

Estudio del escalado de la producción de fructooligosacáridos (FOS) a nivel industrial en la planta de sorbitol

Odalys Capote-Peña¹, Enrique R. Pérez-Cruz², Alejandro Fonte-Pérez^{1*}, Marlen C. Alfonso-Lorenzo¹, Arodis Caballero-Núñez¹, Ángel Joseph-Marshall³, Erduin Luis-Delgado¹, Ramón Consuegra-del Rey¹, Yordanis Martínez-Pereira¹, Guillermo A. González-Pedroso¹

1. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (Icidca).
Via Banca 804 y Carretera Central. San Miguel del Padrón, La Habana, Cuba.
* alejandro.fonte@icidca.azcuba.cu
2. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB).
Ave. 31 e/ 158 y 190, Cubanacán, Municipio Playa, La Habana, Cuba.
- 3 Planta de Sorbitol, UEB Ignacio Agramonte, Calle San Carlos No. 298, Florida, Camagüey.

RESUMEN

El proyecto concibió el estudio del escalado de la producción de sirope de fructooligosacáridos (FOS) en la planta de sorbitol ubicada en la UEB Ignacio Agramonte, perteneciente a la Empresa Azucarera Camagüey. Se definieron las condiciones de síntesis y purificación de los fructooligosacáridos, utilizando la enzima recombinante 1-SST patentada por el CIGB SS. Para ello se realizó una prueba industrial donde se produjeron tres lotes, cada uno de 5 m³ de FOS mezcla, comprobándose que con el equipamiento tecnológico de la planta actual se puede llevar a cabo la producción de dicho producto, permitiendo diversificar esta industria con un nuevo producto de alto valor. Se comparó la calidad de los lotes con productos similares (FOS mezcla, producido por la empresa china Quantum Hitech Biotecnology y lotes producidos por el ICINAZ) donde los parámetros físico-químicos y las composiciones de los tres lotes que se produjeron son similares a los comercializables.

Palabras clave: fructooligosacáridos, enzima recombinante 1-SST, síntesis, purificación.

ABSTRACT

The project conceived the study of the scaling of the production of fructooligosaccharides syrup (FOS) in the Sorbitol plant located in the UEB Ignacio Agramonte, member of the Camagüey Sugar Company. The conditions of synthesis and purification of the FOS were defined using the recombinant enzyme 1-SST patented by the CIGB SS. For this, an industrial test was carried out where three batches each of 5 m³ of FOS mixture were produced, verifying that with the technological equipment of the current plant it can be carried out, the diversification of this industry with a new high value product. The quality of the lots is compared with similar products (FOS mix produced for the Chinese company Quantum Hitech Biotecnology and lots in the ICINAZ) where the physical-chemical parameters and the compositions of the three lots that are produced are similar to the marketable ones.

Key words: fructooligosaccharides, recombinant enzyme 1-SST, synthesis, purification.

INTRODUCCIÓN

Los últimos años han supuesto un cambio en los conceptos básicos de la nutrición humana, hasta ahora la idea tradicional de una “dieta adecuada” estaba referida únicamente al aporte de nutrientes suficientes para asegurar la supervivencia de un individuo, cubrir sus necesidades metabólicas y nutri-

tivas. En la actualidad, se presta una mayor atención a la potencialidad de ciertos alimentos para promover la salud, mejorar el bienestar físico y reducir el riesgo de contraer enfermedades. Así, el concepto de “nutrición adecuada” tiende a ser sustituido por el de “nutrición óptima”, en cuyo ámbito aparecen los alimentos funcionales, encontrándose entre ellos los prebióticos (1).

Dentro los diferentes prebióticos se destacan, como uno de los más funcionales, los fructooligosacáridos (FOS), por cumplir con todos los criterios de clasificación y seguridad alimentarias (2). Estos son oligofruktosas que tienen un grado de polimerización bajo (menos de 9 unidades de fructosa) y que debido a los enlaces “á” entre las moléculas, no son atacados por las enzimas digestivas del estómago ni del intestino delgado. De esta manera llegan al intestino grueso promoviendo el crecimiento de la flora probiótica intestinal, funcionando como sustrato metabólico (3, 4). Al ser ingeridos, los FOS se desplazan por casi todo el tracto digestivo sin ser modificados y cuando llegan al colon, son fermentados por bacterias de la microflora intestinal (probióticos) para producir ácido láctico y ácidos grasos de cadena corta (SCFA), butirato, propionato y acetato, principalmente, los cuales disminuyen el pH del colon e imposibilitan así la multiplicación de bacterias putrefactivas y perjudiciales. Estos agentes han sido vinculados con la mejora de la asimilación del calcio y del metabolismo de los lípidos, el fortalecimiento y modulación de la respuesta del sistema inmunológico, la prevención de infecciones gastrointestinales y la reducción del riesgo de desarrollar algunos tipos de cáncer, en particular el de colon (4, 5). Los FOS son ampliamente utilizados como aditivos edulcorantes porque aportan aproximadamente, un tercio del dulzor de la sacarosa, es decir, que añadidos a diferentes alimentos brindan una combinación de dulzor y bajo aporte calórico (1.5 kcal/g) comparados con los carbohidratos digeribles (4 kcal/g) (4, 6).

