM en la Figura 4.7 para una misma temperatura y tiempo de operación, se observa que la actividad relativa disminuye pero esta variación es casi imperceptible, lo que significa que para las concentraciones de sustrato y enzima analizadas la actividad de la enzima no es afectada de una forma marcada para una misma temperatura. Es posible que para concentraciones más extremas existan cambios apreciables.

La actividad relativa permite además determinar cuál es la fracción de enzima respecto de la inicial que se desea eliminar con el tratamiento térmico. Se utilizan comúnmente criterios como valores menores al 1% de actividad residual para definir que el tratamiento térmico sea prescindible. En la Figura 4.7 valores menores al 1% de actividad residual se alcanzan posterior a los 50 minutos de tiempo de operación para una temperatura de 75[°C].

Para temperaturas del orden de los 40[°C] la inactivación es tan baja que se requieren tiempos de operación mucho más prolongados para alcanzar valores de actividad residual que prescindan del tratamiento térmico.

Tabla 4.1: Tiempos de vida media [min] de la enzima para distintas temperaturas, $E_o=1$ [g/l], DH=15%

Temperatura [°C]	$S_o = 60$[mM]	$S_o = 80$[mM]	$S_o = 120$[mM]	$S_o = 160$[mM]
50	31558	38897	42754	45181
60	778	971	1068	1128
70	24	30	33	35

Es posible apreciar que para una misma temperatura trabajar con una mayor concentración inicial de sustrato, afecta positivamente pues la actividad enzimática disminuye en menor grado.

4.1.3 Productividad en función de la temperatura de operación y E_o

La productividad (Ecuación 3.5) es importante pues permite determinar cuánto producto es generado en la reacción de hidrólisis en un intervalo de tiempo idéntico al tiempo de reacción.

El producto está considerado como la mezcla del reactor que ha alcanzado un grado de hidrólisis DH entre 5% al 20%, sin tratamientos posteriores más que el tratamiento térmico.

A continuación se muestra gráficos de la productividad en función de las variables operacionales temperatura de operación y concentración inicial de enzima.

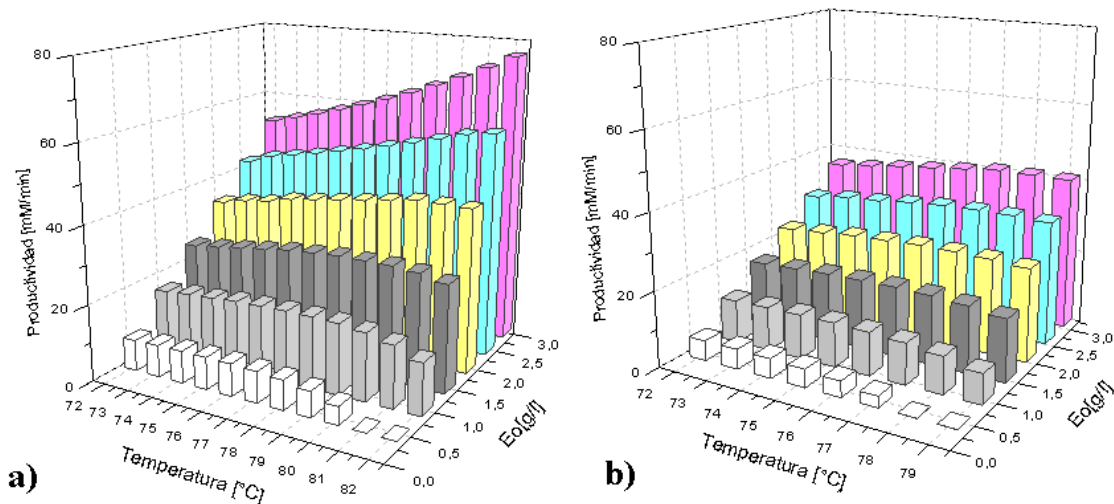


Figura 4.8: Productividad versus Temperatura operación y Eo, para un DH=5%, a) So=83mM, b) So=166mM

En el caso del gráfico 4.8a, se desprende que la productividad es mayor a menores concentraciones iniciales de sustrato. También que para las mayores temperaturas y altas concentraciones iniciales de enzima (ejemplo $E_o=3\text{g/l}$) la productividad es muy elevada alcanzando valores cercanos a $80[\text{mmol/min}]$ a los $82[^\circ\text{C}]$.

Desde $E_o=0,5[\text{g/l}]$ hasta $E_o=2[\text{g/l}]$ se observan máximos de productividad, respecto de la temperatura al observar el rango medido, por ejemplo $E_o=0,5[\text{g/l}]$ del gráfico 4.8a temperaturas superiores a 78°C se aprecia una fuerte disminución de la actividad enzimática.

Para el caso del gráfico 4.8b, al trabajar con una concentración inicial de sustrato de $So=166 [\text{mM}]$, para un grado de hidrólisis de 5%, se observa una disminución en la productividad comparando temperaturas de operación y concentraciones iniciales de enzima similares. Además la productividad para cada concentración inicial de enzima analizada, presentan máximos en el rango de temperatura analizado.

También se puede ver que en general (Para ambas concentraciones iniciales de sustrato) los máximos de productividad se van desplazando hacia mayores temperaturas de operación a medida que aumenta la concentración de enzima.

Si bien al aumentar la concentración de enzima aumenta también la productividad, es importante destacar que los costos por enzima también crecen y por ende los costos totales en la operación también aumentan.

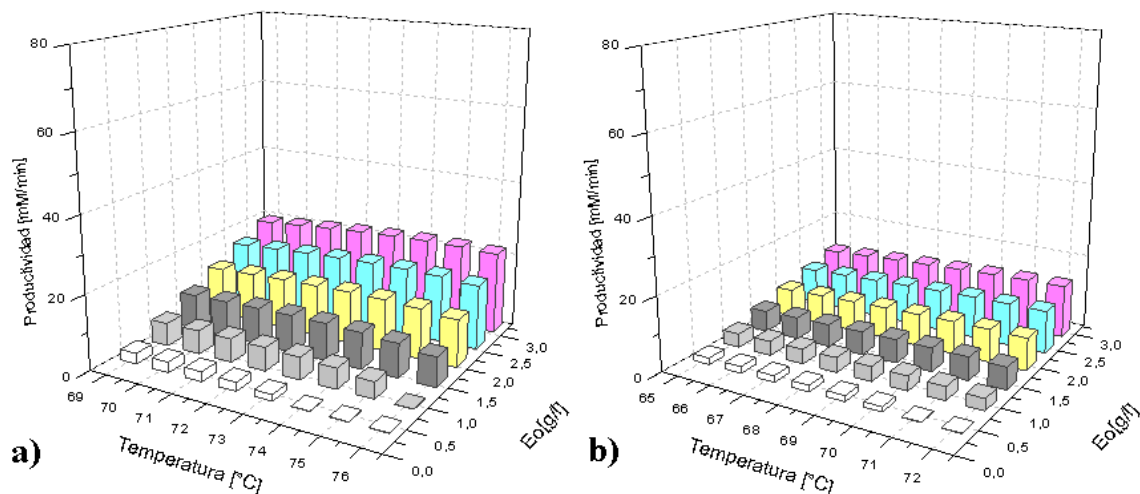


Figura 4.9: Productividad versus Temperatura operación y Eo, para un DH=15%, a) So=83mM, b) So=166mM

Cuando se analiza la productividad para un mayor grado de hidrólisis como en la Figura 4.9, los máximos de productividad se desplazan hacia menores temperaturas como puede verse comparando con el gráfico anterior en comparación a grados de hidrólisis menores. También se aprecia que disminuye la productividad para un mayor grado de hidrólisis y una mayor concentración inicial de sustrato.

Se mantiene el hecho de que a mayores concentraciones iniciales de enzima, mayor es la productividad. Se observa también que existen máximos en las funciones de productividad, donde estos se desplazan hacia mayores temperaturas de operación a medida que aumenta la concentración inicial de enzima

De este análisis se obtiene que tanto al aumentar el grado de hidrólisis, al aumentar la concentración inicial de sustrato y disminuir la concentración inicial de enzima, los máximos en la función de productividad se desplazan hacia temperaturas menores.

Además se observa que para menores concentraciones iniciales de sustrato y menores grados de hidrólisis se alcanza mayores productividades y es posible trabajar a mayores temperaturas disminuyendo los tiempos de operación, lo que trae consigo el poder realizar un mayor número de lotes por jornada y una productividad diaria mayor.

La productividad de un hidrolizado con un grado de hidrólisis alto es menor que aquella para grados de hidrólisis menores, se debe considerar también los tiempos de operación y la cantidad de lotes posibles de realizar en una jornada, así determinar con factores económicos el grado de productividad que maximice los beneficios del proceso.

Tabla 4.1: Productividad Máxima para diferentes valores de DH en [mM/min], para So=83[mM]

Eo [g/l]	DH		So		DH		So		DH		So		DH		So	
	5%		10%		15%		20%		20%		20%		20%		20%	
	T[°C]	Qmax	T[°C]	Qmax	T[°C]	Qmax	T[°C]	Qmax	T[°C]	Qmax	T[°C]	Qmax	T[°C]	Qmax	T[°C]	Qmax
0,5	75	8,45	71	4,67	69	2,93	67	1,89								
1	77	18,59	74	10,25	71	6,45	69	4,15								
1,5	79	29,88	75	16,4	72	10,22	70	6,57								
2	81	42,9	76	22,77	73	14,18	71	9,11								
2,5	82	57,7	77	29,62	74	18,32	72	11,72								
3	83	79,68	78	36,78	75	22,61	73	14,39								

Productividad Máxima para diferentes valores de DH en [mM/min], para So=166[mM]

Eo [g/l]	DH		So		DH		So		DH		So		DH		So	
	5%		10%		15%		20%		20%		20%		20%		20%	
	T[°C]	Qmax	T[°C]	Qmax	T[°C]	Qmax	T[°C]	Qmax	T[°C]	Qmax	T[°C]	Qmax	T[°C]	Qmax	T[°C]	Qmax
0,5	72	5,28	70	2,79	66	1,78	64	1,18								
1	74	11,63	71	6,31	68	3,96	66	2,62								
1,5	76	18,47	72	10,03	70	6,32	68	4,18								
2	77	25,53	73	13,96	71	8,80	69	5,82								
2,5	78	33,06	74	18,05	71	11,35	70	7,49								
3	79	40,78	75	22,19	72	14,02	70	9,27								

La tabla 4.1 y 4.2 muestran la productividad máxima y la temperatura de operación correspondiente a dicho máximo para cada concentración inicial de enzima, estos máximos de productividad presentan temperaturas relativamente altas, especialmente para los menores grados de hidrólisis y altas concentraciones de enzima inicial, esto debido a una reacción con una alta cinética pero también con una inactivación muy elevada.

Se aprecia que al aumentar la concentración inicial de enzima y disminuir la concentración inicial de sustrato, para un mismo grado de hidrólisis, las temperaturas óptimas de operación son superiores. Esto es importante pues permite operar a mayores temperaturas y por ende disminuir los tiempos de operación.

Al analizar la tabla de productividad en función de la temperatura para cada concentración inicial de enzima se observa que a medida que aumenta la concentración inicial de enzima también aumenta la productividad lo que permite operar a altas concentraciones iniciales de enzima. Pero esto afecta directamente los costos asociados a la operación en estas condiciones.

Es necesario saber el comportamiento de los diversos costos respecto de la temperatura de operación, así determinar si la máxima productividad coincide con los mínimos costos a una misma temperatura.

4.2. Análisis de Costos en función de las variables operacionales

Los costos operativos corresponden a los costos por enzima, costos por tratamiento térmico operativa, costos de agua, costos por agitación y costos por calefacción previa a la operación, la suma de todos estos costos determinan los costos totales operacionales el cual es un importante indicador de rentabilidad de la operación y resulta de gran importancia al momento de optimizar el proceso en forma económica.

4.2.1 Costos por calentamiento previo en función de las variables operacionales

El costo por calentamiento previo es el costo por energía utilizada para llevar el reactor con la mezcla desde la temperatura ambiente hasta la temperatura de operación se determinan según la ecuación 3.8. Este costo depende solo de la temperatura de operación, temperatura inicial de la mezcla y de la concentración inicial de sustrato.

