

Deslactosado de permeado de lactosuero. Comparación de método enzimático y en medio subcrítico.

Marcos Correa¹, Maricel Santos¹, Alexis Velez² y Claudia Albrecht³

¹ *Facultad de Ciencias Exactas, Física y Naturales, UNC, Córdoba, Argentina*

² *Instituto de Investigación y Desarrollo de Ingeniería de Procesos y Química Aplicada de Córdoba (IPQA-UNC-CONICET), FCEFYN, UNC, Córdoba, Argentina*

³ *Centro de Investigación en Nutrición Humana-Esc. de Nutrición-FCM-UNC, Córdoba, Argentina*

Fecha de recepción del manuscrito: 20/05/2019

Fecha de aceptación del manuscrito: 18/10/2019

Fecha de publicación: 31/10/2019

Resumen— Se estudió el deslactosado del permeado de suero de leche con el fin de determinar posibles procesos para el aprovechamiento de este subproducto de la industria láctea. Se compararon dos métodos, enzimático y subcrítico, ambos a escala laboratorio. Se ensayó con una concentración de lactosa del 13 %. Para el método enzimático se probaron diferentes temperaturas, concentraciones iniciales de enzima y pH en un sistema batch, obteniéndose el mejor resultado con 30 °C, 1,25 mL/L de enzima y pH de 6,7, en un tiempo de 135 minutos. En el subcrítico se variaron las condiciones de temperatura y tiempo de residencia en un reactor continuo fijando la presión en 70 bar. Se obtuvieron los mejores resultados a temperatura de 180 °C y un tiempo de residencia de 24,86 minutos. Las conversiones obtenidas bajo estas condiciones fueron similares para ambos métodos, 72,36 % y 73 % respectivamente. Mediante los datos obtenidos se realizaron estudios de la cinética para ambos métodos, corroborando los modelos propuestos para la cinética enzimática y obteniendo constantes cinéticas para el deslactosado en medio subcrítico.

Palabras clave— lactosa, permeado de suero de leche, hidrólisis subcrítica, hidrólisis enzimática.

Abstract—Methods for the reduction of lactose were investigated in order to study the feasibility of the application of the process for the revaluation of whey permeate, a by-product of the dairy industry. Two methods were compared, enzymatic and subcritical, both in laboratory scale. A lactose concentration of 13 % was used for testing. For the enzymatic method different temperatures, enzyme concentrations and pH were tested in batch, obtaining the best results at 30 °C, 1,25 mL/L of enzyme and pH 6,7, in 135 minutes. On the subcritical method temperatures and time residence conditions were varied in a continuous reactor setting pressure at 70 bar. The best results were obtained at 180 °C and a time of 24,86 minutes. Conversions obtained under this conditions were similar for both methods, 72,36 % and 73% respectively. Through the results was make kinetic studies for both, corroborating the proposed models for the enzyme and obtaining kinetic constants for the subcritical method.

Keywords— lactose, whey permeate, subcritical hydrolysis, enzymatic hydrolysis.

INTRODUCCIÓN

Actualmente es significativa la importancia que se le da en las industrias al desarrollo sostenible y al cuidado del medio ambiente. Esto se puede apreciar en los esfuerzos que se realizan para tener mejor manejo de las materias primas y energía en los procesos, el aprovechamiento de los subproductos involucrados en los mismos, y en generar menos residuos y efluentes.

En el sector alimenticio, lo anteriormente dicho se suma a la búsqueda del aprovechamiento de todos los nutrientes presentes en las materias primas, como respuesta a las nuevas exigencias de los consumidores y a la necesidad de

abastecer a una población mundial en constante crecimiento.

Ejemplo de lo expuesto es el caso de la industria quesera, la cual genera como subproducto el suero de leche. Aproximadamente 9 kg de lactosuero resultan de la producción de 1 kg de queso. El mismo presenta una carga considerable de nutrientes y a esto se debe la importancia de buscar métodos para su aprovechamiento y a su vez, evitar la contaminación del medio ambiente debido a su alta demanda biológica de oxígeno (DBO).

Para aprovechar el lactosuero en la elaboración de distintos productos con alto valor agregado, se deben combinar procesos costosos de separación, desmineralización y secado, entre otros; y es por esta razón que son las grandes empresas las que generalmente llevan a cabo su revalorización. En el caso de las pequeñas y medianas empresas (PyMEs) queseras, el suero generado es comúnmente utilizado para alimentación animal, o bien, desechado como efluente líquido, provocando un incremento de los niveles de contaminación ambiental en

Dirección de contacto:

Maricel Santos, Dávila y Cartagena 2136, X5001HAF. Tel: 3513724845.
marisantosvg@gmail.com

las zonas cercanas a las fábricas. En Sudamérica, el 50 % de las queserías son PyMEs que procesan menos de 10 mil litros de leche por día. Específicamente en Argentina, Brasil, Colombia y Uruguay se estima que anualmente se generan alrededor de 17 mil millones de litros de suero provenientes de esta clase de empresas (Muset, 2017). Es por esto que es importante continuar investigando métodos de aprovechamiento que sean económicos y sustentables para que se encuentren también al alcance de este sector.

