

**Artículo Original**

**OPTIMIZACIÓN DE PARÁMETROS OPERACIONALES, ESCALADO  
Y DETERMINACIÓN DE REQUERIMIENTOS PARA LA  
INVERSIÓN ENZIMÁTICA DE SACAROSA**

**OPTIMIZATION OF OPERATIONAL PARAMETERS, SCALE-UP AND  
DETERMINATION OF REQUIREMENTS FOR ENZYMATIC INVERSION  
OF SUCROSE**

Amanda Acosta Solares <sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-7656-5476>  
Omar Pérez Navarro <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-6963-1327>  
Enrique R. Pérez Cruz <sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-6385-1692>  
Duniesky Martínez García <sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9652-8878>

<sup>1</sup> Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Química y Farmacia. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Carretera a Camajuaní km 5 ½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

<sup>2</sup> Laboratorio de Fermentaciones, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Sancti Spiritus (CIGBSS). Circunvalación Norte, Facultad de Ciencias Médicas, Apartado Postal 83, CP 60200, Sancti Spiritus, Cuba.

Recibido: Octubre 26, 2021; Revisado: Octubre 31, 2021; Aceptado: Noviembre 23, 2021

**RESUMEN**

**Introducción:**

Una propuesta atractiva y novedosa para la aplicación de la inversión enzimática de la sacarosa a escala industrial, lo constituye la  $\beta$ -fructosidasa de *Thermotoga maritima* (BfrA) expresada en *Pichia pastoris* e inmovilizada en alginato de calcio (PpABfrA), dada la elevada termoestabilidad y termoactividad de este biocatalizador.

**Objetivo:**

Determinar las condiciones operacionales para el escalado industrial de la hidrólisis enzimática de la sacarosa en una instalación productora de glucosa, a partir de las variables experimentales óptimas y los requerimientos de facilidades auxiliares.

**Materiales y Métodos:**

Se combinó el diseño de experimentos y la optimización del comportamiento de las variables experimentales influyentes en el porcentaje de hidrólisis alcanzado con el biocatalizador termoestable PpABfrA. Se escalaron las condiciones reactivas



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

\* Autor para la correspondencia: Amanda Acosta, Email: [aasolares@uclv.cu](mailto:aasolares@uclv.cu)



experimentales y se seleccionó la tecnología para la inserción de este método, con los consumos correspondientes.

**Resultados y Discusión:**

El tiempo óptimo de reacción resultó ser 12 h para una concentración de sacarosa de 1,75 mol/l, donde se alcanza un 85,6 % de inversión. A su vez, mantener el cizallamiento del biocatalizador constante en el reactor se seleccionó como criterio de escalado más acertado. Con la concepción tecnológica de esta etapa se estimó una capacidad de hidrólisis de 201,6 t de sacarosa en 11 días donde se realizan 16 ciclos de inversiones con 2,10 t de biocatalizador, en un volumen efectivo de reacción de 24 m<sup>3</sup>.

**Conclusiones:**

Los parámetros operacionales determinados a escala industrial para la inserción de esta tecnología, aseguran el incremento del rendimiento y calidad de la glucosa obtenida.

**Palabras clave:** biocatalizador; escalado; glucosa; hidrólisis enzimática; óptimos, termoestabilidad.

**ABSTRACT**

**Introduction:**

An attractive and novel proposal for the application of enzymatic inversion of sucrose on industrial scale is constituted by  $\beta$ -fructosidase from *Thermotoga maritima* (BfrA) expressed in *Pichia pastoris* and immobilized on calcium alginate (PpABfrA), because the high thermostability and thermoactivity of this biocatalyst.

**Objective:**

To determine the operational conditions for the industrial scale-up of enzymatic hydrolysis of sucrose in a glucose production facility, based on the optimal experimental variables and the requirements for auxiliary facilities.

**Materials and Methods:**

Design of experiments and optimization of the behavior of the experimental variables influencing the percentage of hydrolysis achieved with the thermostable biocatalyst PpABfrA were combined. The experimental reactive conditions were scaled and the technology for this inversion method insertion was selected, with its corresponding consumptions.

**Results and Discussion:**

The optimum reaction time was 12 h for a sucrose concentration of 1.75 M, where 85.6 % inversion is achieved. In turn, keeping the biocatalyst shear constant in the reactor was selected as the most successful scaling criterion. With the technological conception of this stage, a hydrolysis capacity of 201.6 t of sucrose in 11 days was estimated, where 16 inversion cycles are carried out with 2.10 t of biocatalyst, in an effective reaction volume of 24 m<sup>3</sup>.

**Conclusions:**

The operational parameters determined on industrial scale for the insertion of this technology, ensure an increase the yield and quality of obtained glucose.

**Keywords:** biocatalyst; scale-up; glucose; enzymatic hydrolysis; optimums; thermostability.

## **1. INTRODUCCIÓN**

La sacarosa es un disacárido formado por glucosa y fructosa, y a su vez el compuesto orgánico de mayor producción en forma pura, que por hidrólisis se descompone en estos monosacáridos para obtener como producto el azúcar invertido (Díaz y col., 2020).

La glucosa constituye un sustituto viable de la sacarosa, permitiendo su uso junto con una variedad de sustancias sólidas secas, sin que afecte otros parámetros importantes tales como el poder edulcorante, contenido de cenizas y acidez (Bueno, 2018). Esta ventaja le otorga un amplio mercado en la industria química, farmacéutica y alimentaria, constituyendo una fuente de materia prima fundamental para otras producciones.