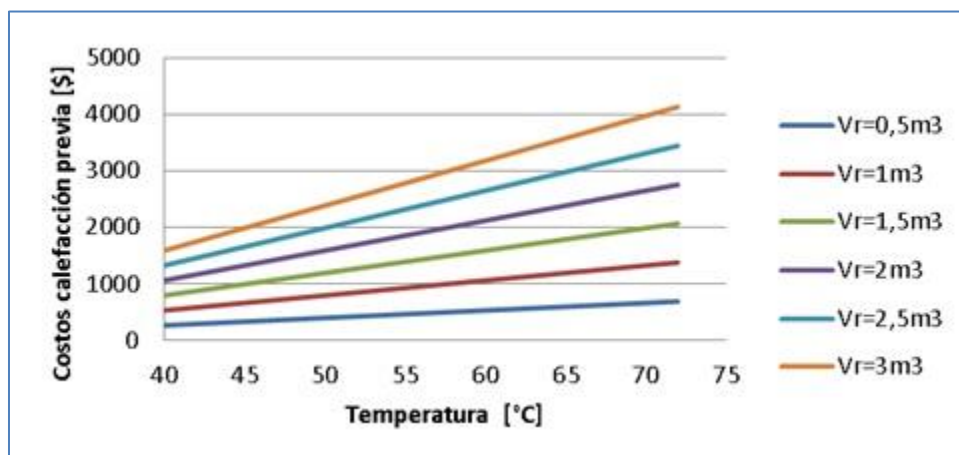


Figura 4.11: Costo Calentamiento previo versus Temperatura $S_0=88\text{mM}$

En la Figura 4.11 se observa que los costos de calentamiento previo son directamente proporcionales a la temperatura de operación donde aumentan los costos al trabajar con temperaturas de operación mayores. Además como es de esperar para volúmenes de reactor mayores de reactor los costos son también superiores pues la cantidad de mezcla a calentar es mayor.

Al aumentar la concentración inicial de sustrato a $S_0=166[\text{mM}]$ los costos por calefacción previa son levemente mayores, debido a un efecto del aumento de la densidad. Aun así esta diferencia es relativamente baja incluso en condiciones de operación extremas en los rangos de operación observados.

4.2.2 Costos de enzima en función de las variables operacionales

Los costos de enzima determinado según la ecuación 3.7 dependen únicamente de la concentración inicial de enzima, por lo cual estas serán las variables operacionales que permitirán analizar el comportamiento de este costo. A su vez del valor de la enzima, donde se considera el precio del proveedor Novozymes® de \$39.550 [\$/Kg] (Novozymes, 2007)

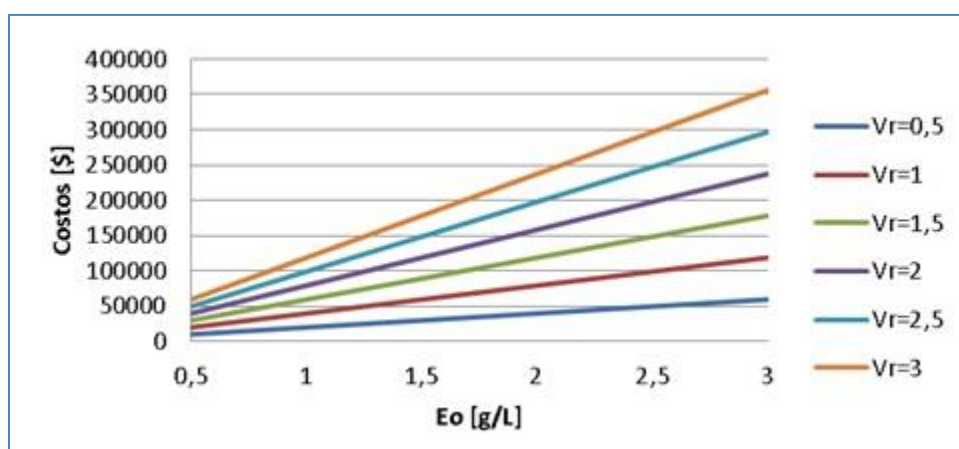


Figura 4.12: Costo de enzima versus Concentración inicial de Enzima

Según la Figura 4.12 a medida que aumenta la concentración inicial de enzima los costos aumentan debido a la mayor cantidad utilizada por lote, ocurre lo mismo al aumentar el volumen de reactor pues al aumentar el volumen de mezcla a hidrolizar se debe aumentar la cantidad de enzima para lograr la concentración deseada en el proceso.

Mayores concentraciones iniciales de enzima encarecen el proceso. Además posterior a la hidrólisis enzimática existen cantidades de enzima con actividad catalítica mayores.

El costo por enzima hasta este momento de la evaluación es el más importante en la hidrólisis enzimática especialmente para altos volúmenes de reactor. Lo que significa que se debe buscar estrategias que permitan el ahorro y uso más eficiente de la enzima.

4.2.3 Costos de agua en función de las variables operacionales

El agua es un componente esencial pues es un reactante en la reacción de hidrólisis enzimática y permite también obtener una concentración en la mezcla que facilite la agitación y homogenización de la misma.

Los costos por consumo de agua son determinados con la ecuación 3.16 y se exponen en el gráfico de la Figura 4.13, donde solo se considera el costo de agua en la mezcla de reacción, el agua de lavado y agua para otras operaciones de la empresa no son tomados en cuenta.

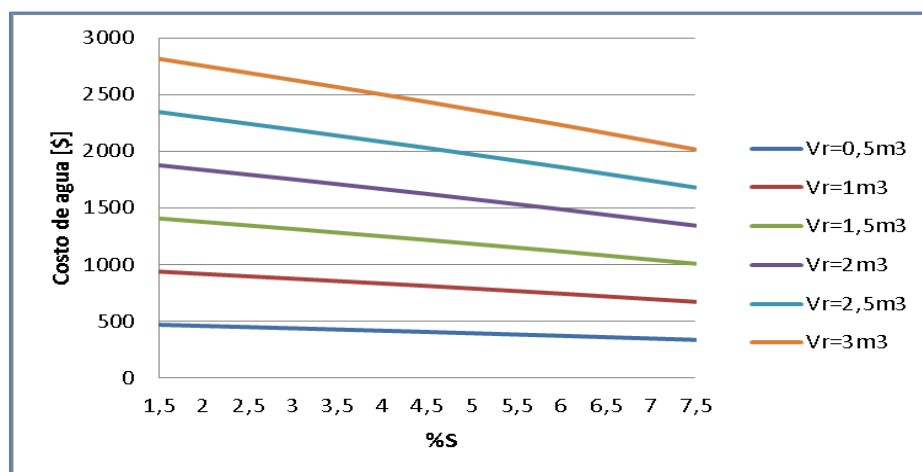


Figura 4.13: Costo de agua versus %S, según volumen del reactor

Asumiendo que las cargas (lotes) de mezcla en el reactor serán completas, el consumo de agua se ve influenciado principalmente por el volumen del reactor y por ende al aumentar la capacidad del mismo, mayores serán los consumos de agua y los costos asociados, en menor grado los costos se ven afectados por la concentración de sustrato, pues disminuyen de forma leve al aumentar el porcentaje de sustrato en la mezcla.

Es posible reducir los costos por consumo de agua al utilizar concentraciones iniciales de sustrato mayores. Y es importante destacar que además en procesos posteriores con mayores concentraciones de sustrato inicial, el agua a retirar de la mezcla de producto es menor, lo que afecta la rentabilidad del proceso completo.

Los costos por concepto de consumo de agua hasta este punto del análisis son los más bajos por lote, esto no quiere decir que no tengan influencia en la rentabilidad del proceso y producción de hidrolizados enzimáticos, además al considerar la cantidad de lotes diarios o lotes realizados al año los costos de agua pueden llegar a ser importantes.

4.2.4 Costos por agitación en el reactor en función de las variables operacionales

Los costos por agitación se deben principalmente al gasto energético en el motor del agitador del reactor, donde la energía utilizada es la eléctrica y el nivel de agitación corresponde a un número de Reynolds del orden de $Re = 250.000$, el cual es adecuado para este tipo de reactores que posee agitador de paletas, enchaquetado y tipo de mezcla Perry (1992).

Los costos por agitación se determinan según la ecuación 3.17 y dependen principalmente de la potencia de agitación la cual a su vez depende de la densidad de la mezcla y el tiempo de agitación el cual corresponde al tiempo que se mantenga en operación el reactor por lotes.

Como se muestra en la ecuación 3.6, el tiempo de operación depende de la concentración inicial de enzima, concentración inicial de sustrato y la temperatura de operación. Por lo tanto un aumento del tiempo debido a las variables operacionales, aumenta los costos por agitación

A continuación se muestra el costo por agitación influenciado por las variables operacionales que afectan el tiempo de reacción.

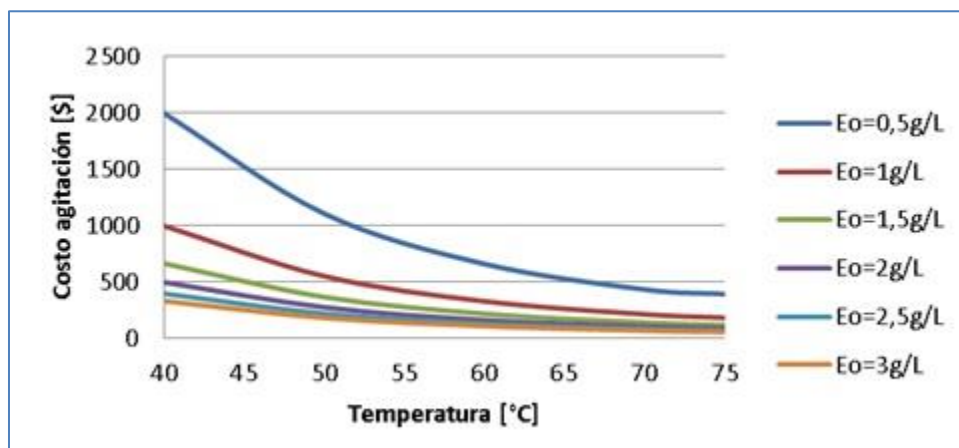


Gráfico 4.14: Gráfico Costo por agitación versus temperatura DH=5%, So=88mM, Vr=2,5 [m³]

Al considerar un grado de hidrólisis del orden de DH=5% y una concentración inicial de sustrato de So=88[mM], se observa que a medida que aumenta la temperatura de operación y la concentración inicial de enzima, disminuyen los costos por agitación.

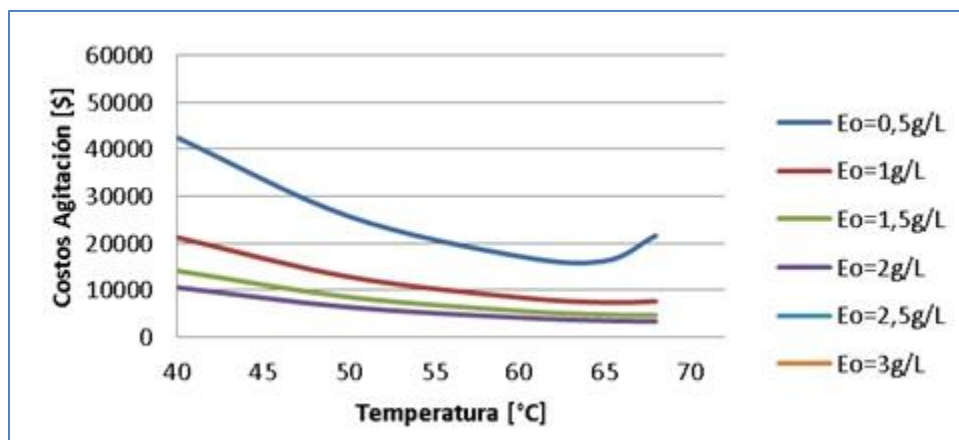


Gráfico 4.15: Gráfico Costo por agitación versus temperatura DH=20%, So=88mM, Vr=2,5 [m³]

Si posteriormente se analiza el grado de hidrólisis correspondiente a DH=20%, para la misma concentración inicial de sustrato, los costos por agitación suben notoriamente y el mínimo en la función de costos por agitación para Eo=0,5[g/L] se ha desplazado hacia menores temperaturas, específicamente 64[°C], para Eo=1[g/L] el mínimo en la función de costos por agitación es a los 66[°C]. Esto muestra que el tiempo de operación afectado por la inactivación térmica de la enzima afecta los costos por agitación, de forma que para admitir menores costos se requiere trabajar a menores temperaturas en caso que se aumente el grado de hidrólisis.