Una forma de revalorización del lactosuero es su filtración con membranas para la obtención de proteínas de alto valor que conforman la porción retenida, mientras que el permeado del suero resulta nuevamente en un subproducto. Este está compuesto principalmente por lactosa, glúcido dímero formado por la unión de glucosa y galactosa. El consumo humano de la lactosa requiere de la presencia de la enzima lactasa en el intestino para producir la hidrólisis del enlace, ya que este azúcar no es absorbible pero sus monómeros si lo son. En ausencia o escasez de la enzima se genera un problema conocido como “intolerancia a la lactosa”, que es la sensibilidad metabólica más común de la especie humana, afectando a un 60-70 % de la población mundial. De esto se desprende una de las razones para estudiar el deslactosado. Otras razones son la baja solubilidad de la lactosa y el mayor poder endulzante de sus monómeros, lo que permitiría obtener productos más provechosos para la industria (Mammarella, 2001), ya que uno de los posibles usos es en bebidas funcionales de base láctea.

Existen varios procesos para lograr la hidrólisis de la lactosa. El método más utilizado en la industria es mediante enzimas solubles sin recuperación de las mismas. En este caso se utiliza β -galactosidasa o también llamada lactasa, que se obtiene a partir de microorganismos de diferentes géneros. El procedimiento es simple y no requiere de equipamiento especial, pero se deben considerar el costo de la enzima y los diferentes parámetros que la afectan, como el pH, temperatura, concentraciones iniciales de sustrato y enzima y fuerza iónica. En cuanto al estudio de la cinética de esta reacción se propone que la misma sigue el modelo de Michaelis-Menten y que a su vez existe inhibición de la reacción por competencia con el producto, ambas consideraciones presentan sus constantes cinéticas K_M y K_I respectivamente. Jurado *et al.*, revisaron los diferentes datos disponibles y consideraron que se podía asumir que la enzima tiene casi la misma afinidad por el sustrato que por el producto de la reacción. Esto implica que se puede formular un modelo que iguala la constante cinética K_M y K_I .

Como alternativa al método tradicional, puede efectuarse la hidrólisis utilizando fluidos en estado subcrítico. El agua subcrítica ha logrado aumentar su atención en la comunidad científica por su aplicación como solvente ambientalmente amigable y como medio de reacción atractivo para una variedad de aplicaciones. Es barato, no tóxico, no inflamable y no explosivo (King, 2000). Su comportamiento sumamente diferente en comparación al del agua en condiciones ambientales se debe a los cambios que sufren sus propiedades físicas, específicamente, su constante dieléctrica y producto iónico. El producto iónico alto indica que puede actuar potencialmente como un catalizador ácido o básico al aumentar significativamente la concentración de

iones hidronio y iones oxidrilos. Gracias a estas características se ha aplicado ampliamente a diversas reacciones de hidrólisis (Rogalinski *et al.*, 2008).

La principal diferencia de este método con el tradicionalmente usado, es que en un medio no nitrogenado ocurren otras reacciones además de la reacción de hidrólisis, tal como se muestra en la Fig. 1.

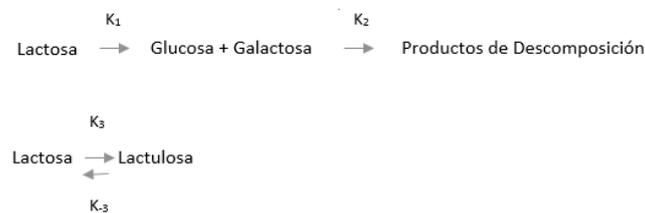


Fig. 1: Reacciones de la lactosa a alta temperatura

En efecto, ocurre una reacción en serie para la hidrólisis de la lactosa y posterior descomposición de sus monómeros, donde se pueden obtener productos ácidos y de caramelización. Por otro lado, también ocurre una reacción en paralelo donde se produce su isómero, la lactulosa. Todas ellas pueden ser asumidas como reacciones de primer orden (Soisangwan, 2017) y la principal reacción de interés, que es la hidrólisis, es endotérmica (Goldberg y Tewari, 1989).

Debido a las razones mencionadas anteriormente y la ventaja que significa deslactosar el permeado del suero, se estudió la conversión de lactosa comparando el método enzimático con el tratamiento en medio subcrítico, con el fin de evaluar las ventajas y desventajas de ambas alternativas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Método Enzimático

Se estudiaron los efectos del cambio de temperatura, pH y concentración inicial de enzima en la actividad de la lactasa. Esto se evaluó utilizando enzima Maxilact® (EC 3.2.1.23) producida por DSM Food Specialties. Esta lactasa purificada, es aislada de una cepa especial de la levadura láctea *Kluyveromyces marxianus var. lactis*, las condiciones óptimas de pH y temperatura para el desarrollo de su actividad son de 6,6-6,8 y 35-40°C respectivamente.