En una instalación industrial, asociada a la industria de derivados de la caña de azúcar se obtiene glucosa y sirope rico en fructosa. Esta fábrica lleva a cabo el proceso productivo con una tecnología de origen cubano, donde se desarrolla la hidrólisis ácida de la sacarosa. Este método de inversión ha reportado elevados consumos de materia prima y bajos rendimientos en el producto final, unido con la generación de productos coloreados con presencia de cenizas y subproductos no deseados, y la aceleración de los procesos corrosivos (Cortés y col., 2020a). Estos inconvenientes, unidos con dificultades operacionales en las diferentes etapas del proceso, han provocado que los niveles productivos de glucosa anuales sean insuficientes para satisfacer la demanda actual de este producto como materia prima para la producción de sorbitol.

Estudios realizados sobre el empleo de la hidrólisis enzimática de la sacarosa demuestran un rendimiento del proceso superior al logrado por hidrólisis ácida (Gómez et al., 2017), además de otorgar una mayor estabilidad química y microbiológica de la glucosa obtenida.

La utilización de la enzima invertasa sumergida, a pesar de reportar resultados satisfactorios en cuanto a la operación de hidrólisis, presenta como principal desventaja económica que no es posible su recuperación por separación del sistema de reacción. Estudios demuestran elevados consumos de esta enzima con vistas a su utilización en procesos industriales (Cortés y col., 2020b).

A diferencia de las precipitaciones de enzimas solubles, la utilización de las enzimas inmovilizadas permite la reutilización continua del biocatalizador, además de presentar una mayor termoestabilidad, fácil separación de las mezclas de reacción y la posibilidad de emplear una alta actividad enzimática por volumen del reactor (Cortés y col., 2020a). Por lo que la implementación de una tecnología enzimática capaz de operar a elevadas temperaturas con una termoestabilidad que permita la reutilización del biocatalizador constituye una alternativa atractiva desde el punto de vista técnico-económico.

Estudios realizados sobre el empleo de la enzima invertasa inmovilizada para la hidrólisis de la sacarosa, demuestran que la  $\beta$ -fructosidasa de *Thermotoga maritima* (BfrA) expresada en *Pichia pastoris* e inmovilizada en alginato de calcio (PpABfrA), puede operar a valores de temperaturas comprendidos entre 50-70 °C (Martínez et al., 2014a), lo que permite hidrolizar soluciones concentradas de sacarosa. La elevada termoactividad y termoestabilidad reportadas para este biocatalizador lo convierten en una alternativa novedosa y atractiva para su implementación a escala industrial.

La determinación de la influencia de las condiciones experimentales óptimas en el porcentaje de hidrólisis, constituye una base fundamental para el diseño tecnológico, donde la aplicación de la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) constituye

una propuesta eficaz. Esta permite obtener los niveles óptimos en las variables de control que producen los valores de respuestas máximas (o mínimas) en ciertas regiones de interés, o buscar una solución de compromiso que mejore la calidad del producto o servicio (Acosta y col., 2021).

Atendiendo a ello, el objetivo del trabajo es determinar las condiciones operacionales para el escalado industrial de la hidrólisis enzimática de la sacarosa en una instalación productora de glucosa, a partir de las variables experimentales óptimas y los requerimientos de facilidades auxiliares.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Biocatalizador

El estudio se basa en el biocatalizador PpABfrA que consiste en células inactivadas de *Pichia pastoris*, inmovilizadas en perlas de alginato de calcio, que expresan de forma recombinante la  $\beta$ -fructosidasa de *Thermotoga maritima* (BfrA) (Martínez et al., 2014b).

### 2.2. Biorreactores

Como modelo para el estudio, se utilizó el reactor de 5 L y los resultados de hidrólisis determinados en él por Martínez et al., (2017). Para el análisis a escala piloto se concibió un reactor con un volumen de trabajo de 500 L. Las evaluaciones a escala industrial se realizaron para las capacidades instaladas y la disponibilidad de tres biorreactores de 10 m<sup>3</sup> con un volumen de trabajo de 7,96 m<sup>3</sup>, para los cuales se determinaron los consumos asociados mediante balances de materiales y energía. La tabla 1 muestra las características de cada uno de los biorreactores.

**Tabla 1.** Características de diseño de los reactores modelo, piloto e industrial

<i>Características</i>	<i>Modelo</i>	<i>Piloto</i>	<i>Industrial</i>
Diámetro del impelente (m)	0,05	0,23	0,58
Diámetro del biorreactor (m)	0,15	0,94	2,33
Altura del impelente (m)	0,045	0,209	0,52
Volumen total (m <sup>3</sup> )	7·10 <sup>-3</sup>	0,650	10
Volumen de trabajo (m <sup>3</sup> )	5·10 <sup>-3</sup>	0,500	7,96

### 2.3. Modelación y optimización del comportamiento de las variables experimentales en el porcentaje de hidrólisis

La evaluación de las condiciones de operación, se basó en el análisis de los resultados obtenidos en el estudio del comportamiento cinético del biocatalizador PpABfrA en un reactor discontinuo tipo tanque agitado (Martínez et al., 2015).

