

ESTUDIO DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN EN CONTINUO DE HIDROLIZADOS DE ALMIDÓN DE YUCA INTEGRANDO HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA Y CLARIFICACIÓN CON MEMBRANAS

STUDY OF CONTINUOUS PRODUCTION PROCESS OF CASSAVA STARCH HYDROLYSATES INTEGRATING ENZYMATIC HYDROLYSIS AND MEMBRANE CLARIFICATION

Gloria Lizeth DÍAZ-ARENAS, Ing. Químico¹, Dietmar José RAMOS-GONZÁLEZ, Ing. Químico¹, Carlos Jesús MUVDI-NOVA, PhD^{2*}

Recibido: Abril 22 de 2016 Aprobado: Noviembre 01 de 2017

RESUMEN

Antecedentes: Los jarabes de glucosa obtenidos a partir del almidón de yuca han sido estudiados debido al alto contenido de almidón que su materia prima presenta (87,67 % base seca). El proceso de producción se realiza convencionalmente por vía enzimática en reactores *batch* (en dos etapas), seguida de una etapa de clarificación para remover sólidos suspendidos e impurezas insolubles; esta configuración aumenta los costos de producción y lo hace menos productivo. **Objetivos:** Estudiar el proceso de producción en continuo de hidrolizados de almidón de yuca integrando hidrólisis enzimática (en una sola etapa) y clarificación con tecnología de membranas. **Métodos:** Se utilizaron membranas cerámicas tubulares monocanal TAMI InsideCeram[®] de 50 kDa y 0,2 μm de umbral de corte. Se analizó el efecto de la concentración de enzima (α -amilasa: 0,028-0,112 % p/p; glucoamilasa: 0,0315-0,126 % p/p) en los hidrolizados producidos en una sola etapa, además de evaluar el efecto del umbral de corte en la producción de hidrolizados bajo la configuración en continuo. Se determinaron permeabilidades, y los hidrolizados y sus filtrados fueron caracterizados en turbidez, ED, % glucosa, % materia seca y °Brix. **Resultados:** Se encontró que las características de los hidrolizados no se ven afectadas significativamente por las concentraciones de enzima evaluadas en mezcla, permitiendo trabajar con la menor relación. Los resultados para continuo mostraron que es posible trabajar con la membrana de 0,2 μm sin afectar la calidad del producto, haciendo el proceso más productivo. **Conclusiones:** Se comprobó las ventajas de utilizar una configuración en continuo respecto a una en *batch*, distanciando tiempos de parada, manteniendo la calidad del producto, y aumentando la productividad.

Palabras clave: Filtración, membranas, hidrólisis, almidón, yuca.

ABSTRACT

Background: Glucose syrups obtained from cassava starch have been studied due to the high content of starch that their raw material presents (87.67% dry base). The production process is performed conventionally in batch reactors using enzymes (in two steps). Subsequently, the hydrolysates produced are clarified to

¹ Ingeniero Químico. Grupo de Investigación CICTA. Escuela de Ingeniería Química. Universidad Industrial de Santander (UIS). Bucaramanga, Colombia.

² PhD, MSc, Grupo de Investigación CICTA. Escuela de Ingeniería Química. Universidad Industrial de Santander (UIS). Bucaramanga, Colombia.

* Autor de correspondencia: cjmuvidi@uis.edu.co

remove suspended solids and insoluble impurities; this configuration increases production costs and productivity. **Objectives:** Continuous production process of cassava starch hydrolysates integrating enzymatic hydrolysis (one-step) and clarification with membrane technology was studied. **Methods:** Tubular monochannel ceramic membranes InsideCeram[®] from TAMI Industries were used: molecular weight cut-off: 50 kDa and 0.2 μm , and lengths of 1.2 m (surface area of 0.132 m^2) and 0.14 m (surface area of 0.00307 m^2). It was analyzed the effect of enzyme concentration (α -amylase: 0.028–0.112 % w/w; glucoamylase: 0.0315–0.126% w/w) on hydrolysates produced by one-step starch hydrolysis. Besides, it was evaluated the effect of molecular weight cut-off on hydrolysates production during steps of liquefaction and saccharification under continuous configuration. Fluxes were determined and all hydrolysates and their permeates were characterized in turbidity, DE, % glucose, % dry matter and °Brix. **Results:** The results showed that hydrolysates characteristics were not significantly affected by the evaluated enzyme concentrations (mixtures), allowing to work with the lowest concentrations (reducing times of operation and costs of production). On the other hand, the results for continuous process configuration showed that it is possible to work with a membrane of 0.2 μm without affecting permeate quality and increasing the productivity. **Conclusions:** Finally, the advantages of using a continuous configuration instead a batch configuration were found: longer times of operation, permeates of high quality and an increase of productivity.

Keywords: Filtration, membranes, hydrolysis, starch, cassava.

INTRODUCCIÓN

Los jarabes de glucosa son soluciones concentradas en glucosa obtenidas a partir de la hidrólisis del almidón. Estos jarabes son usados principalmente en la industria de alimentos por sus diferentes propiedades funcionales como resistencia a la cristalización, capacidad edulcorante, baja higroscopicidad y estabilidad térmica (1). Además, se emplean en la industria química para la producción de alcohol (2, 3) y tienen aplicabilidad en la industria farmacéutica para la elaboración de vacunas y antibióticos (4). Aunque el almidón de maíz es la principal materia prima para la producción de jarabes de glucosa, la yuca ha sido considerada como fuente alternativa debido a sus altos contenidos de almidón (87,67% en base seca) (5, 6). La hidrólisis del almidón se hace comúnmente por vía enzimática, obteniéndose hidrolizados hasta con 95 ED o superior (7). Durante la hidrólisis enzimática el almidón es licuado y sacarificado (2, 8), convencionalmente en reactores *batch*. El principal problema con el uso de este tipo de reactores es el incremento en los costos de producción, debido a los tiempos de parada (relacionados con la carga, descarga y limpieza), pérdida de enzima y menor productividad (8 - 10).