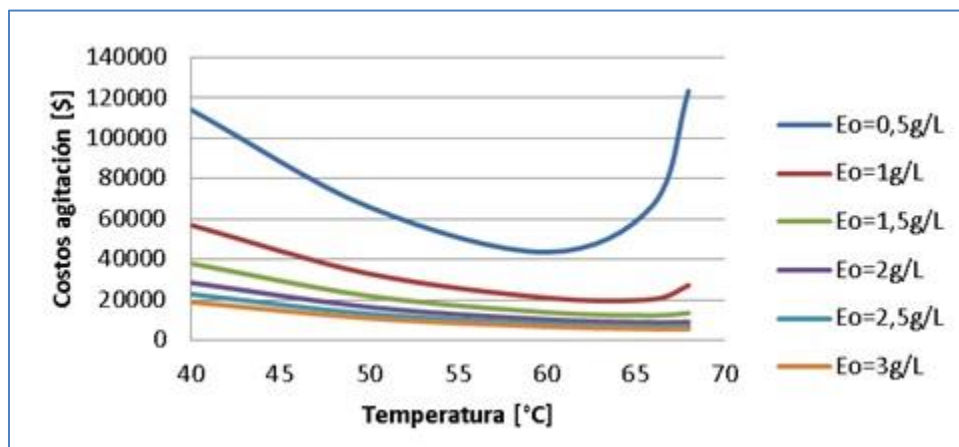


Gráfico 4.16: Gráfico Costo por agitación versus temperatura DH=20%, So=166mM, Vr=2,5 [m³]

Al observar los gráficos de grado de hidrólisis DH=20% y ambas concentraciones de sustrato inicial, se ve que para la mayor concentración de So, los costos por agitación son bastante importantes, donde para la menor concentración inicial de enzima, sobrepasa los \$100.000 (CLP) a temperaturas muy bajas y muy altas, y se observa para esta

concentración de enzima un mínimo en la función de costo por agitación alrededor de los 60[°C].

Del gráfico se desprende que sobre los 60[°C] las funciones de costos por agitación presentan estabilización o mínimos para todas las concentraciones de enzima inicial.

Al aumentar la concentración inicial de enzima el mínimo de costos se desplaza hacia temperaturas mayores, pero es posible que a temperaturas superiores a los 68[°C] no se alcance el grado de hidrólisis DH=20% debido a la inactivación térmica.

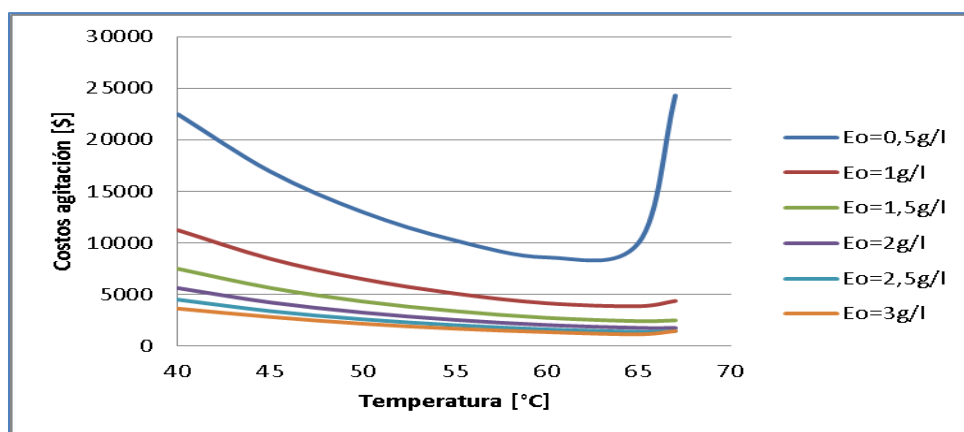


Gráfico 4.17: Gráfico Costo por agitación versus temperatura DH=20%, So=166mM, Vr=1,0 [m³]

El comportamiento es bastante similar al gráfico 4.16 al analizar la disminución del volumen de reactor si bien todas las funciones de costos de agitación se desplazan hacia menores costos.

4.2.5 Costos por tratamiento térmico en función de las variables operacionales

El costo por tratamiento térmico es el costo asociado al uso de energía utilizada para inactivar la enzima residual que pudiese existir posterior a la reacción de hidrólisis y se determina según la ecuación 3.10. El objetivo del tratamiento térmico es detener la reacción cuando se ha alcanzado el grado de hidrólisis deseado

Los costos asociados a esta energía están pensados en el vapor necesario para alcanzar una temperatura de tratamiento de $T_{trat}=85[°C]$ desde la temperatura de operación. Este costo depende de la temperatura de operación, la concentración inicial de enzima, del volumen del reactor y de la concentración inicial de sustrato.

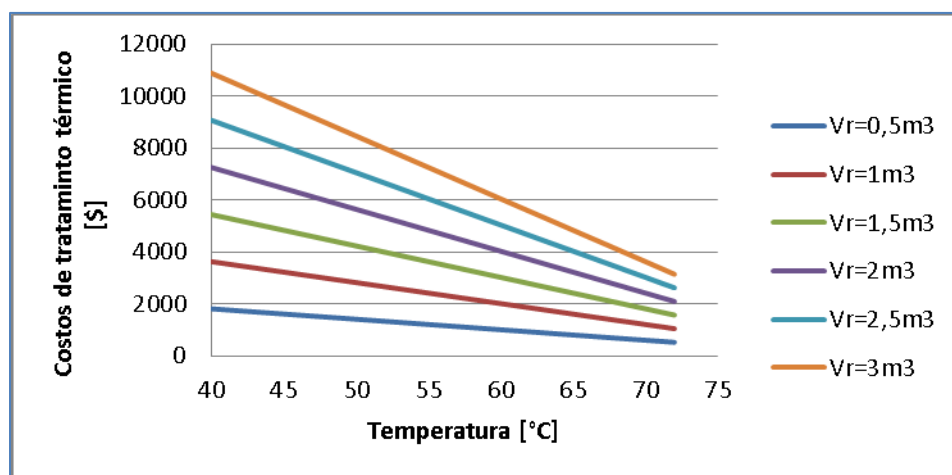


Figura 4.18: Costo tratamiento térmico versus temperatura de operación $S_0=83\text{mM}$

Como se puede ver en el gráfico de la Figura 4.18 a medida que aumenta la temperatura de operación los costos por tratamiento térmico disminuyen, esto se debe a que la diferencia de temperatura entre la temperatura de $85[^\circ\text{C}]$ y la temperatura de operación es cada vez menor.

También es posible observar que para mayores volúmenes de reactor también aumentan los costos por inactivación pues una mayor cantidad de mezcla requiere de más energía para alcanzar la temperatura del tratamiento térmico.

Si aumenta la concentración inicial de sustrato no se observan diferencias en los costos por tratamiento térmico debido a que la variación de la densidad es baja en el rango observado.

4.3. Costos totales en función de las variables operacionales

Los gráficos anteriormente mostrados han permitido el análisis de varias variables de optimización, pero es importante el poder analizar los costos totales en función de las variables operacionales, los costos totales permiten apreciar de mejor forma la viabilidad del proceso en cuanto a costos de operación, por esto es una de las variables de optimización con mayor importancia pues es un indicador que refleja el comportamiento de la suma de los costos operaciones. Los costos totales son la suma de todos los costos mostrados anteriormente, osea, $\text{costos totales} = \text{costos por calentamiento previo} + \text{costos por tratamiento térmico} + \text{costos de enzima} + \text{costos de agua} + \text{costos por agitación}$. Todos estos costos tienen un comportamiento distinto por separado, por lo cual, es difícil predecir cuál es el comportamiento en conjunto, para esto se realiza un análisis gráfico de los costos totales en función de las variables operacionales.

A continuación se realiza un análisis gráfico de los costos totales en función de las variables operacionales.

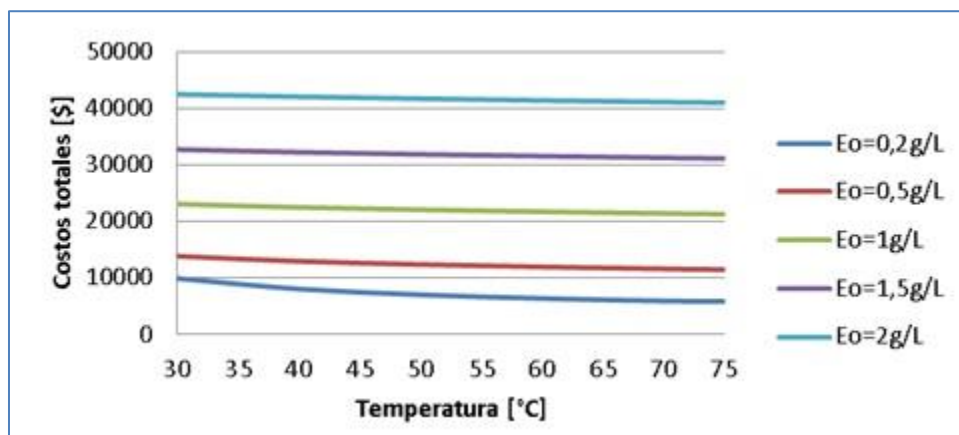


Figura 4.19: Costos totales versus temperatura de operación $DH=5\%$, $S_o=83\text{mM}$, $V_r=0,5\text{m}^3$

Al analizar el proceso para un grado de hidrólisis bajo, correspondientes a $DH=5\%$, concentraciones iniciales de sustrato de 83[mM] esto es un medio de la máxima concentración de sustrato y volúmenes de reactor bajos del orden de $V_r=0,5\text{[m}^3\text{]}$, se aprecia que las funciones de costos totales son similares a una recta y prácticamente paralelas para cada concentración inicial de enzima.

Las menores concentraciones iniciales de enzima presentan menores costos totales y aumentan los costos al aumentar la concentración inicial de enzima como también al disminuir la temperatura de operación. La diferencia que existe en los costos totales entre una concentración inicial de enzima y otra, se debe principalmente a los costos por enzima el cual es el más importante entre todos los costos que constituyen los costos totales.

La menor concentración inicial de enzima presenta una leve curvatura a bajas temperaturas esto se debe a temperaturas bajas hay también una baja cinética y por ende tiempos de operación mayores de ahí que sean importantes los costos por agitación.

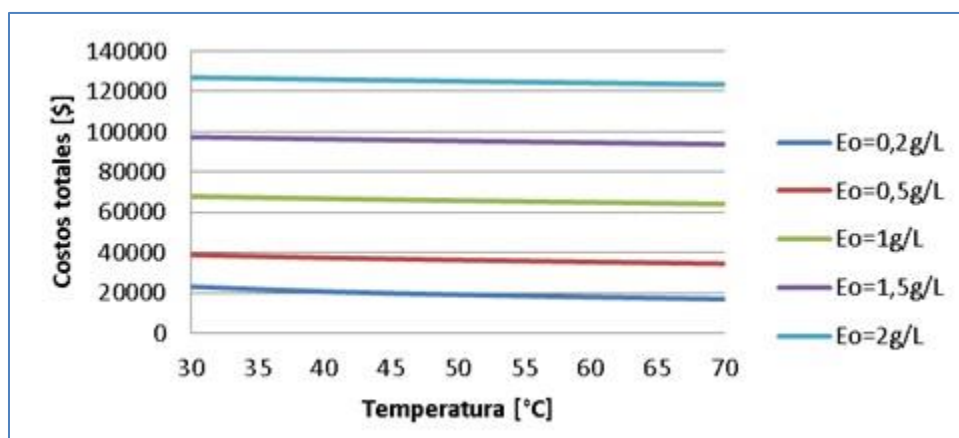


Figura 4.20: Costos totales versus temperatura de operación DH=5%, So=88mM, Vr=1,5m³

Un aumento en el volumen del reactor como el mostrado en la Figura 4.20 causa un efecto de desplazamiento de las funciones de costos totales, este desplazamiento es de forma prácticamente paralela, hacia mayores costos (con respecto al gráfico de la Figura 4.18 de grado de hidrólisis DH=5%, concentraciones iniciales de sustrato de 88[mM] y volumen de reactor de Vr=0,5[m³]). Si aumenta el volumen del reactor se mantiene la tendencia al alza de los costos al aumentar la temperatura y la concentración inicial de enzima.