Para la determinación del modelo estadístico que relaciona la influencia de la concentración inicial de sacarosa ( $X_1$ ) y el tiempo de reacción ( $X_2$ ) con la conversión alcanzada, se utilizó un Diseño Experimental Compuesto Central (DCC), desarrollado con el software *Statgraphics Centurion XV.II* para los dos factores experimentales ( $k = 2$ ). Se consideró un rango de variación de  $X_1$  entre 1,46 mol/l y 2,04 mol/l, lo que permite el estudio del comportamiento de la reacción para un tiempo que varía desde 6

h hasta 12 h (Martínez et al., 2017). Se generaron cinco puntos centrales en el cubo ( $n_o$ ) y  $2k$  puntos axiales para un total de  $N$  puntos en el diseño (Yaguas, 2017). Para  $N = 2^k + 2^k + n_o^{14}$ , se obtuvieron 13 puntos con una distancia rotacional ( $\alpha$ ) igual a 1,41. Se comprobó el ajuste de los coeficientes del modelo cuadrático por análisis de regresión, se determinaron las coordenadas del punto de máximo porcentaje de hidrólisis dentro de la región experimental mediante la MSR y se analizaron los resultados para un valor de  $X_1$  de 1,75 mol/l como restricción.

#### 2.4. Propuesta de escalado de la reacción biocatalizada por PpABfrA

La similitud geométrica se garantizó para una relación diámetro del impelente ( $D_i$ ) dividido diámetro del tanque ( $D$ ) igual a 0,3 y una relación de altura del impelente ( $h$ )/ $D_i$  de 0,9 dentro de los rangos establecidos por Kasatkin, (1985). Al mantener igual relación de alimentación (masa de biocatalizador (g) dividido volumen de reacción (ml)) se aseguró la similitud química para iguales valores de pH y temperatura. Garantizada las similitudes geométrica y química se analizaron la aplicación de cinco criterios de escalado sobre los parámetros operacionales. Para igual velocidad en la punta del impulsor  $(ND_i)_m = (ND_i)_p$ , los valores de los parámetros se calculan como:

$$N_p = \frac{N_m \cdot D_{im}}{D_{ip}} \quad (1)$$

$$Re_p = \frac{N_p \cdot D_{ip}^2 \cdot \rho}{\mu} \quad (2)$$

$$P_p = K_{Np} \cdot N_p^3 \cdot D_{ip}^5 \cdot \rho \quad (3)$$

Para igual potencia volumétrica  $(P/V)_m = (P/V)_p \propto N^3 D_i^2$  el  $Re_p$  se calcula por la ecuación (2), mientras que el resto de los parámetros se determinan como sigue:

$$P_p = \left(\frac{P}{V}\right)_m \cdot V_p \quad (4)$$

$$N_p^3 \cdot D_{ip}^2 = N_m^3 \cdot D_{im}^2 \quad (5)$$

Al mantener igual velocidad del impulsor  $N_m = N_p$ , la  $P_p$  está dada por la ecuación (3) y el  $Re_p$  se expresa como:

$$Re_p = \frac{N_m \cdot D_{ip}^2 \cdot \rho}{\mu} \quad (6)$$

Al consumir igual potencia en la agitación  $P_p \propto N^3 D_i^5$ , el  $Re_p$  se calcula por la ecuación (2) y se cumple que:

$$N_p^3 \cdot D_{ip}^5 = N_m^3 \cdot D_{im}^5 \quad (7)$$

Para igual régimen de mezclado  $Re_p = Re_m$ , la  $P_p$  se determina por la ecuación (3) y la  $N_p$  se expresa como:

$$N_p = \frac{Re_m \cdot \mu}{D_{ip}^2 \cdot \rho} \quad (8)$$

Donde:  $N$  es la velocidad de agitación (rps);  $P$  es la potencia (W);  $Re$  es el número de Reynolds de mezclado (adimensional);  $K_N$  es el número de potencia (adimensional);  $\rho$  es la densidad ( $\text{kg/m}^3$ );  $\mu$  es la viscosidad (Pa.s) y los subíndices m y p se refieren a los biorreactores modelo y piloto respectivamente.

A partir de la evaluación preliminar de los criterios de escalados sobre los parámetros operacionales, se seleccionó el criterio más adecuado para la operación a escala industrial.

#### **2.4.1. Cálculo de los requerimientos de transferencia de calor en la operación de hidrólisis a escala industrial**

Para el diseño de la chaqueta para la circulación del medio de intercambio con régimen de flujo en mezcla perfecta, que permite mantener las condiciones isotérmicas en el reactor, se calculó el calor de reacción mediante el modelo de Kirchoff (Matos y Hing, 2014) a una temperatura constante de 60 °C. Los calores estándares de formación ( $\Delta H_f^\circ$ ) y las capacidades caloríficas ( $C_p$ ) de las sustancias participantes, se determinaron mediante el software *ChemDraw Ultra 8.0*, a partir el principio de contribución de grupos de Joback (Pérez y col., 2022). Además, se tuvo en cuenta que la constante cinética para una concentración inicial de sacarosa de 1,75 mol/l es de 0,1463 h<sup>-1</sup> (Martínez et al., 2015). La determinación de los coeficientes de transferencia de calor y el área requerida se realizaron por la metodología reportada para sistemas con estas características (Viera, 2007), (Espinosa y col., 2019).

#### **2.5. Selección tecnológica y consumos auxiliares asociados a la preparación del sustrato y concentración del licor invertido**

Encaminado a lograr la homogeneidad del medio de reacción requerida en la operación de hidrólisis a escala industrial, se concibió un sistema de disolución de 2,7 m<sup>3</sup> efectivos para disolver la cantidad de sacarosa necesaria para la operación de cada biorreactor. Las características geométricas del tanque con un criterio de diseño de igual diámetro ( $D$ ) y altura del líquido ( $H$ ) se relacionan como:

$$V = 0,785 \cdot D^3 \quad (9)$$

De acuerdo a las propiedades del fluido se seleccionó un agitador de hélice con una relación  $D_i/D$  igual a 0,25, una relación  $h/D_i$  de 0,6, una velocidad de agitación y consumo de potencia calculados según las ecuaciones 8 y 3, respectivamente.