La enzima en cada ensayo fue incubada durante 150 minutos en 400 mL de permeado previamente pasteurizado para asegurar su estabilidad. El permeado fue proporcionado por la empresa La Lacteo S.A. (Córdoba, Argentina), donde el mismo es un subproducto del proceso de obtención de proteína concentrada de suero. Se evaluaron temperaturas de 30, 40 y 50 °C manteniendo el pH natural del permeado en 6 y con una concentración de 0,625 mL/L de lactasa. Por otro lado, se ensayaron los pH de 5,8, 6,7 y 7,15 a 30 °C con 1,25 mL/L de enzima. Por último, la concentración inicial de la enzima se varió en los siguientes valores: 2,5 mL/L, 1,25 mL/L y 0,625 mL/L, manteniendo una temperatura de 30 °C y pH 6.

En cada ensayo el permeado fue colocado en un erlenmeyer en baño termostático con agitador. El tiempo de reacción se comenzó a contar una vez que se introdujo la enzima, las muestras se tomaron a diferentes tiempos hasta

completar el tiempo de reacción. Para tomar las muestras se pipeteó cada vez, 10 mL, y se introdujeron en tubos de ensayo que luego fueron sumergidos en agua hirviendo durante 10 minutos para inactivar la enzima. Los ensayos de variación de pH se llevaron a cabo mediante la incorporación de un buffer $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$. Cada ensayo se evaluó por duplicado.

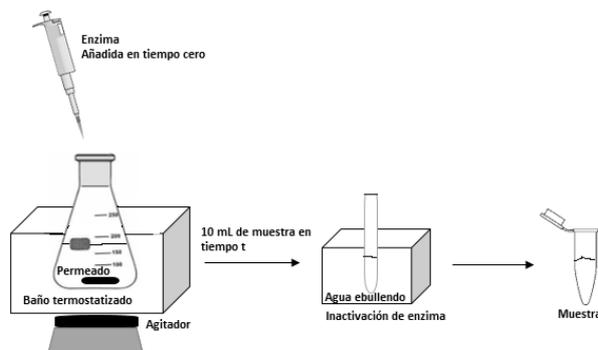


Fig. 2: Esquema experimental del método enzimático

Método en medio subcrítico

Para llevar a cabo la experimentación en condiciones subcríticas se procedió al montaje del siguiente sistema:

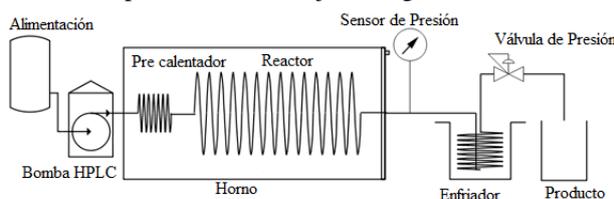


Fig. 3: Sistema de experimentación en condiciones subcríticas

La alimentación fue transportada a través del mismo por una bomba de pistón proveniente de un HPLC, capaz de generar flujos dentro de un rango de 0,1 a 9,9 mL/min. El fluido ingresó en primer lugar a un pre calentador para asegurar la temperatura de reacción y luego al reactor, ambos colocados dentro de un horno eléctrico que se configuró a la temperatura de ensayo. A la salida, y por fuera del horno se dispuso un intercambiador de calor sumergido en agua helada para producir el enfriamiento del fluido que permitió detener la reacción. Para la construcción de estos equipos se utilizaron tubos de acero inoxidable bajo la norma AISI 316. Se utilizó diámetro de 1/8 plg para los intercambiadores, y de 1/4 plg para el reactor. El volumen del reactor fue de 52,2 mL. El largo del pre calentador de 2,7 m y el del enfriador de 1,6 m. La presión del sistema se logró gracias a la utilización de una válvula de presión en el extremo posterior del mismo y para conocer dicha variable fue acoplado un sensor.

Se simuló una solución de permeado de lactosuero al 13 % (concentración mínima reportada) utilizando alfa lactosa monohidratada, para asegurar la concentración inicial y la solubilidad de la misma. El disacárido fue solubilizado en un buffer ajustado en pH 6,80 preparado con agua obtenida por destilación simple y conformado de la siguiente manera: K_2HPO_4 0,01 M, KCl 0,015 M, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,012 M y

Ácido Cítrico 0,001 M. Este medio de reacción es utilizado en ensayos similares publicados por Jurado *et al.*, 2002.

Los ensayos se llevaron a cabo a presiones de 70 bar. Se evaluaron 4 temperaturas diferentes: 150, 170, 180 y 190 °C y se ensayaron diversos tiempos de residencia que fluctuaron entre 2 mL/min y 9 mL/min (por minuto).

Seguimiento de la reacción

El avance de reacción fue medido en el caso de la hidrólisis enzimática a través de la medición de uno de sus productos, la glucosa, la cual fue mensurada con el método enzimático GOD/PAD que genera reacción colorimétrica para su medición en espectrofotómetro UV a 505 nm (Mammarella, 2001).