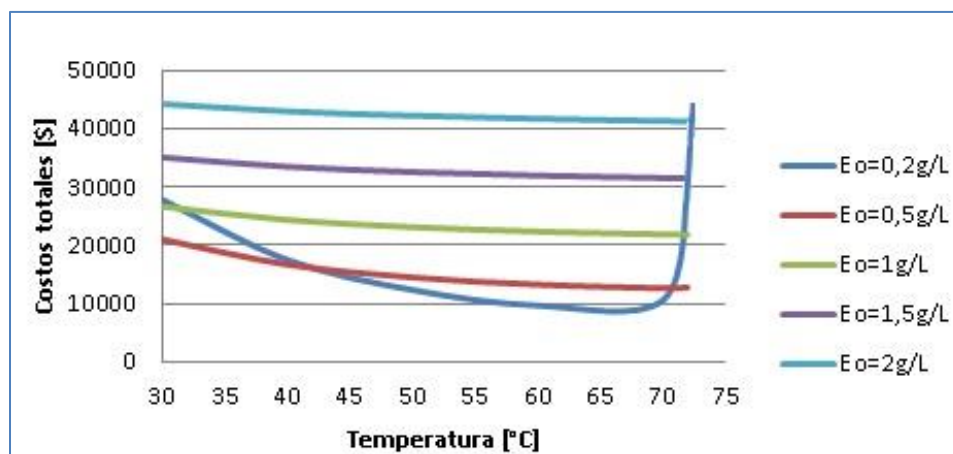


Figura 4.21: Costos totales versus temperatura de operación DH=15%, So=83mM, Vr=0,5m³

La Figura 4.21 muestra que para producir hidrolizado con un grado de hidrólisis DH=15% el comportamiento se mantiene bastante similar además de una leve curvatura para las distintas graficas de costos totales, esto a bajas temperaturas de operación a excepción de la menor concentración inicial de enzima que presenta un comportamiento bastante distinto, para bajas temperaturas

Además se denota que al producir hidrolizado triplicando el grado de hidrólisis $DH=15\%$ los costos no se triplican sino aumentan levemente, pero esto no sucede para la menor concentración inicial de enzima la cual presenta un comportamiento distinto.

La menor concentración inicial de enzima presenta una velocidad de reacción baja especialmente a las menores temperaturas, el tiempo de reacción es alto y por ende aumentan los costos por agitación afectando los costos totales. Luego del mínimo en la función de costos totales, la inactivación térmica para temperaturas sobre los $68[^\circ\text{C}]$ afecta gran parte de la concentración de enzima lo que afecta la disponibilidad de enzima activa en el sistema aumentando los tiempos de reacción y así los costos totales.

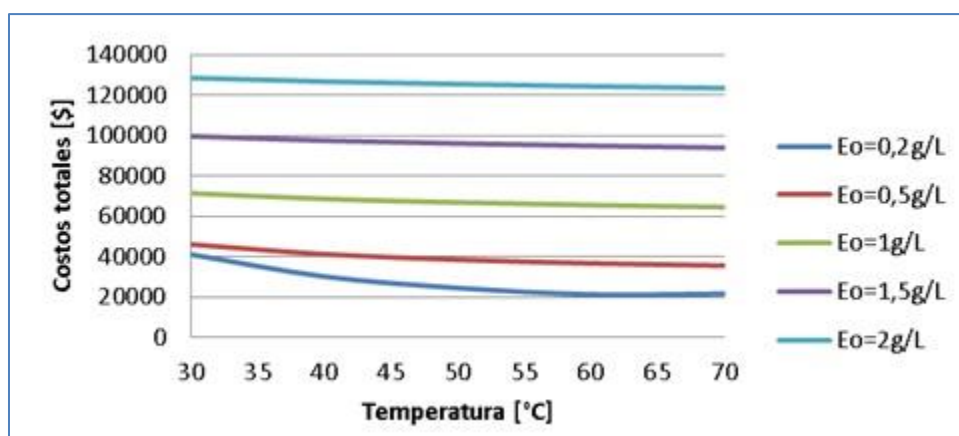


Figura 4.22: Costos totales versus temperatura $DH=15\%$, $S_o=83\text{mM}$, $V_r=1,5\text{m}^3$

Como es de esperar un aumento en el volumen de reactor desplaza la función de costos totales de forma paralela hacia mayores costos (Se aprecia en la Figura 4.22). Este desplazamiento se debe a que para mayores volúmenes de reactor se debe contar con mayores cantidades de enzima para contar con la misma concentración de enzima inicial. La curvatura en la menor concentración de enzima se explica por el fenómeno ya mencionado que el tiempo de operación es mayor pues para bajas temperaturas el tiempo de operación es alto y para altas temperaturas la inactivación térmica afecta en la función de costos totales.

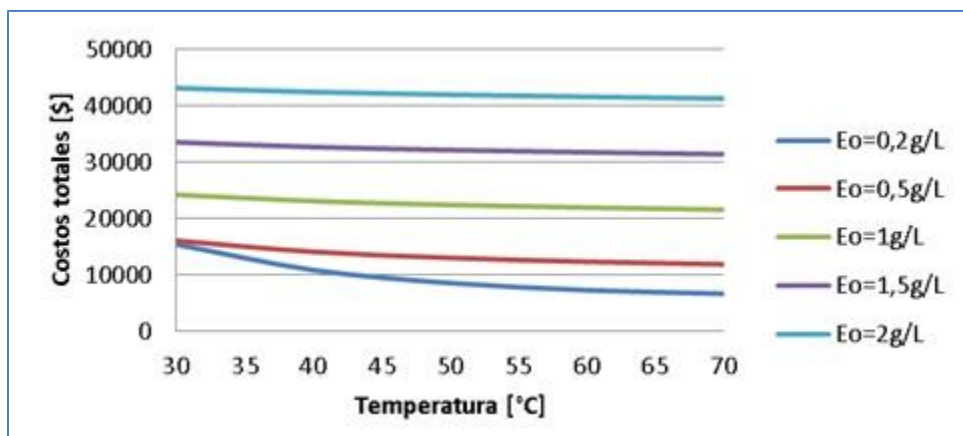


Figura 4.23: Costos totales versus temperatura DH=5%, So=166mM, Vr=0,5m3

Si aumenta la concentración inicial de sustrato al doble (Figura 4.23), los costos se elevan alrededor de un 2% para cada concentración inicial de enzima, lo cual permite concluir que un aumento en el sustrato para bajos volúmenes de reactor y bajos grados de hidrólisis, admite un pequeño aumento en los costos, lo que sustenta el hecho de utilizar altas concentraciones iniciales de sustrato trayendo por consiguiente el beneficio de procesar mayores masas de este subproducto.

El análisis y conclusiones emanadas de estos gráficos tiene interés industrial pues se requiere en muchos casos el disminuir sus subproductos y ser eficiente en el uso de los espacios disponibles destinados para el almacenamiento. Al utilizar mayores concentraciones iniciales de sustrato se contribuye al uso eficiente de subproductos en la industria.

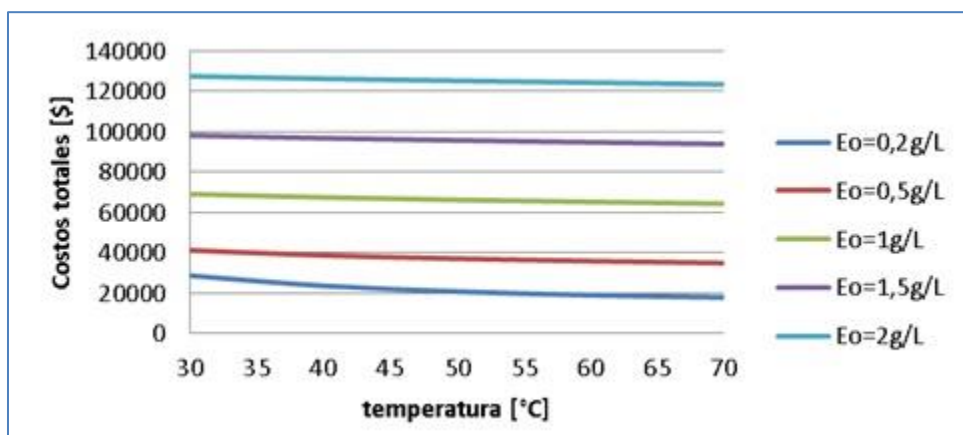


Figura 4.24: Costos totales versus temperatura DH=5%, So=166mM, Vr=1,5m3

Para el mismo grado de hidrólisis y para la misma concentración inicial de sustrato pero aumentando el volumen de reactor se aprecia que el comportamiento de las gráficas son similares, destacando que ocurre un desplazamiento paralelo de las respectivas funciones de costos totales hacia mayores costos (Figura 4.23 4.22). Al comparar estos gráficos con los mismos para una menor concentración inicial de sustrato (Figura 4.20 4.19), se puede observar que permanecen prácticamente invariantes, esto quiere decir que para bajos grados de hidrólisis no tiene mucha incidencia en cuanto a costos totales la concentración inicial de sustrato, y esto se debe a que las variables control asociadas no varían de forma dramática (se debe considerar que esto ocurre solo para bajos grados de hidrólisis, pues si aumenta el grado de hidrólisis resulta importante el costo asociado a la enzima y por ende afectará el costo total como se puede ver más adelante).

A continuación se analiza los gráficos correspondientes al grado de hidrólisis de $DH=15\%$, para una concentración de sustrato inicial $S_o=166[mM]$.

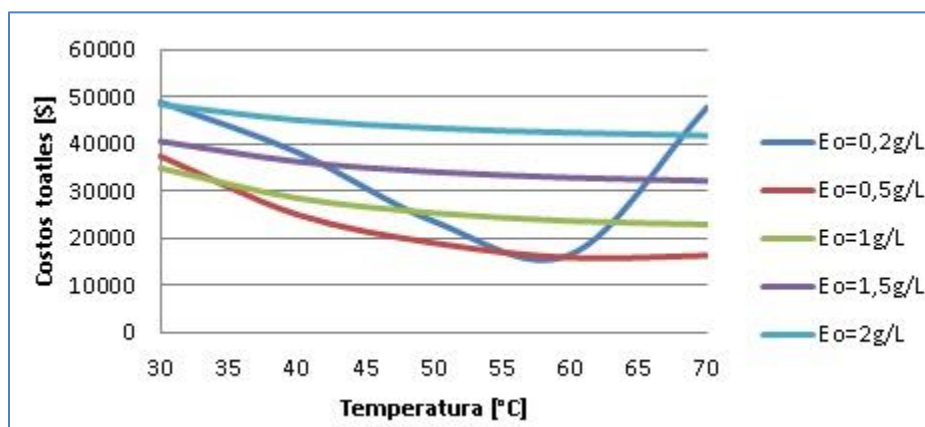


Figura 4.25: Costos totales versus temperatura $DH=15\%$, $S_o=166mM$, $V_r=0,5m^3$

Se ve en el gráfico de la Figura 4.27 que al aumentar el grado de hidrólisis al triple han aumentado los costos en un porcentaje menor al 20% para las tres mayores concentraciones inicial de enzima. Además las funciones de costos de las menores concentraciones iniciales de enzima presentan una curvatura lo cual no ocurre en el grado de hidrólisis $DH=5\%$, esto se explica pues a bajas temperaturas la velocidad de reacción es menor, por lo cual los tiempos de reacción son mayores y por ende aquellos costos que dependen del tiempo de operación aumentan, por consiguiente los costos totales también lo hacen. Para temperaturas altas la inactivación térmica afecta la actividad de la enzima por lo cual también aumentan los tiempos de operación al existir una concentración de enzima activa cada vez menor. El mínimo en la concentración inicial de enzima más baja se encuentra en torno a los $58[^\circ C]$ y para $E_o=1[g/l]$ a los $63[^\circ C]$, se aprecia que el mínimo en la función de costos se desplaza hacia mayores temperaturas con el aumento de la concentración inicial de enzima.