Para elevar la temperatura del sustrato desde 30 °C hasta 60 °C, se propuso un intercambiador de calor de tubos y coraza, que garantiza una elevada superficie de transferencia de calor (Espinosa y col., 2019). El flujo másico de solución alimentada (60°Bx) es de 3,86 kg/s, donde a su vez se hace pasar agua para completar la carga de los biorreactores para una concentración requerida por el medio de reacción de 49,1°Bx (1,75 mol/l). La demanda de vapor de escape ( $m_v$ ) como medio de calentamiento a 113 °C y 156040,5 Pa, se calculó mediante el balance energético en esta operación (Núñez y col., 2020).

Además se determinó el consumo de requerimientos auxiliares para la concentración de la solución invertida desde 49,1°Bx ( $x_F$ ) hasta 79,0°Bx ( $x_n$ ). Este es el valor requerido para lograr la cristalización de la glucosa presente en la misma a una temperatura de aproximadamente 30 °C (Gómez, 2015).

Para el consumo de vapor ( $m_v$ ) según el número de efectos de evaporación ( $n$ ), se consideró la relación plantada por Ulrich (1990), teniendo en cuenta un rendimiento ( $\gamma$ ) de 0,83 dada la elevación del punto de ebullición que origina la concentración de sólidos disueltos, expresada como:

$$Vt = m_v \cdot n \cdot \exp\left(\frac{z}{y}\right) \quad (10)$$

Donde  $Vt$  es la evaporación total definida como:

$$Vt = F \left(1 - \frac{x_F}{x_n}\right) \quad (11)$$

Con un flujo de alimentación ( $F$ ) de 2,356 kg/s establecido para llevar a cabo esta operación en un tiempo aproximado de 3 h, la  $Vt$  es de 0,892 kg/s, a partir de la cual se estableció la siguiente relación:

$$m_v = \frac{0,892}{n^{0,64}} \quad (12)$$

El consumo de agua ( $m_{H_2O}$ ) está directamente vinculado a la evaporación en el último vaso y al calor latente correspondiente, cuyo cálculo se fundamenta en el balance energético en el condensador (Núñez y col., 2020). En este caso se alimenta agua a 30 °C con una capacidad calorífica ( $Cp$ ) de 4174 J/kg°C. Por requerimientos ambientales se estableció una temperatura de salida de la misma de 48 °C. Para una presión establecida en el último vaso de 26 plg Hg (13513,73 Pa), el calor latente del vapor es de  $2,37 \cdot 10^6$  J/kg.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Modelación y optimización de la etapa de hidrólisis

Los valores experimentales de los factores  $X_1$ ,  $X_2$  y el porcentaje de hidrólisis ( $y$ ) como respuesta evaluada, ajustados a un DCC se representan en la tabla 2. A su vez se observa la matriz de diseño para la ampliación del diseño factorial  $2^2$  con cuatro puntos axiales y cinco puntos centrales.

El modelo matemático de segundo orden (cuadrático) obtenido para este diseño fue:

$$Y = -54,6 + 16,11X_1 + 103,2X_2 - 0,097X_1^2 - 34,04X_2^2 - 5,50X_1X_2 \quad (13)$$

**Tabla 2.** DCC para las variables independientes y variable respuesta de la hidrólisis enzimática a pH 5,5, 60 °C y agitación 100 rpm

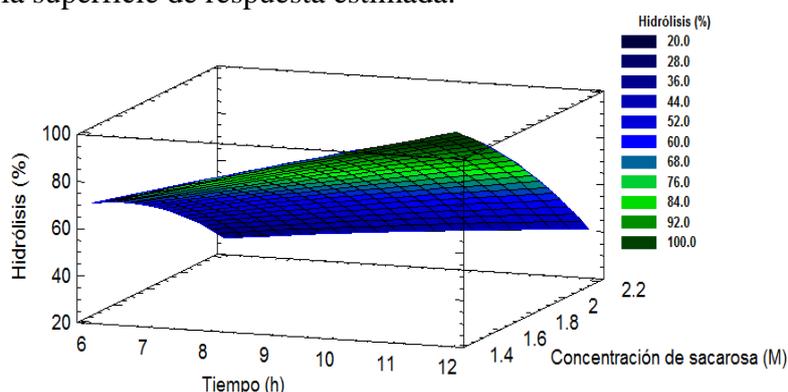
Corridas	Factores experimentales		Factores codificados		Variable respuesta (Y)	
	Tiempo (h) $X_1$	Concentración de sacarosa (mol/l) $X_2$	$X_1$	$X_2$	Observado $\bar{Y}$	Estimado $\hat{Y}$
1	9	1,75	0	0	73,00	72,29
2	12	1,75	1,41	0	88,00	85,60
3	9	2,16	0	1,41	40,00	39,70
4	5	1,75	-1,41	0	49,00	51,83
5	10	2,04	1	1	50,00	53,48
6	9	1,75	0	0	73,10	72,29
7	9	1,75	0	0	72,90	72,29
8	9	1,75	0	0	72,80	72,29
9	9	1,75	0	0	73,20	72,29
10	10	1,46	1	-1	90,00	94,57
11	6	1,46	-1	-1	70,00	68,52

12	6	2,04	-1	1	42,00	40,17
13	9	1,16	0	-1,41	99,80	98,86

De acuerdo a los valores promedio de los rendimientos observados ( $\bar{Y}$ ) y estimados ( $\hat{Y}$ ), se aprecia que el porcentaje de hidrólisis oscila entre 40,00 y 99,80 %, obteniéndose el mayor valor para una concentración de 1,16 mol/l en un tiempo de 9 h. Este comportamiento sugiere el efecto de curvatura para un adecuado ajuste y la existencia de un óptimo en la región de estudio.