En cuanto al seguimiento de la reacción en medio subcrítico se midió de forma indirecta la concentración final de la lactosa (L2) a la salida del reactor. Para esto, se tomaron dos muestras del efluente, una de ellas se utilizó para la medición de glucosa (G2), mientras que en la otra alcuota la porción remanente de lactosa se sometió a hidrólisis completa utilizando la enzima Maxilact®. Para lograr una hidrólisis del 100 % se debió ajustar el pH de las muestras para que la enzima trabaje en condiciones óptimas, se utilizó una solución de KOH 0,01 N en cantidad suficiente para llegar a un pH de entre 6 y 6,5. Luego se colocó enzima en una concentración de 0,5 % y se llevó a temperatura de refrigeración durante 24 horas, se realizó en estas condiciones para evitar la descomposición microbológica de la muestra. Este método de hidrólisis al 100% se comprobó analizando la cantidad de glucosa antes y después en muestras con cantidad de lactosa conocida. Las muestras hidrolizadas fueron sometidas a medición de glucosa (G3) y por diferencia de este valor con el de las muestras sin hidrólisis enzimática, se calculó el equivalente de lactosa que contiene cada corriente efluente ensayada a través de la siguiente ecuación.

$$L2 = (G3 - G2) \cdot \frac{PM_{Lactosa}}{PM_{Glucosa}} \quad (1)$$

Además, con el fin de hacer un seguimiento de la formación de productos de descomposición de los azúcares se construyeron gráficas de cambio de pH con la temperatura y tiempo de residencia. También se realizaron mediciones de sólidos totales en función de la temperatura para un tiempo de residencia dado. Para esto se tomaron 5 mL de cada muestra y se llevaron a 105 °C en horno de secado durante 24 horas (Casajús y Sandrini, 2018). En todos los casos se tomaron muestras por duplicado y se tuvieron en cuenta en los resultados sus valores promedio.

Modelos cinéticos

El modelo que propone para la reacción enzimática la igualdad de las constantes K_M y K_I se comprobó a través del ajuste de los datos obtenidos a la siguiente regresión lineal que proponen Jurado *et al.*, 2002

$$\left[E^o \right]_t = -A \cdot \ln(1 - X) \quad (2)$$

Donde se grafica el producto entre la concentración inicial de enzima (E^0) y el tiempo de reacción (t) en función del logaritmo natural de uno menos la conversión (X).

En cuanto al método subcrítico, se utilizaron los datos obtenidos para conocer la constante cinética y orden de reacción para la reacción simplificada de la siguiente manera:

Lactosa \rightarrow Productos de descomposición

De esta manera, conociendo la concentración final e inicial de lactosa, el orden de esta reacción y las constantes cinéticas para las diferentes temperaturas se estimaron usando la herramienta Solver implementada en Microsoft® Excel 2016. Esta herramienta emplea una técnica de regresión no lineal para ajustar los parámetros de las ecuaciones cinéticas minimizando la suma de los residuos al cuadrado, es decir, la diferencia entre los datos de concentración-tiempo experimentales y teóricos. Se llevó a cabo el ajuste para reacciones de primer orden y orden n , con el fin de comparar qué modelo ajusta mejor.

Otra forma de comprobar el ajuste del modelo es verificar la variación de las constantes cinéticas con la temperatura a través de la ecuación de Arrhenius. De esta forma se graficaron las constantes cinéticas en función de la inversa de la temperatura para comprobar su adecuación con el ajuste lineal. Esto a su vez también permitió calcular la energía de activación de la reacción y el factor pre exponencial.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Método enzimático

En primer lugar, se muestra la influencia de la temperatura de reacción en la hidrólisis de lactosa con el método enzimático.

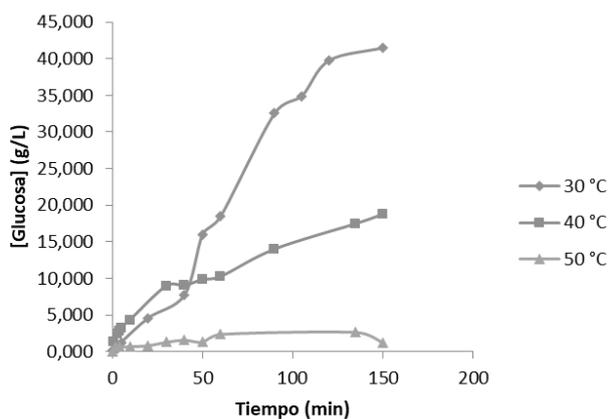


Fig. 4: Influencia de la temperatura en la reacción enzimática

Los datos nos permiten establecer que la temperatura de 30 °C es aquella que da mejores porcentajes de hidrólisis, coincidiendo con estudios anteriores para la enzima (Mammarella, 2001). A 40 °C la actividad de la enzima es superior hasta los 40 minutos, esto se debe a que es una temperatura que entre en el límite de las condiciones óptimas de la misma, sin embargo, no presenta estabilidad en el tiempo. Por último, se comprueba que a 50 °C la enzima tiene muy poca actividad ya que no está en sus

condiciones óptimas. La pérdida de actividad en ambos casos es atribuible a una desnaturalización de la lactasa debido a la relación temperatura/tiempo a la que es sometida. Si tomamos los puntos máximos de las curvas y aplicamos la conversión a lactosa equivalente para conocer el porcentaje de hidrólisis alcanzado (teniendo en cuenta la concentración inicial de lactosa de 130 g/L) tendremos que: con 30 °C se alcanza 60,6 % de hidrólisis, con 40 °C 27,37 % y con 50 °C apenas 3,87 %.