Los hidrolizados así obtenidos son clarificados para remover sólidos suspendidos e impurezas insolubles como proteínas, grasas y otros componentes no deseados. Esto se realiza por medio de carbón activado, intercambio iónico, filtros prensa o filtros rotatorios al vacío, usando tierras diatomeas como agentes filtrantes (4, 11, 12). Una alternativa para la

sustitución de los métodos tradicionales, consiste en acoplar las etapas de hidrólisis enzimática y clarificación en una configuración en continuo usando tecnología de membranas (11, 12). De esta manera, se utiliza la enzima por más tiempo y se recircula la materia prima no hidrolizada (8).

Una membrana es una barrera semipermeable que permite el paso de ciertos componentes y restringe el paso de otros, siendo éstos, el permeado y el retenido, respectivamente (13). La mayoría de procesos con membranas están determinados por dos parámetros claves, permeabilidad y selectividad; condicionados principalmente por la naturaleza de la membrana y el tipo de alimentación (7, 14). En la actualidad, la tecnología de membranas tiene un gran potencial en el cumplimiento de los requisitos de calidad del producto y parámetros ambientales. Algunas de las ventajas del uso de membranas son el poco espacio ocupado y facilidad de escalamiento, lo que hace que sean considerados sistemas compactos (15, 16). En el caso de clarificación de hidrolizados de almidón, trabajos como el de Paolucci Jean-Jean *et al.*, (8), Singh & Cheryan (12) y Acevedo-Estupiñan *et al.*, (10) han implementado el uso de módulos de tipo tubular que operan con membranas cerámicas, debido a su estabilidad térmica, mecánica y química, trabajan en todo el intervalo de pH (0-14) y a altas presiones (14, 17, 18).

La utilización de membranas, así como de sus respectivos módulos membranarios, reemplazan los métodos tradicionales de clarificación permitiendo la obtención de jarabes de alta calidad, sabor natural

y libre de aditivos. Además de un bajo consumo energético, eficiencia en la separación, disminución de etapas de procesamiento, de la relación equipos/tamaño y de los residuos generados (4, 14, 19).

Por otro lado, teniendo en cuenta las etapas de hidrólisis enzimática (licuefacción y sacarificación), en la literatura no se reportan estudios en continuo para la primera de éstas; siendo 2 h el tiempo máximo reportado y bajo la configuración en *batch* (20). En contraste a esto, sí se encuentran reportes de estudios en continuo para la sacarificación donde los tiempos máximos de reacción/filtración han sido de 6 h, usando membranas de 50 kDa y una sola enzima catalizadora (8, 21).

Es importante mencionar que la principal desventaja que se presenta en la filtración con membranas es la colmatación o ensuciamiento, producido por la acumulación de partículas dentro o sobre la superficie de la membrana (7, 10, 18). Este fenómeno es progresivo y genera el descenso del flujo en el tiempo. Su impacto se ve influenciado por el tipo de solución a clarificar, la geometría, el material membranario y las condiciones de operación. Por esto se hace necesaria la realización de estudios en continuo con tiempos más prolongados, a concentraciones más elevadas de almidón y utilizando mezcla de enzimas, con el fin de conocer el desempeño del proceso reacción/filtración y el comportamiento de dicho ensuciamiento en el tiempo. Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo de este trabajo fue estudiar el proceso de producción en continuo de hidrolizados de almidón de yuca integrando hidrólisis enzimática y clarificación con membranas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales e insumos

Membranas cerámicas tubulares monocanal TAMI InsideCeram[®], de 0,01 m de diámetro externo, 50 kDa y 0,2 μ m de umbral de corte, con longitudes de 1,2 m (superficie membranaria 0,132 m²) y 0,14 m (superficie membranaria 0,00307 m²), almidón de yuca INDIYUCA (contenido almidón 99,7% en base seca), enzimas α -amilasa (Liquozyme SC DS[®]) y glucoamilasa (Spirizyme Fuel[®]) marca Novozymes, bomba centrífuga marca Pedrollo, baño termostático marca Lauda[®] Alpha RA 24, pH-metro marca Hanna[®] HI 991001, HCl al 37% marca J.T. Baker[®], azul de coomasie G-250 marca

Merck[®], albúmina de suero bovino (BSA) marca Merck[®], etanol al 99,5% marca Panreac Química S.L.U, ácido orto-fosfórico al 85% marca Bioquigen Ltda, hipoclorito de Sodio al 15% distribuido por Suquim Ltda y NaOH en escamas distribuido por Suquim Ltda y en pellets marca Merck[®].

Métodos experimentales y de cuantificación

Método de Bradford para determinar el % retención de enzimas de las membranas (22) y utilizando un espectrofotómetro Genesys 20 ThermoSpectronic[®]. % Glucosa por el método espectrofotométrico glucosa oxidasa-peroxidasa (23). °Brix para determinar el contenido de azúcares en jarabes (24), con refractómetro Fisher No. 13 964 70C 0-90%. % materia seca, según norma A.O.A.C. 1980. Turbidez con patrón estándar de referencia USEPA 180.1. (25) y turbidímetro Hach[®] No. 2100QI. Permeabilidad de las membranas midiendo el volumen de permeado en un tiempo de 20 s (realizado por triplicado).