En la evaluación estadística del grado de ajuste a los valores experimentales, el análisis de varianza indicó que el modelo ajustado es significativo para una  $p$  de 0,021, donde  $X_1^2$  no resultó ser significativo. La suma de cuadrados del error puro (0,10) resultó pequeña con respecto a la suma de cuadrados del total (4174,41), lo que indica una buena reproducibilidad en el punto central (Chirinosa y col., 2017).

Respecto al coeficiente de determinación ( $R^2$ ), el modelo ajustado explica el 98,65 % de la variabilidad de la respuesta. Además, existió una buena correlación entre los valores experimentales para una  $R^2 = 0,9865$  y los valores estimados para una  $R^2_{ajustado} = 0,9769$ . La relación entre ambos factores, se muestra en la figura 1, donde se representa la superficie de respuesta estimada.



**Figura 1.** Superficie de respuesta para los efectos tiempo-concentración de sacarosa en el porcentaje de hidrólisis

La representación obtenida indica un comportamiento lineal del tiempo con pendiente positiva, mientras que la concentración de sacarosa presenta un efecto de curvatura.

De acuerdo a las operaciones posteriores del proceso, donde es necesario lograr una solución sobresaturada para la cristalización, es conveniente trabajar con soluciones de mayor concentración, donde se alcancen porcentajes considerables de inversión en igual período de tiempo. Para ello se optimizó con 1,75 mol/l como restricción, alcanzándose un 85,60 % de inversión en un tiempo de 12 h. Este valor constituye el tiempo óptimo de reacción donde se corrobora un 90 % de inversión alcanzado experimentalmente (Martínez et al., 2017) para iguales valores de  $X_1$  y  $X_2$ . El efecto creciente de la respuesta con el tiempo se ha evidenciado en estudios experimentales de la reacción de hidrólisis catalizada para diferentes concentraciones de sacarosa (Martínez et al., 2015).

### 3.2. Escalado de la reacción biocatalizada por PpABfrA

Las operaciones en un sistema discontinuo de reacción permiten establecer un control estricto sobre las variables operacionales (Ceballos y col., 2016), y por otro lado, el

sistema agitado para un tiempo de reacción que supera las 6 h asegura la debida interacción enzima sustrato (Martínez et al., 2014b). La selección de uno u otro criterio de escalado para un volumen piloto de 500 l, está sujeto al análisis de las consecuencias de adoptar cada uno de ellos en el sistema de reacción. La determinación de las consecuencias se realizó a través del cálculo teórico de cada uno de los parámetros como se relaciona en las ecuaciones (1) - (8) para una  $\rho = 1\,283,85\text{ kg/m}^3$  y  $\mu = 0,0058\text{ Pa.s}$ . Estos resultados se muestran en la tabla 3, donde las celdas destacadas indican los valores de los parámetros que se mantuvieron constantes en ambos biorreactores, al considerar cada uno de los criterios de escalados que se representan en la primera columna.

**Tabla 3.** Valores de los parámetros para los distintos criterios de escalado

Criterios de escalado	Modelo	Valores en el prototipo				
		$N_p$ (rpm)	$N_p D_{ip}$ (rpm·m)	$Re_p$	$P_p$ (W)	$(P/V)_p$ (W/L)
$N_{cte}$	60	$1,0N_m$ 60	$4,64ND_{im}$ 13,9	$21,53Re_m$ $1,2 \cdot 10^4$	$10^3 P_m$ $2,4 \cdot 10^{-1}$	$10(P/V)_m$ $4,8 \cdot 10^{-4}$
$ND_{cte}$	3	$0,22N_m$ 13	$1,0ND_{im}$ 3,0	$4,64Re_m$ $2,6 \cdot 10^3$	$13,8P_m$ $3,3 \cdot 10^{-3}$	$0,14(P/V)_m$ $6,6 \cdot 10^{-6}$
$Re_{cte}$	553	$2,8 \cdot 10^{-2} N_m$ 1,66	$0,13ND_{im}$ 0,38	$1,0Re_m$ 553	$4,6 \cdot 10^{-2} P_m$ $1,1 \cdot 10^{-5}$	$4,6 \cdot 10^{-4} (P/V)_m$ $2,2 \cdot 10^{-8}$
$P_{cte}$	$2,4 \cdot 10^{-4}$	$7,7 \cdot 10^{-2} N_m$ 4,65	$0,36ND_{im}$ 1,08	$1,66Re_m$ 917	$1,0P_m$ $2,4 \cdot 10^{-4}$	$0,01(P/V)_m$ $4,8 \cdot 10^{-7}$
$P/V_{cte}$	$4,8 \cdot 10^{-5}$	$0,36N_m$ 22	$1,67ND_{im}$ 5,0	$7,75Re_m$ $4,3 \cdot 10^3$	$100P_m$ $2,4 \cdot 10^{-2}$	$1,0(P/V)_m$ $4,8 \cdot 10^{-5}$