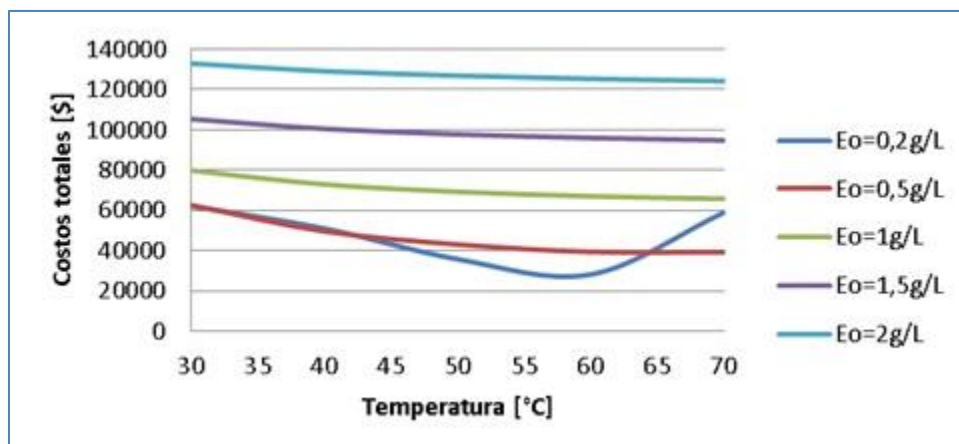


Figura 4.26: Gráfico Costos totales versus temperatura DH=15%, $S_o=166\text{mM}$, $V_r=1,5\text{m}^3$

Al aumentar el volumen de reactor (Figura 4.26) las funciones de costos totales aumentan de forma proporcional al volumen de reactor para las tres mayores concentraciones iniciales de enzima, no así para la menor concentración inicial de enzima donde además el aumento en los costos totales se debe también a un efecto de aumento del tiempo de reacción por la cinética de reacción para las temperaturas de operación anteriores al mínimo en la función de costos totales.

Es interesante además que para volúmenes de reactor mayores a $V_r=0,5\text{m}^3$ existan mínimos en la función costos totales para bajas concentraciones iniciales de enzima ($E_o=0,2\text{g/L}$). Luego del mínimo en la función de costos totales esto es cuando la temperatura de operación está en los 59°C , la inactivación térmica es tan intensa que afecta a gran parte de la enzima disponible aumentando de forma dramática el tiempo de operación, por ende los costos asociados y los costos totales.

Hay que considerar que un aumento en el volumen afecta principalmente los costos por enzima, además para altos grados de hidrólisis y grandes volúmenes de reactor los costos totales aumentan en gran medida.

Se verificado que existen casos en donde los costos son mínimos a temperaturas cercanas a las de mínimos en la función de productividad, si bien depende de la concentración de enzima que se opere, por lo cual es imperante el realizar un análisis de las utilidades en funciones de las variables operacionales.

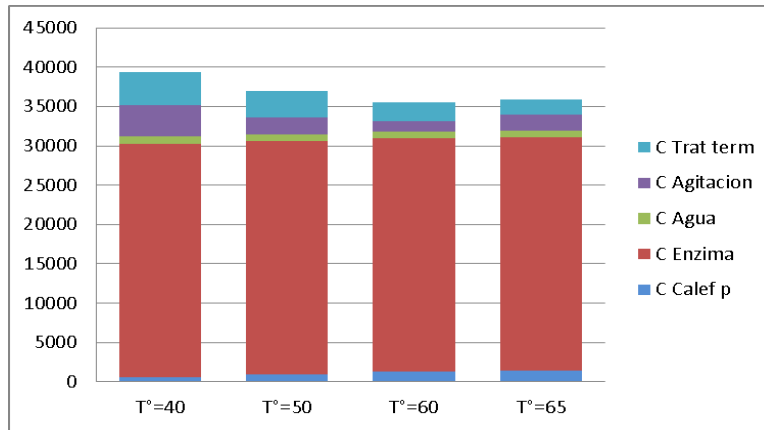


Figura 4.27: Distribución de los costos [\$/m³] según T°[°C] operación para V=0,5m³, Eo=0,75g/l, DH=15%

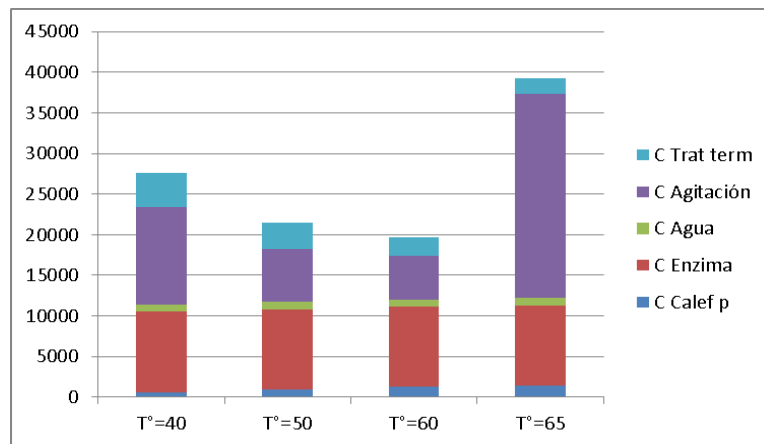


Figura 4.28: Distribución de los costos [\$/m³] según T°[°C] operación para V=0,5m³, Eo=0,25g/l, DH=15%

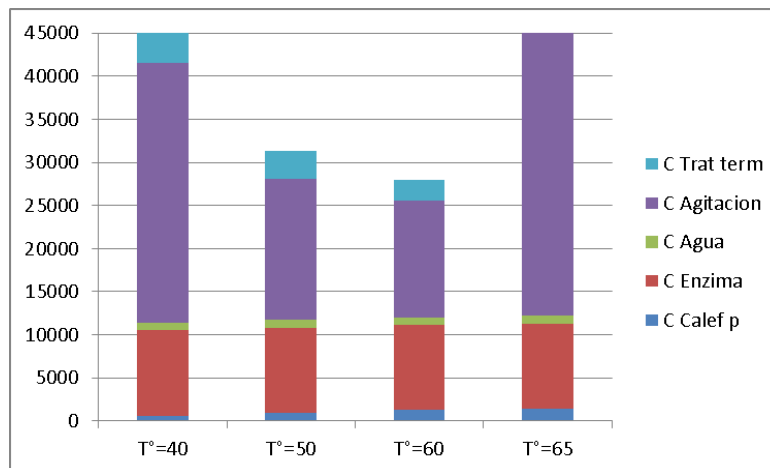


Figura 4.29: Distribución de los costos [\$/m³] según T°[°C] operación para V=2m³, Eo=0,25g/l, DH=15%

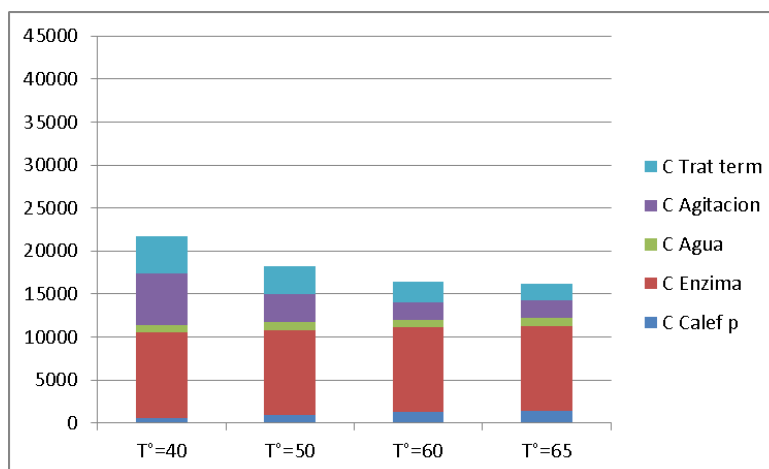


Figura 4.30: Distribución de los costos [\$/m³] según T° [°C] operación para V=2m³, E₀=0,25g/l, DH=5%

Los gráficos en las figuras 4.27, 4.28, 4.29 y 4.30 muestran la distribución de los costos que conforman los costos totales. En la figura 4.27 se muestra que para las condiciones mencionadas el costo más influyente en los costos totales es el costo de enzima y el menos importante es el costo de agua. Observando la figura 4.28 si en la operación se trabaja con un 1/3 E₀ respecto de la operación mostrada en la figura 4.27, la velocidad de reacción se ve afectada de forma que el costo por agitación es el mayor, debido a los altos tiempos de reacción. La figura 4.28 y 4.29 muestran condiciones de operación similares pero en esta última el volumen de reactor utilizado en la operación es cuatro veces mayor, esto aumenta en general los costos totales para cada temperatura, siendo más importante aún el costo por agitación. Si se opera para un menor DH los costos totales disminuyen prácticamente a la mitad para cada temperatura de operación. Siempre se cumple que los menores costos totales se obtienen a 60°C.

4.4. Comportamiento general de los costos

En resumen el comportamiento general de los diversos costos incluidos los costos totales se expone en la siguiente tabla.

Tabla 4.3: Comportamiento general de los costos

Variable	Condición		Tipos de costos				
			Calef Previa	Enzima	Agua	Agitación	Trat. Térmico
So	Sube	CONSECUENCIA →	Sube -	No afecta	Baja	Sube	Sube -
	Baja		Baja -	No afecta	Sube	Baja	Baja -
Eo	Sube		No afecta	Sube	No afecta	Baja	No afecta
	Baja		No afecta	Baja	No afecta	Sube	No afecta
DH	Sube		No afecta	No afecta	No afecta	Sube	No afecta
	Baja		No afecta	No afecta	No afecta	Baja	No afecta
T°op	Sube		Sube	No afecta	No afecta	Baja	Baja
	Baja		Baja	No afecta	No afecta	Sube	Sube
Vr	Sube		Sube	Sube	Sube	Sube	Sube
	Baja		Baja	Baja	Baja	Baja	Baja

*Existe un mínimo o máximo en la función de costos respectiva

- La influencia en el costo es baja

Luego de analizar el comportamiento de los costos totales en función de las variables operacionales, se puede conocer la dinámica general de los costos (Tabla 4.3) frente a cambios en cada variable por separado. Si bien para conocer la magnitud de este cambio se debe recurrir al modelo de reacción enzimática y realizar el cambio en la variable operacional y determinar las variaciones en cada costo. La tabla antes mencionada es una herramienta que permite el conocimiento general del costo del proceso de operación del reactor enzimático en forma rápida pero cualitativa.

La temperatura de operación presenta mínimos por el hecho que un aumento de la temperatura aumenta la velocidad de reacción pero también aumenta la inactivación térmica

En la tabla se muestra además el volumen de reactor donde se observa cierta proporcionalidad si bien observando la ecuación 3.20, este tipo de proporcionalidad no es directa.

4.5. Ingresos en función de las variables operacionales

Los ingresos corresponden a la valorización de la mezcla una vez ya terminada la reacción de hidrólisis enzimática, estos dependen del grado de hidrólisis y del volumen de reactor

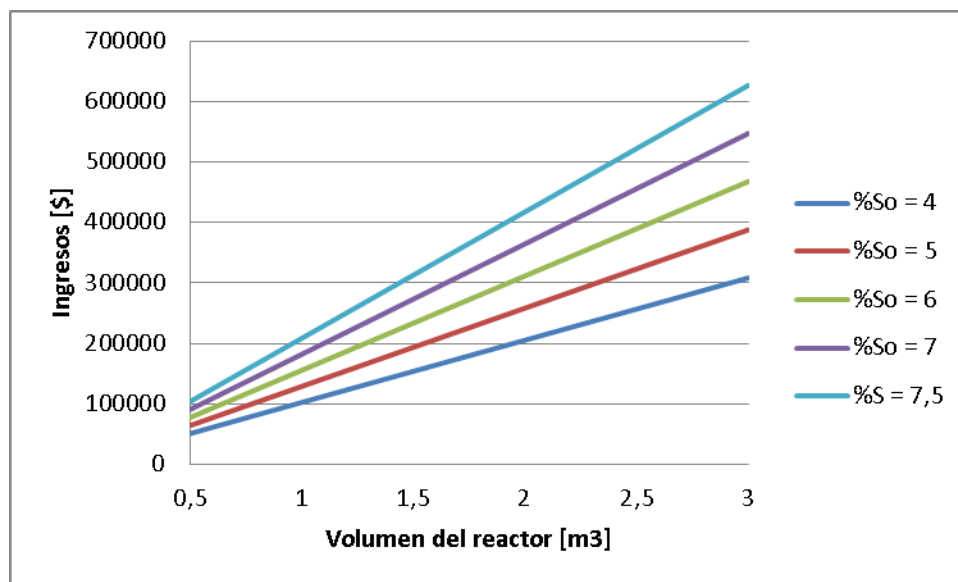


Figura 4.31: Gráfico ingresos versus volumen de reactor (Precio prod. \$2500)

El análisis de los costos muestra que es favorable el utilizar bajos volúmenes de reactor y bajos grados de hidrólisis, por otra parte el análisis de los ingresos muestra lo contrario, resulta favorable el usar altos volúmenes de reactor y altos grados de hidrólisis.