Pruebas de retención de enzima

Se realizaron pruebas usando soluciones ideales enzima/agua con el fin de determinar el % retención de enzima de las membranas a 40°C, ΔP_{TM} de 2 bar, volumen de alimentación de 5 L, con toma de muestras cada de 10 min de filtración y medición de permeabilidad a los 30 min de filtración (10) por triplicado.

Proceso de hidrólisis y clarificación en batch, integrando licuefacción y sacarificación en una sola etapa

Se analizó el efecto de la concentración de enzima en los hidrolizados producidos integrando licuefacción y sacarificación en una sola etapa (configuración *batch*, ver piloto de filtración *Batch*, Figura 1). Para esto se trabajó con una temperatura de 75°C y pH de 5, condiciones establecidas por Yagonia & Taboada (26), y 20 % p/p almidón según Acevedo-Estupiñan *et al.* (10). Se trabajó con un diseño experimental tipo factorial 3^k (27). Para el contenido de enzima, se evaluaron 3 niveles (Tabla 1). Estos valores se obtuvieron a partir de lo reportado por Ruíz (28) en términos de relación enzima/sustrato 0,028% p/p para alfa-amilasa y 0,0631% p/p para glucoamilasa y considerando una solución al 20% p/p de almidón.

Tabla 1. Niveles y factores utilizados para el diseño de experimentos de la Fase 1. Valores calculados a partir de la ficha técnica de las enzimas y de relaciones peso de sus componentes.

Factor/ Nivel	Bajo	Medio	Alto
Contenido alfa-amilasa [% p/p]	0,028	0,056	0,112
Contenido glucoamilasa [% p/p]	0,0315	0,0631	0,126

Las pruebas de hidrólisis se realizaron por duplicado y durante 1 h (8), con toma de muestras cada 15 min, con el fin de caracterizar en turbidez, equivalente dextrosa (ED), % glucosa, % materia seca y °Brix en la alimentación. Los hidrolizados obtenidos se filtraron durante 30 min con ΔP_{TM} 1,5 bar, tomando muestras cada 5 min y empleando membranas cerámicas de 0,14 m de largo con umbral de corte de 50 kDa y 0,2 μ m.

Proceso de hidrólisis en continuo y en una sola etapa integrando tecnología de membranas

Se tuvieron en cuenta los resultados obtenidos en el proceso en *batch* para la determinación de la mejor relación enzima/enzima (α -amilasa 0,028% p/p y glucoamilasa 0,0315% p/p). Las condiciones de hidrólisis fueron las mismas descritas en el proceso en *batch*. Para la clarificación se trabajó con un ΔP_{TM} de 1,5 bar, con la membrana más productiva y que presentó menor colmatación (según resultados obtenidos en el proceso *batch* fue la membrana de 0,2 μ m). El tiempo de duración de cada prueba fue de 7 h con toma de muestras durante este tiempo.

Pilotos de filtración con membranas

Piloto de filtración en *batch*

El proceso en *batch* (Figura 1a) fue llevado a cabo en un reactor encaquetado. Allí se puso

en contacto la solución de almidón fresca con la mezcla de enzimas, manteniendo cerrada la válvula número 2. Cumplido el tiempo de hidrólisis (1 h) según Paolucci-Jeanjean *et al.*, (8) se procede a abrir la válvula número 2 para alimentar la solución al módulo membranario (a través de una bomba centrífuga 3). El retenido se recircula al reactor 1, mientras que el filtrado se almacena 6. La ΔP_{TM} se define manipulando la válvula 5 (2 bar para la limpieza de las membranas y 1,5 bar para las pruebas de filtración). Las características de este piloto de filtración se muestran en la Tabla 2.

Piloto de filtración en continuo

El proceso en continuo (Figura 1b) inicia con una prueba en *batch*, tal como se especificó en la descripción del ‘Piloto de filtración en *batch*’, posteriormente se da inicio a la filtración de la misma forma que en la sección anterior. Para este sistema, el nivel del reactor se mantuvo constante, alimentando solución fresca de almidón a la misma concentración inicial. Así mismo, la concentración de enzima se adicionó teniendo en cuenta el % retención de enzima del sistema de filtración. Las características del piloto de filtración se encuentran en la Tabla 2.

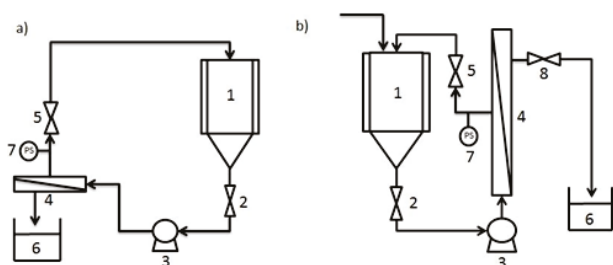


Figura 1. Piloto de filtración con membranas (a) Batch y (b) Continuo.

Tabla 2. Descripción de las características de los pilotos de filtración batch y continuo.

Piloto Batch		Piloto continuo	
Nº	Elemento	Nº	Elemento
1	Reactor enzimático encaquetado de 10 L de capacidad	5	Válvula reguladora de presión
2	Válvula de salida del hidrolizado	6	Tanque almacenamiento
3	Bomba centrífuga	7	Manómetro
4	Módulo de Membrana - Longitud: 0,14 m - Diámetro: 1 in - Capacidad: 1 membrana - Material: Acero inoxidable	8	Válvula de salida de permeado

El módulo de membrana del sistema en continuo fue diseñado e implementado, con el fin de asegurar los tiempos de residencia en el reactor (tiempos de reacción) (29). Se tomaron como base los datos de permeabilidad (P) [kg/m².h] obtenidos por Acevedo-Estupiñan *et al.*, (10) y se consideró un escalado lineal (principal característica de los sistemas de filtración con membranas).