Al analizar los valores obtenidos, se evidencia un comportamiento similar al del escalado de las condiciones experimentales al reactor modelo (Martínez et al., 2017). Si se mantiene como criterio de escalado igual velocidad en la punta del impulsor, el número de Reynolds de mezclado se incrementa 4,6 veces, proporcionalmente al aumento del diámetro del agitador. Al mismo tiempo, disminuye la velocidad de agitación, asegurando un régimen de mezclado, que al igual que el ensayo inicialmente, sea capaz de garantizar la homogeneidad y difusión de la sacarosa como parte de los mecanismos de transferencia de masa. Este criterio a su vez reportó resultados satisfactorios en el escalado de la reacción de biosíntesis de fructooligosacáridos a partir de la sacarosa, catalizada por un biocatalizador conformado por células recombinantes vivas de *Pichia pastoris* inmovilizadas en alginato de calcio (Pérez y col., 2011). Teniendo en cuenta estos fundamentos, con la aplicación de este criterio se han de lograr resultados satisfactorios en la operación del reactor piloto.

La aplicación de otros criterios de escalado se descartó por el aumento considerable del consumo de potencia al mantener constante la velocidad de agitación o la potencia volumétrica, y una disminución de la turbulencia del medio al aplicar los criterios de igual potencia o igual número de Reynolds de mezclado.

A partir de este análisis, se propuso el sistema de inversión enzimática a escala industrial, manteniendo los criterios de similitud geométrica, química y velocidad en la

punta del agitador constante. Como consecuencia de asumir este criterio, la velocidad de agitación reportó un valor de 5 rpm, disminución que se fundamenta en el aumento del régimen de turbulencia en el medio y por otro lado, un consumo de potencia 5,2 veces superior al del reactor piloto. Los parámetros operacionales del reactor modelo, piloto e industrial se muestran en la tabla 4.

**Tabla 4.** Parámetros operacionales de los reactores modelo, piloto e industrial

<i>Parámetros</i>	<i>Modelo</i>	<i>Piloto</i>	<i>Industrial</i>
$N$	60 rpm	13 rpm	5 rpm
$R_e$	553,38	$2,6 \cdot 10^3$	$6,5 \cdot 10^3$
$P$	$2,4 \cdot 10^{-4}$ W	$3,3 \cdot 10^{-3}$ W	$1,7 \cdot 10^{-2}$ W
Tipo de impelente	Hélice	Hélice	Hélice

### 3.2.1. Requerimientos de transferencia de calor en la operación de hidrólisis

La entalpía de hidrólisis a una temperatura de trabajo de 60 °C arrojó un valor de 108,65 kJ/mol para una variación de la capacidad calorífica de 107,65 kJ/mol. Este resultado muestra que la reacción se desarrolla sin efectos energéticos apreciables, pero con un comportamiento ligeramente endotérmico, que ocasiona el descenso de la temperatura.

En la tabla 5 se muestran los resultados de la determinación de la demanda de transferencia de calor. Dado el comportamiento de primer orden que presenta la reacción de hidrólisis, con constante cinética de  $0,1463 \text{ h}^{-1}$  (Martínez et al., 2015), la conversión teórica alcanzada para las 12 h de reacción es de 0,83. Para el intercambio energético necesario, se calculó un área de transferencia de  $16 \text{ m}^2$  inferior a  $17 \text{ m}^2$  de superficie lateral que presentan los biorreactores.

**Tabla 5.** Resultados de la determinación de los requerimientos de transferencia de calor en la hidrólisis enzimática de la sacarosa

<i>Parámetros calculados</i>	<i>Resultados</i>
Coeficiente pelicular de transferencia de calor ( $\text{J/s m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$ )	75,32
Coeficiente pelicular de transferencia de calor referido al diámetro exterior ( $\text{J/s m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$ )	73,81
Coeficiente total de transferencia de calor limpio ( $\text{J/s m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$ )	37,28
Coeficiente total de transferencia de calor sucio ( $\text{J/s m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$ )	36,80
Área de transferencia de calor ( $\text{m}^2$ )	16
Calor intercambiado (J/s)	9213
Temperatura de entrada del medio ( $^\circ\text{C}$ )	78
Temperatura de salida del medio ( $^\circ\text{C}$ )	75,65

### 3.3. Consumos asociados a la operación en los biorreactores y a las tecnologías auxiliares de la preparación de sustrato y concentración del licor invertido

Un tanque agitado con  $V_t$  de  $2,7 \text{ m}^3$ , un  $D$  de 1,5 m según la ecuación (9) y agitador de hélice de 0,375 m de  $D_i$ , garantiza la obtención de una solución concentrada de sacarosa (60 °Bx). Establecido un régimen turbulento de mezclado ( $R_e$ ) de  $8 \cdot 10^4$ , la velocidad de

agitación requerida según la ecuación (8) es de 900 rpm, con un consumo de potencia dado por la ecuación (3) de 9,67 kW para un  $K_N$  correspondiente de 0,3.

Se seleccionó un doble efecto de evaporación teniendo en cuenta que a mayor número de efectos, mayor es la cantidad de evaporación por kilogramos de vapor de calentamiento admitido en el primer vaso (Kern, 2005), lo que indica menor consumo de vapor y de agua alimentada al condensador y, por tanto, menores costos operacionales. Esto se balancea, sin embargo, por el aumento en el costo inicial de los equipos y los cargos asociados al mantenimiento y limpieza. Este un proceso discontinuo donde los cargos fijos no justifican un número mayor de efectos. Según las relaciones representadas en las ecuaciones (10) - (12) se determinó un consumo de vapor de 0,57 kg/s.