Debido a esto, a continuación se realiza un análisis de las utilidades.

4.6. Análisis de las utilidades

En este apartado se realiza un análisis de las utilidades en función de las variables operacionales, este análisis consta de la observación de gráficos de la función de utilidades en respuesta a cambios en las diversas variables operacionales.

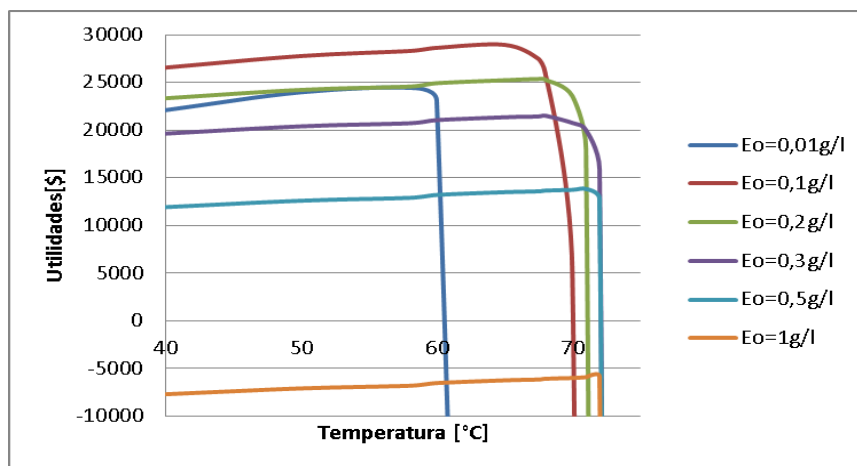


Figura 4.32: Gráfico utilidades en función de variables operacionales (Precio prod. \$2500, $V_r=1\text{m}^3$, $DH=5\%$)

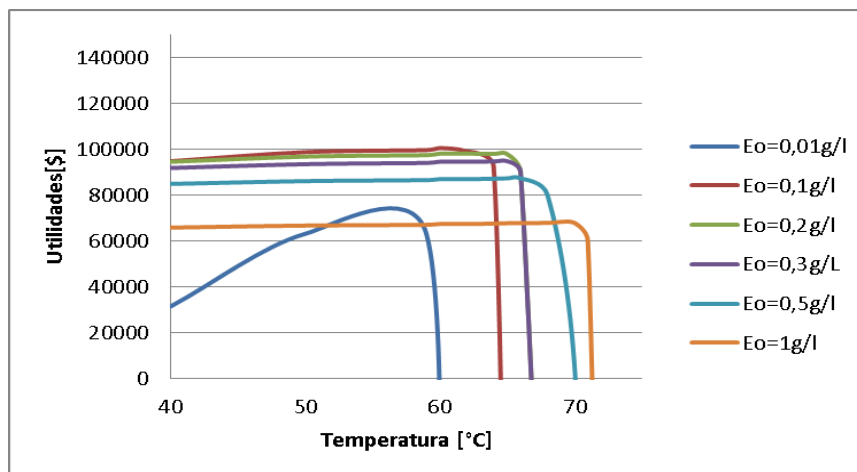


Figura 4.33: Gráfico utilidades en función de variables operacionales (Precio prod. \$2500, $V_r=1\text{m}^3$, $DH=15\%$)

En las figuras 4.32 y 4.33 se exhiben gráficos de la función de utilidades para distintas concentraciones de enzima, fijando el volumen de reactor y el grado de hidrólisis, se desprende de estos gráficos que al aumentar el grado de hidrólisis aumentan las utilidades lo que permite pensar que existe un máximo en la función según el grado de hidrólisis.

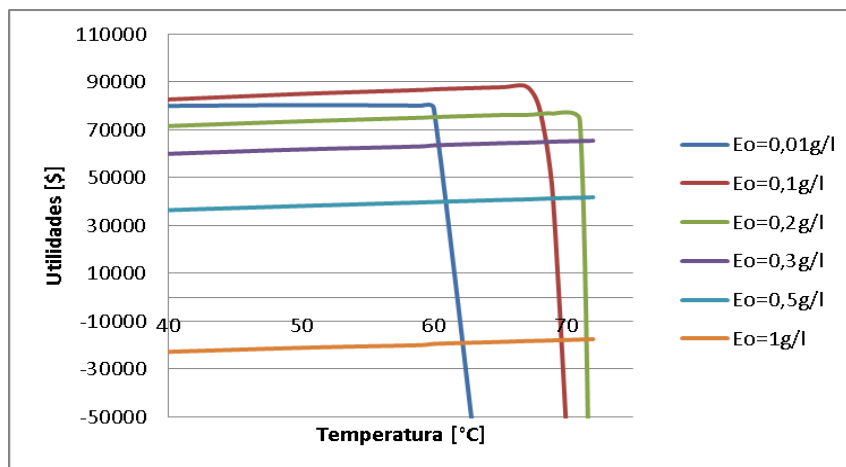


Figura 4.35: Gráfico utilidades en función de variables operacionales (Precio prod. \$2500, Vr=3m3, DH=5%)

Al aumentar el volumen del reactor, las utilidades también presentan un aumento debido a una mayor cantidad de producto a generar en cada lote.

Los gráficos de utilidad muestran que la concentración inicial de enzima de $E_o=0,1\text{ [g/l]}$ ostenta las mayores utilidades. También que para cada concentración inicial enzima existe un máximo en la función de utilidades donde al aumentar la concentración inicial enzima la temperatura correspondiente al máximo, también es mayor dentro de los rangos analizados.

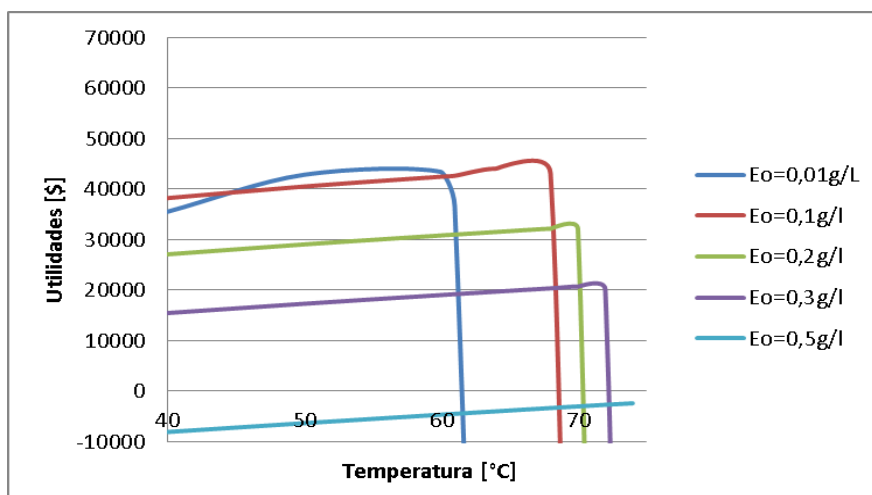


Figura 4.36: Gráfico utilidades en función de variables operacionales (Precio prod. \$1500, Vr=3m3, DH=5%)

Al disminuir el precio del producto naturalmente se percibe menores utilidades pero la gráfica es bastante similar a la figura 4.35 comparables pues tienen mismo volumen de reactor y grado de hidrólisis.

Luego de observar las utilidades en función de las distintas variables operacionales queda de manifiesto la existencia de máximos en la función, donde este punto operativo depende principalmente de la temperatura de operación y de la concentración inicial de enzima. Al realizar un barrido de las variables operacionales por los rangos de operación, obteniendo como respuesta las utilidades es posible verificar el punto máximo en la función de utilidades.

4.7. Maximización de las utilidades

Para maximizar las utilidades primero se realiza un barrido de la temperatura y la concentración de enzima de modo de obtener como respuesta las utilidades y así evidenciar máximos en la función de utilidades, para esto se crean gráficos en tres dimensiones, para los distintos grados de hidrólisis.

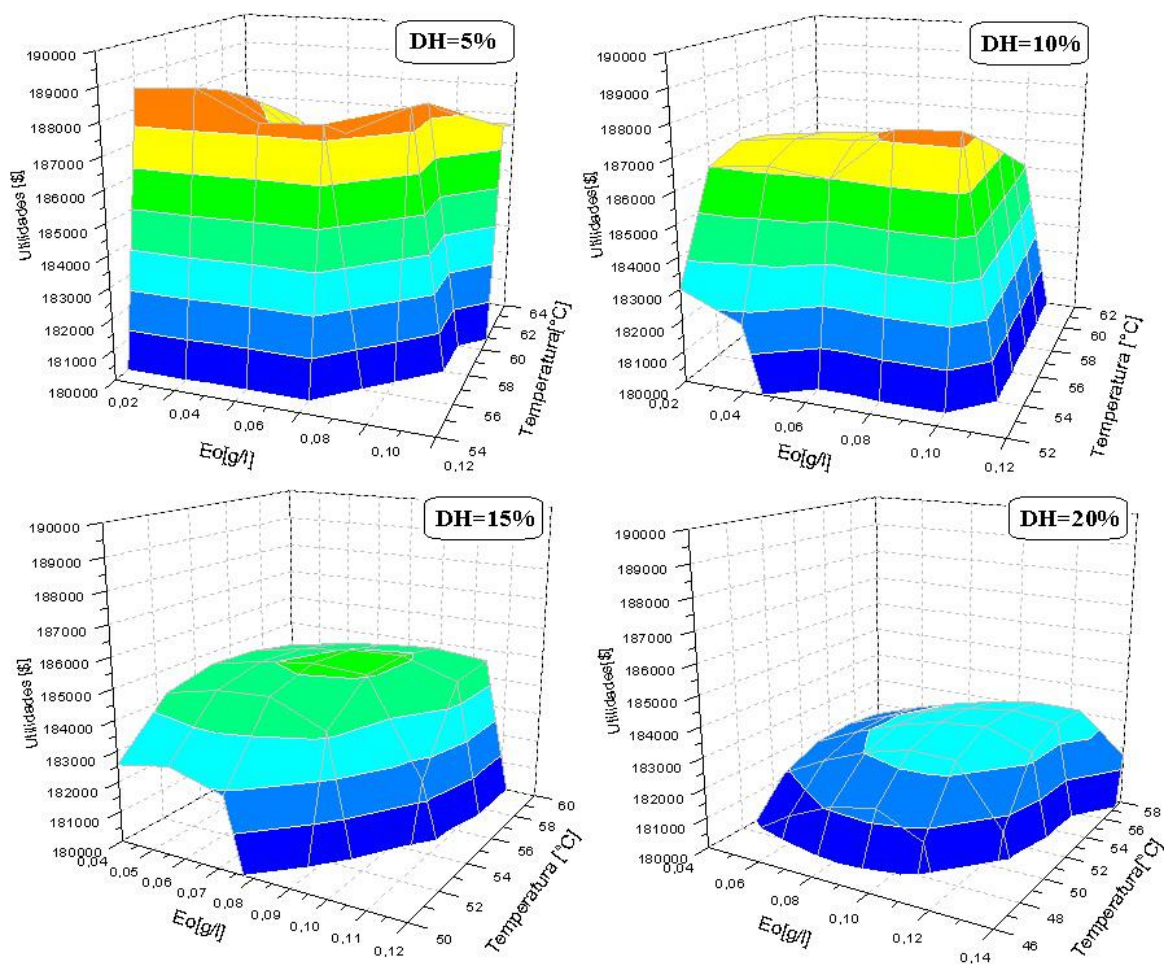


Figura 4.37: Gráfico de utilidades según grado de hidrólisis (Precio prod. \$2500)

Los gráficos a), b), c) y d) corresponden a los grados de hidrólisis 5%, 10%, 15% y 20% respectivamente, para un volumen de reactor de $V_r=1[m^3]$ y un precio de producto $P_p=\$2500$.