Una vez determinada esta variable, los ensayos posteriores se realizaron a 30 °C. A continuación, se varió la concentración inicial de la enzima, trabajando con el pH del permeado. La Fig. 5 muestra que utilizando una concentración de enzima de 0,625 mL/L se obtiene 60,60 % de hidrólisis de lactosa. Duplicando la cantidad de enzima a 1,25 mL/L se obtiene el mayor porcentaje de hidrólisis, siendo esta del 72,36 %. Si se duplica la concentración de enzima a 2,5 mL/L los resultados son similares al valor anterior siendo del 70,54 %. La similitud entre estas curvas se observa superado los 40 minutos, pero al comienzo se obtiene mayor hidrólisis para la concentración de 1,25 mL/L, lo cual puede ser atribuible a una falta de consistencia en la toma de datos, ya que para la concentración de 2,5 mL/L se cuenta con un único punto entre 0 y 40 minutos. Se puede decir en consecuencia que con una concentración de 1,25 mL/L se consigue la máxima actividad de la enzima para esa cantidad de sustrato, por lo que duplicar su concentración no resulta recomendable.

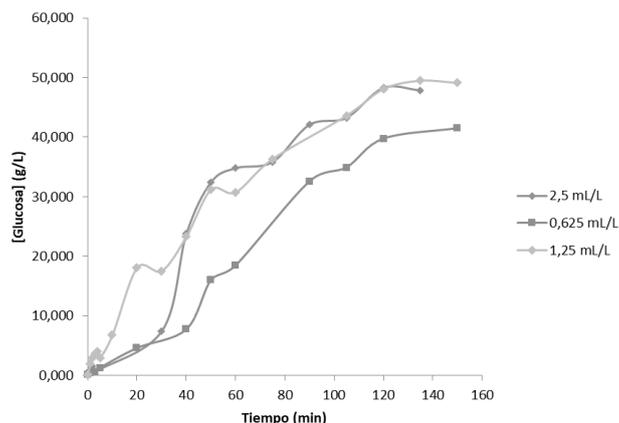


Fig. 5: Influencia de la concentración inicial de enzima en la reacción enzimática

Por último se varió el pH del medio, utilizando una temperatura de 30°C y concentración de enzima de 1,25 mL/L. La Fig. 6 muestra que el pH óptimo es de 6,7, siendo el grado de hidrólisis alcanzado 72,36 %, obteniéndose de esta manera la conversión más alta para el método enzimático en 135 minutos. Con un pH de 5,8 (pH natural del permeado) se alcanza 68,83 % de hidrólisis y con un pH de 7,15, 67,44 %. De esta forma se determina que es necesario corregir el pH del permeado para que la actividad enzimática sea mayor. Sin embargo, en caso de no modificarlo y manteniéndolo en 5,8, se pierde un porcentaje de 3,53 % de hidrólisis. Esta pequeña diferencia lleva a considerar si es realmente conveniente modificar el pH, introduciendo un paso más en el proceso y elevando el costo.

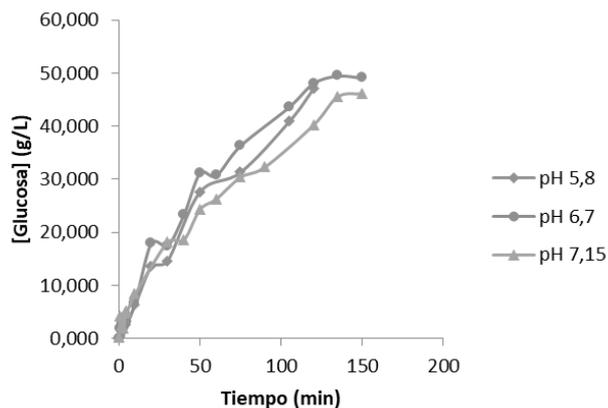


Fig. 6: Influencia del pH en la reacción enzimática

Con los datos de este último ensayo se estudió el ajuste al modelo cinético propuesto, obteniendo resultados que permiten decir que hay congruencia con el mismo debido a que la regresión lineal arroja resultados para el R^2 próximos a uno como se puede ver en la Fig. 7.