RESULTADOS

Porcentaje de retención de enzima

En la Tabla 3 se muestra el porcentaje de retención de las membranas, utilizando soluciones ideales enzima/agua. En ella se observa que las membranas presentan un % retención de enzima superior al 87 %. En caso excepcional, la membrana de 0,2 μm muestra porcentajes de retención del 61% aproximadamente para la enzima α -amilasa. Esto podría explicarse debido al tamaño de la enzima, el cual se encuentra entre 30 kDa (0,015 μm) y 150 kDa (0,09 μm) (30), siendo mucho menor que el de umbral de corte de la membrana permitiendo parcialmente su paso. Mientras que el tamaño de la enzima glucoamilasa es mayor y se encuentra entre 82 kDa (0,07 μm) y 250 kDa (0,18 μm) (10, 31), lo

que disminuye su paso a través de la membrana. Es importante señalar que para ambas enzimas, la variación que existe en tamaño y también en la forma (distan mucho del de una esfera), dependen del proceso por el cual hayan sido obtenidas (animal, vegetal o microbiana).

Tabla 3. Porcentaje de retención para α -amilasa y glucoamilasa, medidos a 40°C y ΔP_{TM} 2 bar después de 10 min de filtración.

Enzima	Umbral de corte	% Retención*
α -Amilasa	50 [kDa]	96,94 \pm 5,1
	0,2 [μm]	61,34 \pm 12,76
Glucoamilasa	50 [kDa]	86,96 \pm 7,11
	0,2 [μm]	96,88 \pm 4,15

*Desviación estándar.

Efecto de la concentración de enzima en los hidrolizados producidos integrando licuefacción y sacarificación en una sola etapa

En la Tabla 4 se muestran las diferentes relaciones de enzima utilizadas en esta fase. La Figura 2 muestra los resultados obtenidos de °Brix y % materia seca con las membranas utilizadas (50 kDa y 0,2 μm), tanto para los hidrolizados como para sus filtrados.

Tabla 4. Relaciones de concentración de enzima utilizadas para cada prueba realizada.

N° Prueba	1	2	3	4	5	6	7	8	9
α -amilasa % p/p	0,028	0,028	0,028	0,056	0,056	0,056	0,112	0,112	0,112
Glucoamilasa % p/p	0,032	0,063	0,126	0,032	0,063	0,126	0,032	0,063	0,126

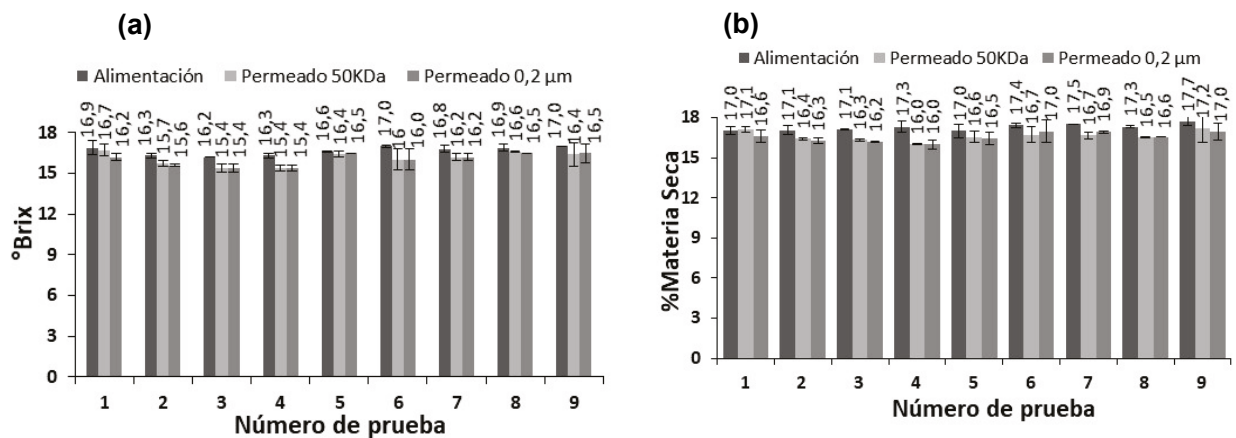


Figura 2. °Brix (a) y % materia seca (b) de los hidrolizados y sus respectivos permeados utilizando membranas con umbral de corte de 50 kDa y 0,2 μm variando la concentración de enzima según la Tabla 4. Obtenidos a 75°C, caudal alimentación 1309,2 L/h, ΔP_{TM} 1,5 bar, pH 5 y 30 min de filtración.

Se puede observar que la concentración de enzima no influye considerablemente ni en °Brix ni en % materia seca (los promedios se encuentran dentro de las desviaciones obtenidas). Esto fue confirmado con Statgraphics Centurion® XVI.I (versión de prueba), donde se encontraron p -valores >0.08 (significancia para $p < 0.05$).

En la Figura 3 se muestran los resultados de turbidez y los % retención para cada hidrólisis con sus respectivos filtrados. En la Figura 3a se evidencia la disminución en la turbidez de los permeados de todas las muestras en comparación con la alimentación, de por lo menos un 97,9%; resaltándose la eficacia del proceso de filtración en la clarificación de los filtrados. Esto se debe a que los diámetros de poro de las membranas utilizadas logran retener los sólidos suspendidos. Por otro lado, el análisis estadístico indicó que la concentración de las enzimas tampoco afecta significativamente la turbidez tanto de hidrolizados como de filtrados (p -valores > 0.07).