Como es posible apreciar, cada gráfico cuenta con un máximo global en la función de utilidades. Para todos los grados de hidrólisis, el máximo correspondiente a cada uno, está por sobre los \$180.000 por lote.

Aun así es posible visualizar que no existe gran diferencia en las máximas utilidades para cada grado de hidrólisis, considerando que los tiempos de operación para cada uno de los análisis son bastante altos, esto es por sobre las 28 horas de operación.

La tabla que se muestra a continuación corresponde a los resultados de la maximización de las utilidades para cada grado de hidrólisis en función de las variables operacionales.

Tabla 4.4: Resultados de la maximización de Utilidades según Grado de hidrólisis (Precio Prod. PP \$2500 Vr=1m3)

DH	Máximas Utilidades[\$]	Tiempo operación [min]	Temperatura operación [°C]	Concentración inicial enzima Eo [g/l]	Precio producto Utilidades Cero[\$/m³]	Precio Enzima Utilidades cero[\$/m³]
5%	188767	1717	54	0,04	87	4758700
10%	186341	1742	56	0,10	118	1903000
15%	185174	4720	55	0,08	133	2354000
20%	133391	6203	54	0,10	156	1873500

En la tablas 4.4, se muestra la maximización de las utilidades donde el máximo en la función de utilidades es similar para los grados de hidrólisis 5%, 10% y 15%, también es similar la temperatura de operación correspondiente al máximo en la función de utilidades. Los tiempos de operación tardar varias horas en todos los casos, lo que hace que la operación no sea viable para un gran número de industrias. Cualquier intento por disminuirlos (variando la temperatura de operación o la concentración inicial de enzima) disminuirá también las utilidades.

Al aumentar el volumen de reactor aumentan las utilidades por lote y cambian los parámetros operacionales que maximizan las utilidades de forma leve y al variar el precio de producto, cambia también las utilidades por lote.

La concentración inicial de enzima es el costo más importante, de ahí que para la maximización de utilidades se consideren concentraciones relativamente bajas, de forma de minimizar los costos.

Además se ha sensibilizado el precio de producto que bajo las condiciones descritas admite utilidades cero, esto muestra que por sobre este valor, el proceso se hace cada vez más rentable, aunque deben existir análisis más acabados a la hora de fijar el precio de producto, refiriéndose al análisis mercado que justifique el precio según la estrategia comercial a seguir.

Se debe tomar en cuenta que estas utilidades corresponden a la operación del reactor enzimático solo en el proceso de reacción enzimática de proteínas de músculo de pescado.

Resulta importante el realizar un análisis de las condiciones que maximizan las utilidades tomando en cuenta la cantidad de lotes posibles de efectuar, donde se considera que una jornada dura ocho horas, y además se supone que no existen limitaciones de materia prima, esto es que existe sustrato suficiente para la jornada.

En las Tablas 4.5, 4.6, 4.7 la temperatura de operación T_{op} es la temperatura que maximiza las utilidades diarias, por lo cual es considerada como temperatura óptima para el grado de hidrólisis DH correspondiente, lo mismo para la concentración inicial de enzima E_o .

El tiempo total está referido al tiempo de operación de cada lote (El tiempo total corresponde a la suma de los tiempos de calentamiento previo, tiempo de reacción, tiempo de tratamiento térmico, tiempo de carga y tiempo de descarga) para de esta forma calcular la cantidad de lotes posibles de realizar en un día, considerado como una jornada de 8 horas. Así las utilidades diarias son calculadas como el producto de las utilidades por lote por la cantidad de lotes diarios.

Como se muestra en la Tabla 4.5 para el caso de $V_r=1[m^3]$ y precio de producto \$2.500, el producto económicamente más favorable es el de grado de hidrólisis DH=20%, presenta bajos costos y altos ingresos además de un tiempo total de operación de poco más de 96 minutos, lo que permite cinco lotes diario y por lo tanto utilidades diarias de \$542.076.

El producto que presenta menores utilidades es el de grado de hidrólisis DH=5% que cuenta con una concentración de producto baja lo que implica también ingresos bajos.

Tabla 4.5: Maximización de Utilidades –jornada según Grado de hidrólisis (Precio Prod. \$2500 $V_r=1m^3$)

DH	Top [°C]	Eo [g/l]	top [min]	So [mM]	Tt. min	Lotes jornada	Prod mM/mi n	Ingresos [\$]	CT [\$]	Util [\$]	Util jornada Por m3
5%	66	0,77	50	166	76	6	0,66	195560	34436	161125	966747
10%	68	1,67	67	166	93	5	0,95	195560	70032	125528	627640
15%	65	1,65	133	166	159	3	0,71	195560	69818	125742	377226
20%	61	0,92	452	166	478	1	0,28	195560	43178	152382	152382

Tabla 4.6: Maximización de Utilidades- jornada según Grado de hidrólisis (Precio Prod. \$2500 $V_r=3m^3$)

DH	Top [°C]	Eo [g/l]	top [min]	So mM	Tt. min	Lotes jornada	Prod mM/mi n	Ingresos [\$]	CT [\$]	Util [\$]	Util jornada Por m3
5%	67	1,4	25	166	53	9	1,26	586681	177280	409401	1228203
10%	65	2,5	40	166	68	7	1,57	586681	307281	279400	651933
15%	62	2,4	88	166	116	4	1,07	586681	296873	289808	386411
20%	60	1,84	211	166	239	2	0,6	586681	231246	355435	236957

Tabla 4.7: Maximización de Utilidades –jornada según Grado de hidrólisis (Precio Prod. \$1500 Vr=3m3)

DH	Top [°C]	Eo [g/l]	top [min]	So mM	Tt. min	Lotes jornada	Prod mM/mi n	Ingresos [\$]	CT [\$]	Util [\$]	Util jornada Por m3
5%	68	1,44	24	166	52	9	1,31	352009	181574	170434	511303
10%	63	1,31	86	166	114	4	0,73	352009	167557	184451	245935
15%	63	1,25	182	166	210	2	0,52	352009	160422	191587	127724
20%	61	1,91	197	166	225	2	0,64	352009	238618	113391	75594

A continuación se muestra gráficos para la maximización de utilidades para los distintos productos según su grado de hidrólisis.

En los gráficos de la Figura 4.38 se muestran los ingresos, costos y utilidades por lote para cada producto según DH, los costos operativos en todos los casos no superan los \$70.000 pesos por lote, y se obtienen utilidades en todos los casos de la operación de reacción de hidrólisis enzimática.

Gráficos maximización utilidades

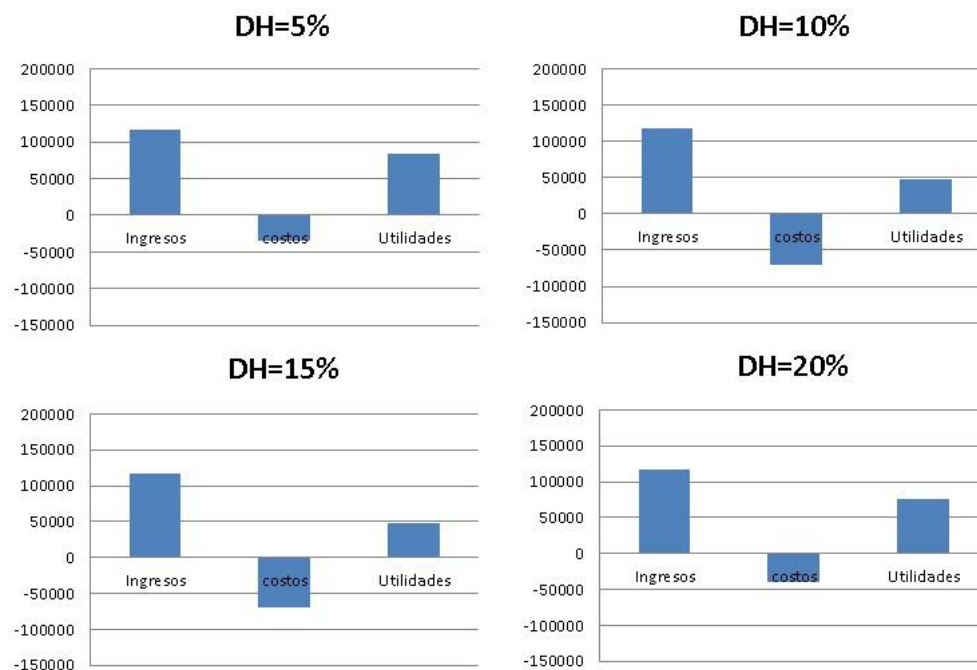


Figura 4.38: Ingresos, costos y utilidades según grado de hidrolisis para condiciones de la tabla 4.5

El desglose de los distintos costos relacionados con la maximización de utilidades mostrados de forma porcentual se exponen a continuación según grado de hidrólisis, para el precio prod. \$2500 y $V_r=1m^3$.

La distribución de los costos en la Figura 4.39 para los distintos productos muestra que el costo más importante es el costo de enzima donde siempre es igual o superior al 84% de los costos totales, se cumple además que para la mayoría de los casos el costo de agua es el menor

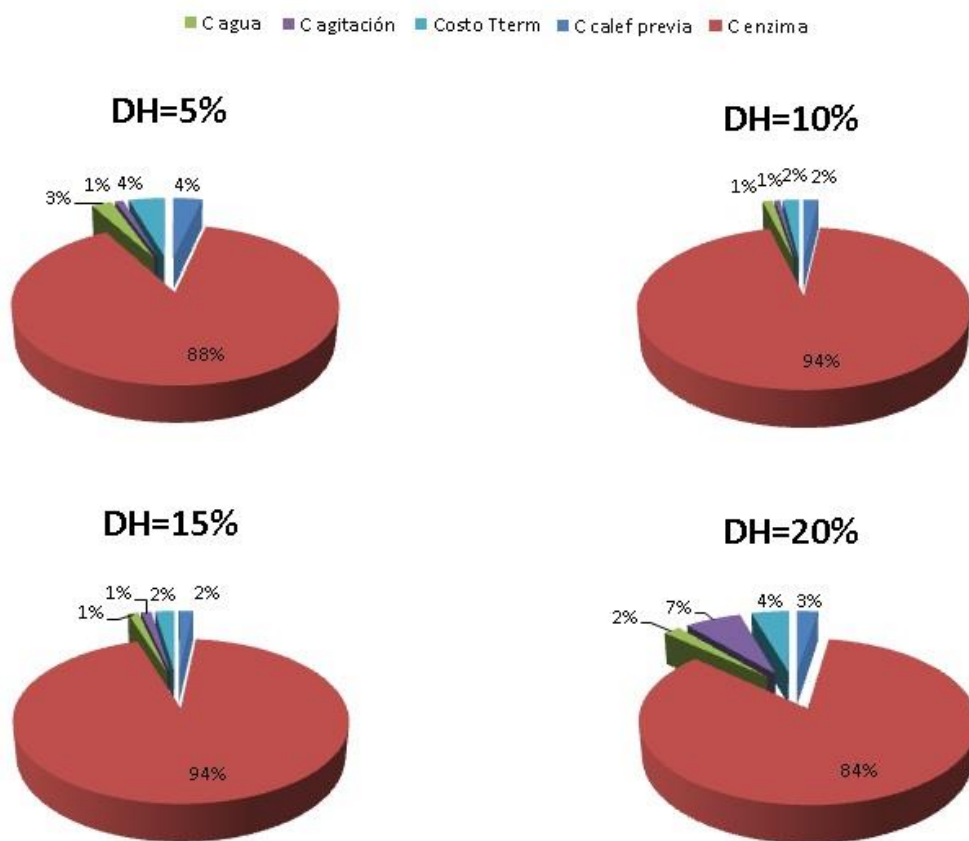


Figura 4.39: Distribución porcentual de los costos para condiciones óptimas según tabla 4.5

4.8. Caso particular Caleta Portales

Caleta Portales es una caleta situada a un lado de Playa Portales en la bahía de Valparaíso, en el sector medio de Avenida España. En esta se realizan actividades de pesca artesanal y venta de distintas especies de pescados, moluscos y crustáceos.

Como parte de estas actividades se generan una serie de subproductos, donde los de mayor volumen son de pescados tales como merluza y reineta, a continuación se muestra una tabla con las cantidades medias diarias de generación.