Para un número total de 16 inversiones de reuso del biocatalizador sin pérdida apreciable de actividad (Menéndez et al., 2014) y estableciendo continuidad en el proceso de carga de los biorreactores (Albernas y col., 2010) una vez culminada las 12 h de inversión, para un tiempo de llenado de cada uno de 1 hora y 15 minutos, se estimó un tiempo de reuso del biocatalizador de 11 días. En la tabla 6 se muestran los consumos asociados a esta etapa del proceso.

**Tabla 6.** Resumen de los principales consumos de la etapa de hidrólisis para 16 inversiones

<b><i>Materias primas</i></b>	Azúcar refino	201,60 t
<b><i>Materiales</i></b>	Biocatalizador	2,10 t
<b><i>Requerimientos</i></b>	Agua*	2789,92 m <sup>3</sup>
	Vapor	113,96 t
<b><i>Potencia eléctrica</i></b>	-	309,45 kW-h

\* Incluye agua para la disolución del azúcar refino

#### 4. CONCLUSIONES

1. La aplicación de la MSR a los datos experimentales considerados, demostró el efecto creciente del porcentaje de hidrólisis al aumentar el tiempo de reacción, alcanzando a las 12 h y concentración de 1,75 mol/l un 85,6 % de inversión en correspondencia con los rendimientos experimentales que se registran.
2. Mantener como criterio de escalado la velocidad en la punta del impulsor constante, ofrece parámetros operacionales satisfactorios para el desarrollo de la reacción biocatalítica.
3. Los parámetros operacionales determinados a escala industrial para la operación de hidrólisis enzimática y las tecnologías asociadas a la preparación del sustrato y concentración del licor invertido, aseguran el incremento del rendimiento y calidad de la glucosa obtenida, con menores impactos ambientales por la sustitución de sustancias agresivas; lográndose la hidrólisis de 201,6 t de azúcar refino con 2,10 t de biocatalizador en un período de 11 días.

#### REFERENCIAS

Acosta, A., Pérez, O., Albernas, Y., & Cortés, M.F., Potencialidades de la metodología de superficie de respuesta en la optimización experimental en la industria química y

- alimentaria., Centro Azúcar, Vol. 48, No. 4, 2021, pp. 123-138.  
[http://centrozucar.uclv.edu.cu/index.php/centro\\_azucar/article/view/684/782](http://centrozucar.uclv.edu.cu/index.php/centro_azucar/article/view/684/782)
- Albernas, Y., Pedraza, J., González, E., & González, M., Metodología preliminar para el análisis de sistemas discontinuos., Centro Azúcar, Vol. 37, No. 2, 2010, pp. 16-23.  
[http://centrozucar.uclv.edu.cu/index.php/centro\\_azucar/article/view/410](http://centrozucar.uclv.edu.cu/index.php/centro_azucar/article/view/410)
- Bueno, K.A., Efecto de la membrana en la recuperación de Jarabes de Glucosa a partir de residuos agroindustriales., Tesis presentada en opción al grado científico de Doctora en Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia, Colombia, 2018.  
<https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/64786>
- Ceballos, I.E., Farías, L., & Rosales, L., Problemas y soluciones en el diseño de reactores enzimáticos., Investigación y ciencia, Vol. 24, No. 67, 2016, pp. 78-85.  
<https://www.redalyc.org/journal/674/67446178011/html/>
- Chirinoso, R., Mendoza, R., Aguilar-Gálvez, A., & Camposa, D., Hidrólisis química y enzimática de extracto de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) para la producción de fructosa., Revista de la Sociedad Química del Perú, Vol. 83, No. 2, 2017, pp. 200-212. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v83n2/a06v83n2.pdf>
- Cortés, M.F., Ruíz, I.C., Alomá, I., González, E., & Carrillo, L.E., Diseño de intercambiadores de calor para intensificar el proceso de obtención de glucosa en la UEB Chiquitico Fabregat., Centro Azúcar, Vol. 47, No. 1, 2020a, pp. 10-21.  
[http://centrozucar.uclv.edu.cu/index.php/centro\\_azucar/article/view/165](http://centrozucar.uclv.edu.cu/index.php/centro_azucar/article/view/165)
- Cortés, M. F., Pérez, O., Alomá, I. C., & Leiva, J., La regresión óptima para la hidrólisis enzimática en la producción de glucosa., Revista ICIDCA, Vol. 53, No. 2, 2020b, pp. 17-25. <https://www.revista.icidca.azcuba.cu/wp-content/uploads/2020/05/articulo-9-1.pdf>
- Díaz, L.R., Zumalacárregui, L., Pérez, O., & González, G.A., Evaluación del proceso de producción de glucosa a partir de Sacarosa en la UEB Argentina., Tecnología Química, Vol. 40, No. 3, 2020, pp. 611-626. <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v40n3/2224-6185-rtq-40-03-611.pdf>
- Espinosa, R.O., Hernández, J.P., Goya, F.A., & Leiva, J., Integración de procesos energéticos, cogeneración y avances en transferencia de calor en la industria química., Editorial Feijóo, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, 2019, pp. 9-141. <https://1library.co/document/zlgeex2y-integracion-procesos-energeticos-cogeneracion-avances-transferencia-industria-quimica.html>
- Gómez, L., Estabilización funcional y operacional de enzimas hidrolíticas de interés industrial., Tesis en opción al Grado Científico de doctor en Ciencias Técnicas, Universidad de Matanzas, Cuba, 2015.  
[http://cict.umcc.cu/repositorio/tesis/Tesis%20de%20Doctorado/Ciencias%20T%C3%A9cnicas/2016/Estabilizaci%C3%B3n%20funcional%20y%20operacional%20de%20enzimas%20hidrol%C3%ADticas%20de%20inter%C3%A9s%20industrial%20\(Leissy%20G%C3%B3mez%20Brizuela\).pdf](http://cict.umcc.cu/repositorio/tesis/Tesis%20de%20Doctorado/Ciencias%20T%C3%A9cnicas/2016/Estabilizaci%C3%B3n%20funcional%20y%20operacional%20de%20enzimas%20hidrol%C3%ADticas%20de%20inter%C3%A9s%20industrial%20(Leissy%20G%C3%B3mez%20Brizuela).pdf)
- Gómez, L., Orozo, J., Ramírez, H., Yll, M., Díaz, S., Michelena, G., & Dustet, J.C., Comparison of economic indicators of the sucrose acid inversion or by enzymatic hydrolysis., Biotecnología Aplicada, Vol. 34, No. 4, 2017, pp. 4401-4404.  
<http://elfosscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/Biotecnol%20Apl/2017/34/4/BA003404EN4401-4404.pdf>