En la Figura 3b se observa que todos los porcentajes de retención de enzima para las dos membranas utilizadas fueron superiores al 83 %. Es importante

mencionar que en estas pruebas, los hidrolizados alimentados contenían almidón no hidrolizado, oligosacáridos, maltodextrinas y mezcla de enzimas, permitiendo la posible formación de una capa selectiva en la superficie de la membrana (8, 12, 21). Esto explica la diferencia de estos porcentajes de retención de enzima respecto a los obtenidos con soluciones ideales enzima/agua. Adicionalmente, se realizaron análisis fisicoquímicos de ED y % glucosa de los hidrolizados producidos, encontrándose jarabes entre 88 y 98,5 ED y entre 44 y 66% de glucosa (base seca). Esto indica que los hidrolizados producidos son esencialmente de glucosa.

En la Figura 4 se muestra las curvas de permeabilidad obtenidas para la prueba 1 (según condiciones indicadas en la Tabla 4); comportamientos similares se presentaron para las demás pruebas realizadas. En ésta se evidencia la disminución de la permeabilidad en el tiempo. Este comportamiento es normal siempre que se trabaja con membranas, y se debe al bloqueo de poros y a la formación de una capa orgánica (almidón, enzimas y oligosacáridos) en la superficie membranaria (8, 18).

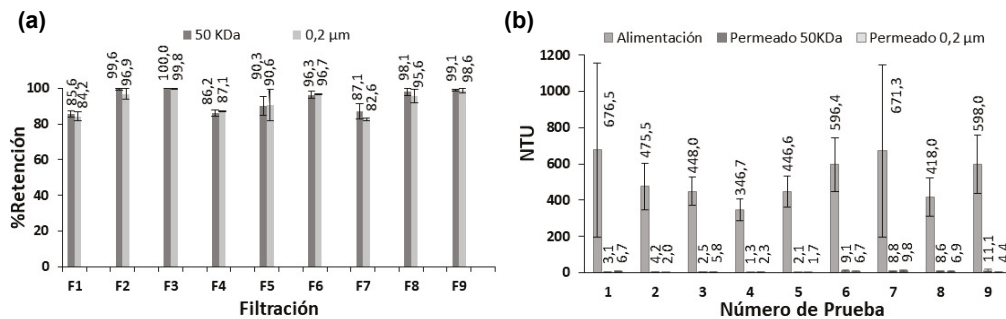


Figura 3. Turbidez (a) y % retención de enzima (b) de los hidrolizados transcurridos 60 min y sus respectivos permeados utilizando membranas con umbral de corte de 50 KDa y 0,2 μm variando la concentración de enzima según la Tabla 4. Obtenidos a 75°C, caudal alimentación 1309,2 L/h, ΔP_{TM} 1,5 bar y pH 5.

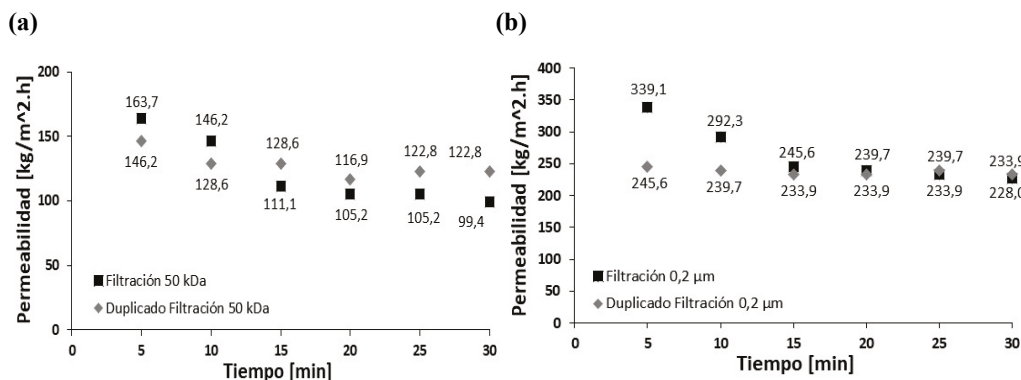


Figura 4. Permeabilidad en el tiempo para hidrolizados obtenidos en la prueba 1 (α -amilasa 0,028% p/p y glucoamilasa 0,0315% p/p), utilizando membranas con umbral de corte de 50 kDa (a) y 0,2 μm (b). Filtración a 75°C, caudal alimentación 1309,2 L/h, ΔP_{TM} 1,5 bar, pH 5 y 30 min de filtración.

Estudio del proceso en continuo considerando una sola etapa de hidrólisis e integrando tecnología de membranas

En la Tabla 5 se muestran los resultados de °Brix, % materia seca, % glucosa y ED para los permeados obtenidos usando la membrana de $0,2\ \mu\text{m}$. Al comparar los resultados de esta tabla con los obtenidos en la sección anterior que tratan sobre la hidrólisis en *batch* en una sola etapa (°Brix entre 15,4-17; % materia seca entre 16-17,7; % glucosa entre 44-66 y ED entre 88-98,5), se puede observar que al utilizar mezcla de enzimas para realizar la hidrólisis en continuo en una sola etapa, se obtienen resultados similares para °Brix y % materia seca. Sin embargo, aunque se presenta una ligera disminución en % glucosa y ED debido a la diferencia en los tiempos de residencia (1 h *batch*; 21 min continuo), se siguen obteniendo jarabes de glucosa.

En la Figura 5 se muestran los resultados obtenidos de turbidez y permeabilidad para la hidrólisis en continuo en una sola etapa. De la Figura 5a se observa la disminución de la turbidez de todos los

filtrados respecto a la alimentación de por lo menos un 95,8 %, resaltándose nuevamente la eficacia del proceso de clarificación con este umbral de corte. Lo anterior, se puede apreciar visualmente en la Figura 6a. Así mismo, se observa la tendencia de aumento de la turbidez en el tiempo, lo cual no sucede en los permeados (apreciable visualmente en las Figuras 6b y 6c.). Es importante mencionar que este aumento en la turbidez no afectó la permeabilidad, si se tiene en cuenta que para estas pruebas no se consideró realizar purgas durante todo el tiempo de experimentación.