Tabla 4.6: Subproductos de reineta generados en Caleta Portales

Fuente de subproducto	Porcentaje subproductos de reineta (%)	Porcentaje de subproductos caracterizados (Cabeza, Piel-cola, Espinazo) (%)	Masa subproducto (Kg/día)
Cabeza	37,78	54,3	377,8
Piel y cola	15,19	21,8	151,9
Espinazo	16,57	23,9	165,7
Viceras	11,45	0	114,5
Despunte aletas y bordes	19,01	0	190,1

Total considerado: 695,4 Kg

Tabla 4.7: Subproductos de merluza generados en Caleta Portales

Fuente de subproducto	Porcentaje subproducto de merluza (%)	Porcentaje de subproducto caracterizados (Cabeza, Espinazo) (%)	Masa subproducto (Kg/día)
Cabeza	45,18	86,4	184,8
Espinazo	7,73	13,6	31,6
Huevas	16,42	0	67,2
Viceras en general (excepto huevas)	19,19	0	78,5
Despunte de aletas y bordes con espinas	11,48	0	46,9

Total considerado: 216,4 Kg

Aproximadamente se generan diariamente entre merluza y reineta 912[kg] de subproducto, los cuales son susceptibles de aprovechar en procesos de hidrólisis enzimática. Si se considera para efectos de estudio esta tasa de generación, teniendo claro que no corresponde al subproducto Salmón, pero se utilizan estos datos a modo de ejemplo, es posible realizar un análisis a este caso particular.

Si se considera que la densidad de estos subproductos es similar, esto es aproximadamente $\rho=1043 \text{ [kg/m}^3\text{]}$, con lo cual se obtiene un volumen de generación diario de $V= 0,874 \text{ [m}^3\text{]}$.

Para efectos de análisis del procesamiento mediante proteólisis enzimática de esta cantidad de subproductos se considera tres volúmenes de reactor efectivo, $V_r=0,2[m^3]$, $V_r=0,45[m^3]$ y $V_r=0,874[m^3]$, con estos es posible realizar cinco lotes, dos lotes y un lote diarios respetivamente.

Además se consideran parámetros similares para efectos de este análisis como el porcentaje de proteína en el musculo de merluza y reineta igual al porcentaje del salmón. También la misma cantidad de proteína en la mezcla.

Es posible apreciar desde la tabla 4.8 que en todos los casos existen utilidades y este margen es al menos tres veces superior a los costos, lo que da un margen de seguridad económica al proceso de hidrólisis enzimática.

Tabla 4.8: Resumen Utilidades en caso particular Caleta Portales

Vr [m ³]	DH %	Top °C	Eo g/l	Tiempo lote [min]	C calef previa %	C enzima %	C agua %	C agit %	C tterm %	C tot Lote \$	Util diarias \$
0,2	5	64	0,72	80	3,7	88,0	2,7	0,4	5,2	6451	163305
	10	57	2,01	95	1,2	94,9	1,0	0,2	2,7	16789	111613
	15	65	1,93	134	1,5	95,1	1,1	0,3	2,0	16049	69190
0,45	5	44	0,74	182	1,9	84,4	2,5	1,7	9,5	15603	144799
	10	62	0,71	199	3,5	86,2	2,7	2,0	5,6	14628	146748
	15	62	1,12	233	2,3	90,5	1,8	1,6	3,8	22041	131923
0,874	5	54	0,29	254	5,3	67,2	5,1	7,7	14,7	14996	155924
	10	52	0,59	345	2,9	79,0	2,9	6,3	8,8	25904	145016
	15	59	0,68	410	3,2	81,1	2,6	6,8	6,3	28966	141954

Se debe tomar en cuenta que los subproductos y por ende la cantidad de proteína a hidrolizar, pueden llegar a ser un limitante del proceso de proteólisis enzimática, pues los subproductos son proporcionales a la pesca artesanal realizada en las jornadas de pesca anteriores a la producción del hidrolizado, lo cual puede ser variable especialmente en periodos de marejadas, cierres de puerto, vedas, entre otros. Es por esto que se deben tomar las medidas y políticas que garanticen la continuidad del proceso

En este análisis se ha tomado en cuenta solamente tres valores de volúmenes de reactor, es importante entonces el poder determinar el volumen de reactor que permita a Caleta Portales aprovechar los recursos existentes y evitar que existan tiempos muertos durante la jornada

Un punto importante de discutir es el costo de la materia prima, como en el caso particular de Caleta Portales existen empresas donde el costo de los subproductos es cero, lo cual disminuye los costos de producción y aumenta la rentabilidad del proceso, haciendo más interesante económicamente la inversión en este tipo de proyectos.

CAPÍTULO

CONCLUSIONES

V

5. Conclusión

Se han determinado las condiciones teóricas de operación del reactor enzimático de proteínas de pescado que maximizan las utilidades para cada producto. El más conveniente económicamente es el de grado de hidrólisis $DH=5\%$ con volúmenes de reactor $V=3m^3$, Top de $67^{\circ}C$ y $E_o=1,4[g/l]$, con utilidades por jornada/ m^3 de \$1.228.203 el cual ha reportado mayores utilidades y bajos costos por lote además de un número considerable de lotes por jornada de nueve. Se debe pensar que si bien este producto es el más conveniente económicamente, es posible que sus propiedades funcionales y nutricionales hagan de este producto inadecuado para una serie de procesos productivos.

El proceso de hidrólisis enzimática es rentable en las condiciones teóricas donde se maximizan las utilidades si bien existen condiciones que no son viables por los altos tiempos de reacción. Por otra parte, las condiciones operacionales que maximizan las utilidades por jornada son rentables e incluso se realizan varios lotes con beneficios económicos en cada uno de ellos.

De las variables de optimización, el costo de la enzima es el costo más importante del proceso, donde en todos los casos posee el mayor porcentaje respecto de los costos totales, por lo cual, es imperativo el tomar especial importancia al ahorro, uso eficiente y bien ejecutado de la enzima, especialmente en lugares como el analizado en el caso particular Caleta Portales donde se pudiera requerir de una constante capacitación sobre el cuidado de los recursos relativos al proceso.

De las variables operacionales, se ha determinado que la temperatura de operación es la que tiene mayor influencia, pues como ya se tiene conocimiento, influye en la velocidad de reacción y en la inactivación térmica de la enzima donde para bajas temperaturas la velocidad de reacción es baja y para altas temperaturas la velocidad de reacción es alta.

Además se debe considerar que en este estudio el precio del producto es tomado como un precio promedio, pues se comprueba que no afecta las condiciones operacionales que optimizan el sistema, aun así debe ser analizado en estudios posteriores, debido a que cada producto (refiriéndose a producto como el fluido obtenido posterior a la reacción de hidrólisis con un cierto grado de hidrólisis) requiere de distintos tiempos de operación en condiciones similares para distintos grados de hidrólisis, esto es a mayor grado de hidrólisis, mayor tiempo de operación por lo cual también mayores costos de operación entonces así mayor valor agregado al producto, lo que corresponde con un precio de producto mayor. Esto tiene directa influencia en las utilidades, y en el producto más atractivo económicamente de generar, donde esto afecta directamente la rentabilidad y los beneficios del proceso, pero no las condiciones operacionales que optimizan el proceso.

Proyecciones

Se propone para estudios posteriores realizar el estudio económico de la operación de un reactor enzimático en continuo donde se posibilite la recuperación de enzima (inmovilizada o no) como en el caso de los reactores de membrana (con dispositivos de ultrafiltración).

Una proyección importante es aprovechar el calor del producto para calentar la mezcla del lote siguiente así disminuir los costos por calentamiento previo, esto hace más eficiente el sistema (térmicamente) y económicamente disminuyen los costos por calentamiento previo, y por ende los costos totales, lo que repercute en los beneficios esperados en la operación del reactor enzimático

Otra proyección es el utilizar la información recabada en este estudio para crear estrategias de producción eficiente, donde por ejemplo, reutilizar parte de la mezcla que al término del proceso aun presente actividad enzimática en lotes subsiguientes; también tener un sistema que permita programar la hidrólisis enzimática de manera que se controle la temperatura y los tiempos de reacción, para lograr el grado de hidrólisis deseado al momento que la concentración de enzima residual sea lo suficientemente baja, tal que no se requiera tratamiento térmico posterior a la proteólisis.

CAPÍTULO
REFERENCIAS

VI

6. Referencias

- Acevedo, F., Gentina, J., & Illanes, A. (2002). Fundamentos de Ingeniería Bioquímica. Valparaíso: Ediciones Universitarias.
- Adler-Nissen, & Agric, J. (1976). Determination of the Degree of Hydrolysis of Food Protein Hydrolysates by Trinitrobenzenesulfonic Acid. American Chemical Society, 1256-1262.
- Atalah, E., & Araya, H. (2007). Utilización de los hidrolizados proteicos de subproductos de pescado en la alimentación humana. Informe Fundación Chile, 1-21.
- Benitez, R., Ibarz, A., & Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteína: Procesos y aplicaciones. Lleida, España: Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana.
- Bertullo, V. (1975). Tecnología de los productos y subproductos de pescados, moluscos y crustáceos. Buenos Aires: Hemisferio Sur.
- Blumos. (s.f.). comunicación personal.
- Damodaran, S. (1996). Amino acids, peptides, and proteins. New York: Food Chemistry.
- Dobry, A., & Sturtevant, J. M. (1952). Heat of hydrolysis of amide and peptide bonds. The Journal of Biological Chemistry, 141-147.
- Guimas, L., & Binet, A. (2002). Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 489.
- Gbogouri, G., & Fanni J. & Parmentier M. (2004). Influence of Hydrolysis Degree on the Functional Properties of Salmon Byproducts Hydrolysates. Journal of Food Science, 615.
- Guerra, R., & Suarez, J. (2013). Propiedades biológicas de péptidos derivados del colágeno de animales marinos. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, 34.
- Illanes, A. (2008). Enzyme Biocatalysis: Principles and Applications. Valparaíso: Springer Science + Business Media B.V.
- Kern, D. Q. (1999). Procesos de Transferencia de Calor. Mexico: Compañía editorial continental, s.a. .
- Kristinsson & Rasco, H. B. (2000). Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 43-81.

- Liceaga, A., & Li-Chan, E. (1999). Functional properties of fish protein hydrolysate from Herring (*Clupea harengus*). *J Food Sci*, 1000-1004.
- Montero, B. y. (1988). Fundamentos de la funcionalidad de las proteínas en los alimentos. *Revista de agroquímica y tecnología de los alimentos*, 159-169.
- Novozymes. (2007). Product Data Sheet Alcalase® 2.4 L FG. Fresno: Gusmer Enterprises Inc.
- Odepa. (2013). Productos pesqueros en Chile. Santiago: Odepa.
- Perry, R. H. (1992). Manual del ingeniero químico. México: McGraw-Hill.
- Richardson, T., & Hislop, P. (1985). "Enzymes" Food Chemistry. New York: Marcel Dekker Inc.
- Rivero, Á. (2006). Enciclopedia de los alimentos: Productos del mar y de las aguas continentales. Santiago: Enciclopedia.
- Sathivel, S., Bechtel, P., & Babbitt, J. (2003). Biochemical and functional properties of herring (*Clupea harengus*) by product hydrolysates. *Journal of food science*.
- Shahidi, F., Han, X., & Synowiecki, J. (1995). Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemistry*, 285-293.
- Shan, H., Franco, C., & Zhang, W. (2012). Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). Adelaide, Australia: Elsevier.
- Valencia, P., Pinto, M., & Almonacid, S. (2014). Identification of the key mechanisms involved in the hydrolysis of fish protein by Alcalase. Elsevier, 258-264.
- Wergedahl, H., Liaset, B., & Gudbrandsen, O. (2004). Fish protein hydrolysate reduces plasma total cholesterol. *J Nutr*, 1320-1327.
- Windsor, M., & Barlow, S. (1984). Introducción a los subproductos de pesquería. España: Acribia.
- www.sernapesca.cl. (s.f.). Recuperado el 15 de Octubre de 2014, de http://www.sernapesca.cl/presentaciones/Informe_Fiscalizaci%C3%B3n_Sernapesca_2013_20140402.pdf
- www.sernapesca.cl. (s.f.). Recuperado el 15 de Octubre de 2014