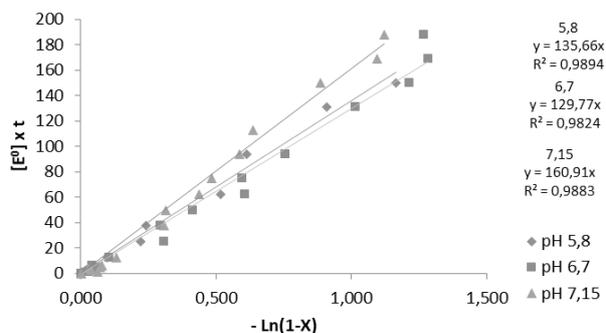


Fig. 7: Ajuste del modelo cinético $K_M=K_I$

El no haber llegado a una hidrólisis del 100 % lleva a hacer algunas consideraciones. Si bien la enzima puede hidrolizar la lactosa al 100 % en matrices lácteas que presentan hasta 5 % de lactosa (DSM Food specialties, 1889), las muestras utilizadas tenían una concentración del 13 %. Se podría suponer que no se llega a la totalidad de la hidrólisis debido a una saturación de la enzima, pero esta suposición no resulta avalada por los datos experimentales al haber encontrado que, con el doble de concentración inicial de enzima, se llegó a las mismas conversiones. Por otro lado, se pudo comprobar que los resultados de los ensayos concuerdan con los modelos cinéticos propuestos por estudios anteriores, lo que permite tener confianza en la consistencia de la serie de datos obtenidos. Otra suposición factible es que la estructura morfológica de los cristales cambia con la temperatura del medio, debido al equilibrio que existe entre las formas isoméricas de la lactosa alfa y beta. Ya que el medio tenía gran presencia de cristales insolubles, que con el calor de la pasteurización se disolvían, pero luego, a pesar de las condiciones de agitación y temperatura, con el paso del tiempo de reacción iban reapareciendo, por lo que, al no estar solubles, no quedan disponibles para la enzima. Esto no fue notable a la hora de tomar las muestras, las cuales eran homogéneas, pero se observaba al desagotar el contenido del enlenmeyer

la formación de pequeños cristales en las paredes del mismo. Entonces se puede decir que el sistema de reacción presentó interferencias tales que no permitieron mantener su homogeneidad constante.

Método en medio subcrítico

La Fig. 8 representa el porcentaje de lactosa que no pudo ser descompuesta después de su paso por el reactor. El mejor valor alcanzado es de 0,27 con un tiempo de residencia de 1491,43 segundos a 180 °C. Es decir que en esas condiciones se alcanza una conversión del 73 % de la lactosa inicial. Debido a la tendencia de las curvas, si se hubiera ensayado este tiempo de residencia para una temperatura de 190 °C se puede suponer que se hubieran logrado conversiones mayores. Sin embargo, empíricamente se observó que a mayor temperatura se producía mayor formación de compuestos sólidos y coloreados debido a reacciones de caramelización, por lo cual existe un límite práctico debido a que esos sólidos producen taponamiento del reactor.

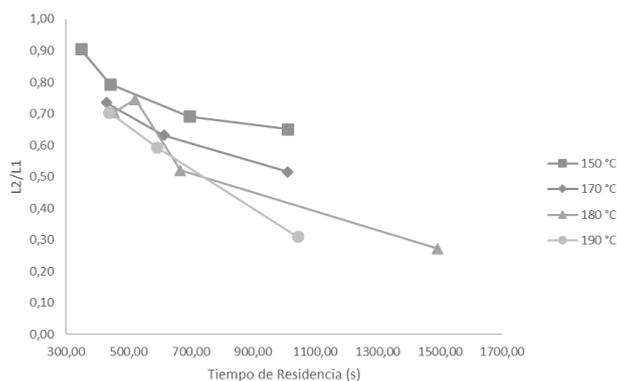


Fig. 8: Fracción remanente de lactosa en función del tiempo de residencia en el método en medio subcrítico

En cuanto a los productos de descomposición y en concordancia con lo esperado, a mayor tiempo de residencia y mayor temperatura, el pH tiene mayor caída, debido a que se forman compuestos ácidos y aumentan su concentración. La Fig. 9 muestra que el valor más bajo es de 2,5 y se registra a 1044 segundos con 190 °C.

Para el seguimiento de la formación de compuestos volátiles, la medición de la fracción de sólidos totales recuperables se muestra a un único tiempo de residencia que fue el valor intermedio de los ensayados, es decir 626,4 segundos, ya que no varía el resultado significativamente con el tiempo de residencia, pero sí con la temperatura. De esta forma, se pierde mayor cantidad de compuestos al aumentar la temperatura. A 190 °C se recupera 76 % de los sólidos totales, lo que indica que se forma 24 % de compuestos volátiles de descomposición.

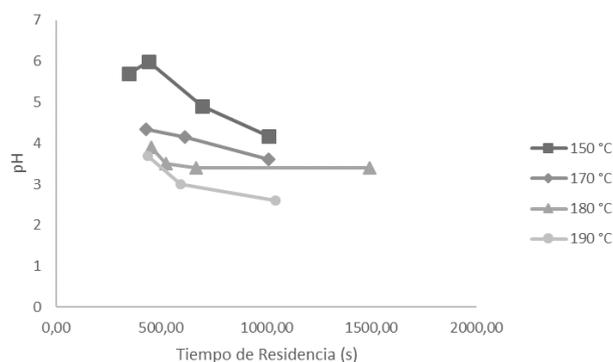


Fig. 9: Evolución del pH en función del tiempo de residencia en el método en medio subcrítico

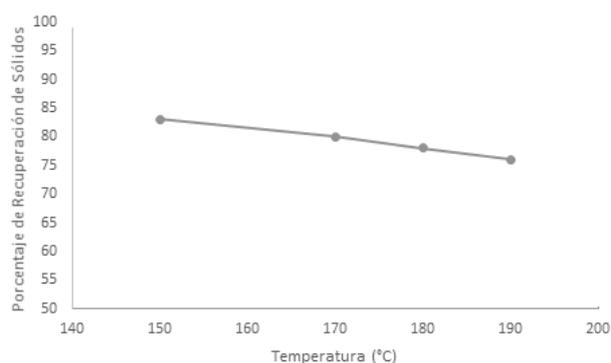


Fig. 10: Recuperación de sólidos en función de la temperatura de reacción.