En la Figura 5b se observa un descenso del 35,4 % en la permeabilidad (comportamiento normal en todo sistema de filtración con membranas) durante la primera hora de filtración, alcanzando un valor de estabilización de $161,13 \pm 3,8\ \text{kg/m}^2\cdot\text{h}$.

Este tipo de comportamiento ha sido evidenciado en la literatura por Paolucci-Jeanjean *et al.*, (8), Zapata (18), Singh & Cheryan (12), Gaouar *et al.*, (32), Almandoz *et al.*, (4), quienes mostraron tiempos de estabilización entre 1 y 2 h.

Tabla 5. Rangos de variación de °Brix, % materia seca, % glucosa y ED para el filtrado obtenido durante hidrólisis en continuo en una sola etapa a 75°C , caudal alimentación $2400\ \text{L/h}$, pH 4,5, ΔP_{TM} 1,5 bar, 20% p/p almidón, [] α -amilasa 0,028% p/p y glucoamilasa 0,0315% p/p. Tiempo de filtración de 7 h, con membrana con umbral de corte de $0,2\ \mu\text{m}$.

Membrana	Rango de variación de °Brix	Rango de variación de % materia seca	Rango de variación de % glucosa*	Rango de variación de ED
$0,2\ \mu\text{m}$	15,5 - 16,8	15,8 - 17,7	34,4 - 55,5	70,3 - 88,3

*Base seca

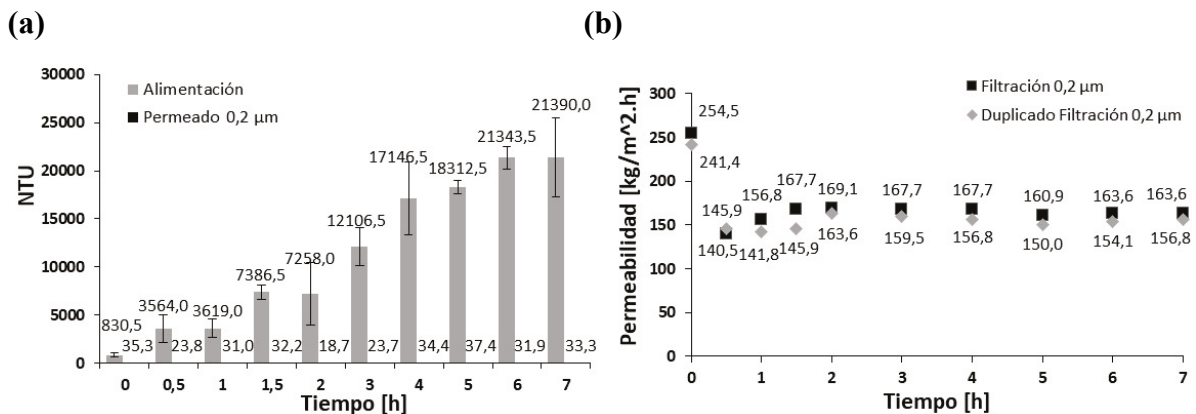


Figura 5. Turbidez (a) y Permeabilidad (b) obtenidos durante la hidrólisis en continuo en una sola etapa a 75°C , caudal alimentación $2400\ \text{L/h}$, pH 4,5, ΔP_{TM} 1,5 bar, 20% p/p almidón, [] α -amilasa 0,028% p/p y glucoamilasa 0,0315% p/p. Tiempo de filtración de 7 h, con membrana de umbral de corte $0,2\ \mu\text{m}$.

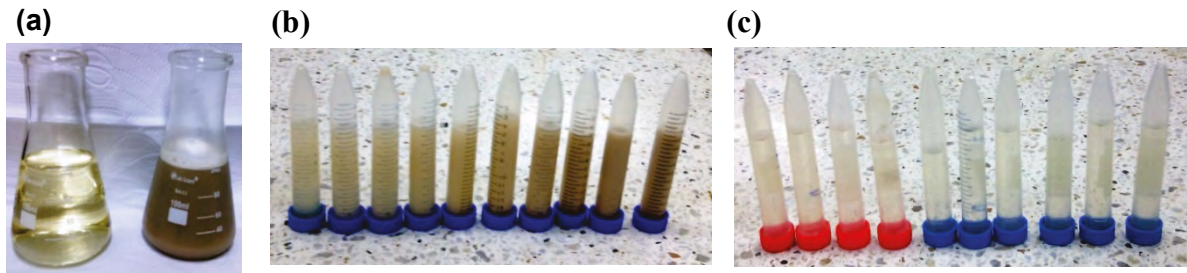


Figura 6. Muestras de un hidrolizado y su filtrado (a); evolución de muestras en el tiempo de la alimentación (b); y del filtrado (c), obtenidas durante la hidrólisis en continuo en una sola etapa a 75°C, caudal alimentación 2400 L/h, pH 5, membrana con umbral de corte de 0,2 μm , ΔP_{TM} 1,5 bar, 20% p/p almidón, [] α -amilasa 0,028% y glucoamilasa 0,0315% p/p, durante 7 h de filtración.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos revelaron que las características de los hidrolizados ($^{\circ}\text{Brix}$, % materia seca, turbidez, ED y % glucosa) no se ven afectadas por la concentración de enzima. Además, se logró reducir el tiempo de hidrólisis de 3 a 1 h, evitando realizar dos etapas como se hace convencionalmente, sin que se afectara la calidad de los jarabes. Estos resultados fisicoquímicos son similares a los obtenidos en dos etapas, Acevedo-Estupiñan *et al.*, (10). Se debe señalar que con la menor relación de enzima se obtuvieron jarabes de glucosa con características análogas a los que se produjeron con las concentraciones más altas. Para etapas posteriores se trabajó con la menor concentración de enzimas (α -amilasa 0,028% p/p y glucoamilasa 0,0315% p/p).