- Kasatkin, A.G., Operaciones básicas y aparatos en la tecnología química., Editorial Pueblo y Educación, La Habana, 1985, pp. 401-424.
- Martínez, D., Cutiño, B., Pérez, E., Menéndez, C., & Monte, L.D., A thermostable exo- $\beta$ -fructosidase immobilised through rational design., *Food Chemistry*, Vol. 15, No.145, 2014a, pp. 826-831. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.073>
- Martínez, D., Menéndez, C., Echemendía, F.M., Pérez, E.R., Trujillo, L.E., & Sobrino, A., Ramírez, R., Quintero, Y., & Hernández, L., Complete sucrose hydrolysis by heat-killed recombinant *Pichia pastoris* cells entrapped in calcium alginate., *Microbial Cell Factories*, Vol. 13, No. 87, 2014b, pp. 1-9. <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2859-13-87>
- Martínez, D., Menéndez, C., Echemendía, F.M., Hernández, L., Sobrino, A., Trujillo, L.E., Rodríguez, I., & Pérez, E.R., Kinetics of Sucrose hydrolysis by immobilized recombinant *pichia patoris* cells in a batch reactor., *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, Vol. 7, No. 5, 2015, pp. 294-298. <http://dx.doi.org/10.4172/1948-5948.1000228>
- Martínez, D., Menéndez, C., Hernández, L., Sobrino, A., Trujillo, L.E., Rodríguez, I., & Pérez, E.R., Scaling-up batch conditions for efficient sucrose hydrolysis catalyzed by an immobilized recombinant *Pichia Pastoris* cells in a stirrer tank reactor., *Electronic Journal of Biotechnology*, Vol. 25, 2017, pp. 39-42. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2016.11.003>
- Matos, R., & Hing, R., Aspectos fundamentales de la química física., Tomo I, Editorial Félix Varela, La Habana, 2014, pp. 84-105.
- Menéndez, C., Martínez, D., Hernández, L., & Pérez, E., Desarrollo de biocatalizadores termoestables basados en la invertasa de *Thermotoga Maritima* para la hidrólisis total de azúcar de caña., *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*, Vol. 4, No. 2, 2014, pp. 1-14. <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/114>
- Núñez, L.N., Hortelano, J.G., Kantun, M.C., & Téllez, J.S., Metodología para el diseño de intercambiadores de calor tipo coraza y tubos., *Revista de Aplicaciones de la Ingeniería*, Vol. 7, No. 23, 2020, pp. 7-18. <https://doi.org/10.35429/JEA.2020.23.7.7.18>
- Pérez, E.R., Martínez, G., Sobrino, A., Rodríguez, I., & Hernández, L., Escalado de la reacción de biosíntesis de fructooligosacáridos a partir de sacarosa en biorreactores tipo tanque agitado., *Revista Tecnología Química*, Vol. 31, No. 2, 2011, pp. 155-165. <https://tecnologiaquimica.uo.edu.cu/index.php/tq/issue/view/77>
- Pérez, O., González, E., Ley, N., & Dustet, J.C., Diseño y escalado para gelatinización y acetilación de almidón proveniente de Manihot Esculenta Crantz., *Revista Afinidad*, Vol. 79, No. 595, 2022. *In Press*.
- Ulrich, G.D., Diseño y Economía de Procesos de la Ingeniería Química., Editorial McGraw-Hill, México, 1990, pp. 108-120.
- Viera, R., Diseño y Análisis de Reactores Químicos., Tomo I, Editorial Félix Varela, La Habana, 2007, pp. 93-211.
- Yaguas, O., Metodología de superficie de respuesta para la optimización de una producción agrícola., *Revista Ingeniería Industrial*, Vol. 16, No. 1, Ago., 2017, pp. 205-222. <https://doi.org/10.22320/S07179103/2017.13>

## **CONFLICTO DE INTERÉS**

Los autores declaran que no existen conflictos de interés.

## **CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES**

- Ing. Amanda Acosta Solares. Realizó la optimización, el escalado, el análisis energético y la escritura del artículo
- Dr.C. Omar Pérez Navarro. Dirigió la investigación y realizó el análisis de los resultados del escalado y la optimización.
- Dr.C. Enrique R. Pérez Cruz. Contribuyó en el análisis de los resultados experimentales previamente reportados, de la optimización y del escalado.
- Dr.C. Duniesky Martínez García. Contribuyó en la revisión del artículo.