En la búsqueda de los parámetros cinéticos se comprobó que los dos modelos propuestos ajustan de manera muy similar, ya que la suma de cuadrados de los residuos difiere apenas por una unidad en la milésima, como se muestra en la tabla 1. Calculando el n para el orden diferente de uno, da un valor de 0,93 por lo que es cercano a una reacción de primer orden. Los valores obtenidos para las diferentes $k(T)$ son similares a los mostrados en la bibliografía consultada, siendo $8,29 \cdot 10^{-4}$ para $190 \text{ }^\circ\text{C}$ (Oomori, Khajavi, Kimura, Adachi, & Matsuno, 2004).

Por otro lado, se comprueba que el modelo con orden n ajusta mejor a la regresión lineal de la ecuación de Arrhenius, ya que su R^2 se aproxima más a 1. Esto permite corroborar que el orden de reacción es igual a 0,93. De la regresión de este modelo se obtiene un valor para el factor pre exponencial de $4,71 \text{ s}^{-1}$ y para la energía de activación $3,28 \cdot 10^4 \text{ J/mol}$.

TABLA 1: RESULTADOS DE LA REGRESIÓN NO LINEAL MEDIANTE EL USO DE SOLVER.

	Orden n	Orden 1
N	0,93	1
$k_{150^\circ\text{C}}$	$4,25 \cdot 10^{-4}$	$4,64 \cdot 10^{-4}$
$k_{170^\circ\text{C}}$	$6,29 \cdot 10^{-4}$	$6,86 \cdot 10^{-4}$
$k_{180^\circ\text{C}}$	$7,84 \cdot 10^{-4}$	$8,68 \cdot 10^{-4}$
$k_{190^\circ\text{C}}$	$9,49 \cdot 10^{-4}$	$1,05 \cdot 10^{-3}$
Suma de cuadrados de los residuos	0,068	0,069

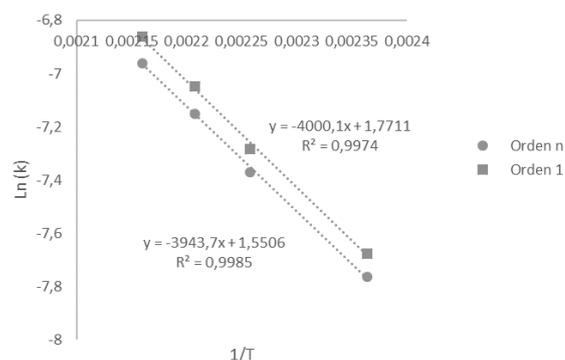


Fig. 11: Linealización de la ecuación de Arrhenius para las constantes cinéticas obtenidas

Es necesario establecer algunas consideraciones en cuanto a los límites prácticos que se produjeron en la experimentación subcrítica. Durante la misma se comenzó ensayando 3 tiempos de residencia diferentes operando desde la temperatura más baja $150 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta llegar a $190 \text{ }^\circ\text{C}$. El problema se dio cuando a $190 \text{ }^\circ\text{C}$ se produjo caramelización y el reactor se obturó por la formación de sólidos aglutinados en el fluido. Luego de que esto sucediera, fue casi imposible volver a operarlo. Es por esta razón que no se tienen más puntos para las curvas a cada temperatura. Se sabe que con esta escasa cantidad de puntos es poco recomendable hacer estimaciones y buscar parámetros que justifiquen el comportamiento del sistema. Por otro lado, se debe tener en cuenta que la concentración final de lactosa fue medida de forma indirecta, con un método que implica una reacción enzimática, donde se confía en la actividad de esta enzima que es informada por su ficha técnica, pero que dista de la confianza que un método analítico verificado y validado puede brindar. Sin embargo, se encontraron valores semejantes a los reportados por otras investigaciones, lo que permitió tomar la decisión de trabajar con las constantes cinéticas propias para el diseño del reactor.

Comparación de los métodos

Con los resultados reportados se puede realizar la comparación de los dos métodos aplicados al medio de estudio, el permeado de lactosuero. Ambas logran similares conversiones de lactosa siendo la mayor conversión alcanzada de 73 % para la descomposición en medio subcrítico y 72,36 % para la hidrólisis enzimática. Sin embargo, se debe tener en cuenta dos puntos claves, el tiempo y los productos secundarios.

Desde el punto de vista del tiempo, el mejor método es el subcrítico ya que estas conversiones se logran en 24,86 minutos (siempre y cuando el reactor esté funcionando en régimen estacionario) mientras que la hidrólisis enzimática lo logra en 135 minutos. Además, al tratarse de un proceso continuo, éste se encuentra exento de los tiempos muertos que existen en un sistema en batch. Por otro lado, si se tiene en cuenta la formación de productos de descomposición, como bien se sabe, el método enzimático es muy específico, mientras que en el método en condiciones subcríticas se generan muchos compuestos secundarios, como quedó demostrado a través de la medición indirecta de lactosa remanente, del pH y sólidos totales.