Además, se debe señalar que la membrana de 0,2 μm tuvo menos pérdida de permeabilidad en comparación con la membrana de 50 kDa (entre 8,4-21%; y 11,9-35,5%, respectivamente) bajo las mismas condiciones de operación. Esto se produjo debido al mayor bloqueo de los poros en la membrana de 50 kDa, pues existe más similitud entre el tamaño de las enzimas utilizadas y el umbral de corte de ésta (18), como se señaló en las pruebas de % retención de enzima. Adicionalmente, es importante mencionar que aunque al inicio de las filtraciones se presentaron diferencias entre el original y el duplicado debido a la dificultad de asegurar exactamente la misma dinámica en las pruebas (los arranques en los procesos poseen dinámicas complejas), al final de cada una de éstas se alcanzaron valores de estabilización con desviaciones no superiores al 11,9% para todas las pruebas realizadas.

Por otro lado, la configuración en continuo mostró una marcada diferencia en la productividad debido a que se lograron distanciar los tiempos

de parada (relacionados con los tiempos de carga, descarga y limpieza). Lo anterior, permitió obtener alrededor de 140 L de jarabe en 7 h de reacción/filtración en continuo, en contraste a la configuración en *batch*, en donde solo se logró producir 8 L para el mismo tiempo; considerando un volumen en el reactor de 8 L para las dos configuraciones.

Finalmente, se evaluó el % retención de enzima para el umbral de corte utilizado bajo esta configuración (0,2 μm), encontrándose valores por encima del 88% de retención. Los resultados sugieren que es posible la realización de hidrólisis y clarificación en continuo, utilizando mezclas de enzimas a bajas concentraciones y membranas con umbral de corte de hasta 0,2 μm , manteniéndose la calidad de los jarabes de glucosa producidos.

CONCLUSIONES

Se llevó a cabo la hidrólisis del almidón en una sola etapa con mezcla de enzimas en *batch* sin mayores inconvenientes. Las características de los hidrolizados y sus respectivos permeados ($^{\circ}\text{Brix}$ entre 15,4-17; % materia seca entre 16-17,7; % glucosa entre 44-66 y ED entre 88-98,5) no se vieron afectadas de manera significativa con las distintas concentraciones de enzima evaluadas en mezcla (α -amilasa: 0,028-0,112% p/p; glucoamilasa: 0,0315-0,126% p/p). Estos resultados permitieron trabajar con las menores concentraciones de enzima en una sola etapa, lo que redujo tiempos de proceso y reduciría costos de producción. Igualmente, se logró la producción de jarabes de glucosa en continuo y en una sola etapa utilizando tecnología de membranas. Además, se comprobaron las ventajas de utilizar una configuración en continuo respecto a una en *batch*, ya que se prolongan los tiempos de procesamiento, haciendo que se distancien los tiempos de parada

requeridos para limpieza y carga del reactor (de 1,25 h a 8 h), manteniendo la calidad del producto ($^{\circ}$ Brix entre 15,5-16,8; % materia seca entre 15,8-17,7; % glucosa entre 34,4-55,5 y ED entre 70,3-88,3) y aumentando la productividad del sistema para los mismos 8 L de volumen de reacción (se obtuvieron 8 L de hidrolizado en *batch* con respecto a los 140 L en continuo).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión de la Universidad Industrial de Santander, a Promitec Santander S.A.S y al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación – COLCIENCIAS, por el apoyo brindado para la realización del presente trabajo, que hace parte del proyecto titulado “Aumento de la productividad de concentrados de jarabes de glucosa obtenidos a partir de hidrolizados de almidón de yuca por métodos no convencionales” (cód. VIE9417).

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores certifican que no hay conflicto de intereses para este artículo.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

El Dr. Carlos Jesús Muvdi-Nova como investigador en el área aseguró los elementos de rigor requeridos para este tipo de trabajo científico. Los Ingenieros Gloria Lizeth Díaz-Arenas y Dietmar José Ramos-González estuvieron a cargo de la realización de las pruebas experimentales y de caracterización de las muestras. Todos los autores aportaron a la discusión y en la construcción del presente artículo.