En cuanto a los costos de ambos procesos, se necesita de un estudio más exhaustivo para compararlos con exactitud, pero lo que se puede inferir es que el método enzimático requiere de una constante incorporación de enzima, y la corrección de pH del permeado a 6,7; mientras que el método subcrítico solo requeriría de una inversión inicial en el equipo. Sin embargo, esta inversión es elevada ya que se trata de un equipo que trabaja a altas temperaturas y presiones y con agua que aumenta sus propiedades corrosivas en estas condiciones, lo que genera la utilización de materiales más costosos. Ambos tienen consumo energético para lograr las temperaturas de reacción, pero, aunque el método subcrítico necesite una temperatura 6 veces mayor (180 °C contra 30 °C), logra el mismo resultado en un tiempo 5,43 veces menor.

CONCLUSIÓN

En el presente trabajo, se obtuvo una conversión máxima de lactosa en permeado de queso cercana al 73 % por ambos métodos ensayados. Estos resultados son satisfactorios si se considera que el nivel de reducción en los productos reducidos en lactosa disponibles en el mercado es de 80 %.

Si bien los niveles de deslactosado fueron similares, se considera que las condiciones más favorables se obtuvieron para el equipo subcrítico, al llevar menos cantidad de tiempo para lograr el mismo objetivo y no requerir de otros insumos. Sin embargo, el problema de esta alternativa es la generación de los productos de descomposición. Estas reacciones que se agrupan bajo el concepto de caramelización se utilizan usualmente en la gastronomía pero entre las sustancias que potencialmente se generan se encuentra el hidroximetilfurfural, la cual presenta un cierto nivel de toxicidad, por lo cual se debería realizar un estudio más exhaustivo sobre cuáles y en qué cantidad se generan los subproductos para saber si son compatibles con los límites de ingesta diaria para una persona.

Para determinar si es posible un real aprovechamiento de este subproducto de la industria láctea, a través de alguno de los métodos, es necesario profundizar estudios en dos aspectos: la totalidad de los costos y la medición de compuestos del efluente del reactor. Sólo de esta forma se podría determinar si es realmente utilizable como bebida en la industria alimenticia.

Finalmente, podemos concluir que los resultados aquí presentados son el primer paso que permite afirmar que se puede conseguir el deslactosado del permeado por ambos métodos, y que funda cimientos para subsiguientes estudios que permitan conocer con más detalle el producto, los procesos, la viabilidad económica de los mismos, entre otros.

REFERENCIAS

[1] Berg, H. E. y Van Boekel, M. a. J. S. (1994) "Reaction of lactose during heat treatment of milk" en *Neth Milk Dairy Journal*.

[2] Casajús y Sandrini (2018) "Diseño de un reactor continuo para la hidrólisis de lactoalbúmina con agua subcrítica" Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.

[3] DSM Food specialties (1889) "Maxilact ® Lactasa: aplicación en leche y suero de leche."

[4] E. Jurado*, F. Camacho, G. Luzón, J. M. V. (2002) "A new kinetic model proposed for enzymatic hydrolysis of lactose by a -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*" en *Enzyme and Microbial Technology*, vol 31, pp. 300–309.

[5] Fogler, H. S. (2008), *Elementos de Ingeniería de las Reacciones Químicas*, Editorial: Pearson Educación, México, DF.

[6] Goldberg, Robert N, y B Tewari. (1989) "A Calorimetric and Equilibrium Investigation of the Hydrolysis of Lactose" en *The Journal of biological chemistry*, vol. 264, pp. 9897–9900.

[7] Haghghat Khajavi, S. et al. (2005) "Kinetics on disaccharide decomposition in subcritical water", en *LWT - Food Science and Technology*, vol. 38(3), pp. 297–302.

[8] Kees Daamen y Ardy van Erp (2010). "Entender la intolerancia a la lactosa en América Latina". Tomado de: <http://www.alimentacion.enfasis.com/articulos/16347-entender-la-intolerancia-la-lactosa-america-latina> (Acceso: 10 marzo 2019)

[9] King J. W, (2000) "Advances in critical fluid technology for food processing" en *Food science and technology today*, vol. 14, pp 186-191.

[10] Levenspiel, O. (2004), *Ingeniería de las reacciones químicas*, Editorial: Limusa Wiley., México DF,

[11] Mammarella, E. J. (2001) "Estudio del sistema de inmovilización de enzimas para la hidrólisis de lactosa." Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (UNL-CONICET).

[12] Muset, Graciela Castells, M. L. (2017) *Valorización del lactosuero*. Tomado de: <https://www.inti.gov.ar/lacteos/pdf/lactosuero.pdf> (Acceso: 15 August 2018).

Mammarella, E. J. (2001). *Estudio del sistema de inmovilización de enzimas para la hidrólisis de lactosa*. Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (UNL-CONICET).

Oomori, T., Khajavi, S. H., Kimura, Y., Adachi, S., & Matsuno, R. (2004). Hydrolysis of disaccharides containing glucose residue in subcritical water, *18*, 143–147. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2003.08.002>

[13] Rogalinski, T. et al. (2008) "Hydrolysis kinetics of biopolymers in subcritical water", en *Journal of Supercritical Fluids*, vol. 46, pp. 335–341.

[14] Soisangwan, N. et al. (2017) "Production of lactulose from lactose in subcritical aqueous ethanol", en *Journal of Food Process Engineering*, vol. 40, pp. 2–7.