REFERENCIAS

- Gaouar O, Zakhia N, Aymard C, Rios GM, Production of maltose syrup by bioconversion of cassava starch in an ultrafiltration reactor. *Ind Crop Prod*. 1998; 7: 159-167.
- Morales S, Alvarez H, Sánchez C. Dynamic models for the production of glucose syrups from cassava starch. *Food Bioprod Process*. 2008; 86: 25-30.
- Bohórquez D, Madero J. Evaluación de los rendimientos en litros de alcohol/kilogramos de almidón de Yuca (*Manihot esculenta Crantz*) de las variedades industriales MCOL2215 y MTAI8, Vía enzimática. [Tesis de Grado]. [Sinclair, Colombia]: Universidad de Sucre; 2008. 121p.
- Almandoz C, Pagliero C, Ochoa A, Marchese J. Corn syrup clarification by microfiltration with ceramic membranes. *J Membrane Sci*. 2010; 363: 87-95.
- Johnson R, Padmaja G, Moorthy SN. Comparative production of glucose and high fructose syrup from cassava and sweet potato roots by direct conversion techniques. *Innov Food Sci Emerg*. 2009; 10: 616-620.
- Pontoh J, Low NH. Glucose syrup production from Indonesian palm and cassava starch. *Food Res Int*. 1995; 28: 379-385.
- Singh N, Cheryan M. Properties and Composition of Concentrates and Syrup Obtained by Microfiltration of Saccharified Corn Starch Hydrolysate. *J Cereal Sci*. 1998; 27: 315-320.
- Paolucci-Jeanjean D, Belleville MP, Rios GM, Zakhia N. The effect of enzyme concentration and space time on the performance of a continuous recycle membrane reactor for one-step starch hydrolysis. *Biochem Eng J*. 2000; 5: 17-22.
- Przywecka A, Slominska L. Continuous potato starch hydrolysis process in a membrane reactor with tubular and hollow-fiber membranes. *Desalination*. 2005; 184: 105-112.
- Acevedo-Estupiñan MV, Parra-Escudero CO, Muvdi-Nova CJ. Estudio del proceso de clarificación de hidrolizados de almidón de yuca utilizando membranas cerámicas. *Vitae*. 2015; 22(2): 121-129.
- Slominska L, Niedbach J. Study on the influence of the so-called filtration enzyme action on the membrane filtration process of wheat starch hydrolysates. *Desalination*. 2009; 241: 296-301.
- Singh N, Cheryan M. Fouling of a ceramic microfiltration membrane by corn starch hydrolysate. *J Membrane Sci*. 1997; 135: 195-202.
- Wang L, Chen JP, Hung Y, Shammas N. Membrane and desalination technologies. New York, USA: Humana Press; 2011. 716p. ISBN: 978-1-58829-940-6.
- Coutinho CM, Chiu MC, Correa R, Badan AP, Guaraldo LA, Viotto LV. State of art of the application of membrane technology to vegetable oils. *Food Res Int*. 2009; 42: 536-550.
- Pinelo M, Jonsson G, Meyer AS. Membrane technology for purification of enzymatically produced oligosaccharides: Molecular and operational features affecting performance. *Sep Purif Technol*. 2009; 70: 1-11.
- Li YL, Lin PJ, Tung KL. CFD analysis of fluid flow through a spacer-filled disk-type membrane module. *Desalination*. 2011; 283: 140-147.
- Baker RW. Membrane technology and applications. California, USA: Wiley. 2004. 552p. ISBN: 978-0-470-02038-8.
- Zapata JE. Efecto de la limpieza química en la permeabilidad de membranas cerámicas de ultrafiltración. [Tesis doctoral]. [Granada, España]: Universidad de Granada. 2006. 317 p.
- Drioli E, Fontananova E. Membrane technology and sustainable growth. *Chem Eng Res Des*. 2004; 82: 1557-1562.
- Salcedo JG, Montes EJ, Pájaro JL. Producción de jarabes de fructosa por medio de la hidrólisis enzimática del almidón de yuca de las variedades corpoica M TAI-8 y corpoica orense. *Dyna*. 2009; 76(160): 121-130.
- Slominska L, Przywecka A. Study on the membrane filtration of starch hydrolysates. *Desalination*. 2004; 162: 255-261.
- Silvério S, Moreira S, Milagres A, Macedo E, Teixeira J, Musatto S. Interference of some aqueous two-phase system phase-forming components in protein determination by the Bradford method. *Anal Biochem*. 2012; 421: 719-724.
- Becerra JJ. Diseño y montaje de un piloto de laboratorio para el estudio de la separación de hidrolizados de almidón de yuca utilizando tecnología membranaria. [Tesis de grado]. [Bucaramanga, Colombia]: Universidad Industrial de Santander; 2011, 29p.
- Audi laksmi S, Das IK, Ghorade RB, Mane PN, Kamatar MY, Narayana YD, Seetharama N. Genetic improvement of sorghum for grain mould resistance: I. Performance of sorghum recombinant inbred lines for grain mould reactions across environments. *Crop Prot*. 2011; 30: 753-758.
- USEPA. Handbook: Optimizing Water Treatment Plant Performance Using. Washington, USA: Environmental Protection Agency. 1998. 246p.

26. Yagonia CF, Taboada E. Enzymatic Hydrolysis of Cassava (Manihot esculenta) Starch. *J Biosci Bioeng.* 2009; 108: 96-113.
27. Siqueiros A. Aplicación de la metodología de superficies de respuesta para el mejoramiento de la calidad del aceite de soya. [Tesis de grado]. [Sonora, México]: Universidad de Sonora: 2004, 108p.
28. Ruíz MI. Obtención de jarabes de glucosa a partir de almidón de yuca por medio de hidrólisis enzimática, para ser usados como sustrato en la producción de bioetanol. [Tesis de grado]. [Bucaramanga, Colombia]: Universidad Industrial de Santander. 2009, 81 p.
29. Fogler HS. Elementos de Ingeniería de las Reacciones Químicas, 3ra Edición. México: Pearson Education. 2001. 968p. ISBN: 970-26-0079-0.
30. Espinel E, López E. Purificación y caracterización de α -amilasa de *Penicillium commune* producida mediante fermentación en base sólida. *Revista Colombiana de Química.* 2009; 38: 24-34.
31. Rico Y. Producción, purificación y caracterización parcial de una glucoamilasa de *Aspergillus niger*. *Revista Colombiana de Química.* 1990; 19: 61-71.
32. Gaouar O, Zakhia N, Aymard C, Ríos GM. Production of maltose syrup by bioconversion of cassava starch in an ultrafiltration reactor. *Ind Crop Prod.* 1998; 7: 159-167.