Estos se encuentran presentes de forma natural en multitud de alimentos vegetales, aunque en cantidades pequeñas. Algunos de los alimentos con mayor contenido en FOS son frutas como los plátanos, verduras como las alcachofas, los espárragos o las cebollas, y cereales como el trigo o la cebada. Cabe resaltar que su concentración en estas fuentes es baja y la producción en masa está limitada por las condiciones estacionales (6).

Actualmente la producción industrial del FOS se realiza mediante dos estrategias: degradación parcial de inulina o síntesis enzimática a partir de la sacarosa con el empleo de enzimas con alta actividad transfructosilasa. Ambas tecnologías dan lugar a una mezcla de FOS cuyos principales componentes son 1-kestosa, nistosa, fructosa, glucosa y sacarosa, siendo los dos primeros componentes los de mayor interés comercial por su doble efecto edulcorante hipocalórico y suplemento prebiótico, así como su posible uso para el consumo en diabéticos (5, 6).

El proyecto concibió el estudio del escalado de la producción de sirope de fructooligosacáridos (FOS) en la planta de sorbitol ubicada en la UEB Ignacio Agramonte, perteneciente a la Empresa Azucarera Camagüey.

MATERIALES y MÉTODOS

Descripción del proceso tecnológico para las etapas de síntesis y de purificación

La tecnología de elaboración de este prebiótico en forma de sirope, está basada esencialmente en la transformación enzimática de la sacarosa en fructooligosacáridos (FOS). La operación se realizó a través de un biocatalizador conformado por 1-SST (1-sacarosa: sacarosa fructosiltransferasa) que es una enzima libre recombinante expresada en *Pichia pastoris*. El biocatalizador se produjo en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Sancti Spiritus en virtud de la licencia de seguridad biológica con permiso CH47-P (90/ 09) y número de patente WO 2014/044230 “Método de obtención de 1-kestosa”.

Durante la etapa de síntesis del producto, un licor de sacarosa a 50 °brix se puso en contacto con el biocatalizador en el reactor de hidrogenación catalítica de glucosa en el proceso de producción de sorbitol, el cual tiene control de temperatura y se logró mantener la solución homogénea a través de un mezclado por recirculación por bombeo. La mezcla de reacción se mantuvo con agitación durante un período de 10-24 h bajo condiciones controladas, a temperatura de 45 °C y a pH 5.5-6.0. Una vez obtenido el FOS mezcla en la etapa de síntesis fue necesario purificar el producto de manera tal que alcanzase parámetros físico-químicos semejantes a los productos comerciales y que además permitiera su conservación. Para ello se desminó a flujo de 3.5 m³/h utilizando 3 columnas en serie: resinas catiónicas (C 504), aniónicas (A 505) y lechos mezclados (LM 506). Posteriormente se trató con una mezcla de carbón activado y tierra filtrante y se pasó por un filtro a presión con placas verticales. La filtración se llevó a cabo a flujo de 2.3 m³/h, lográndose parámetros de calidad establecidos de pH=5-7, brix ≥ 45°, color= 0 y conductividad ≤ 2 μS/cm. A continuación, se concentró por evaporación a 60 °C hasta alcanzar valores de 75-78 % de sólidos solubles pasando a través de un evaporador de “película descendente” con flujo de entrada entre 2-2.4 m³/h. Finalmente, el sirope obtenido se envasó en tanques de polietileno de alta densidad y se mantuvo a temperatura ambiente en un lugar fresco hasta su uso.

Determinación de las condiciones de síntesis del FOS mezcla

Análisis del efecto de la temperatura en la velocidad inicial de la reacción enzimática

Con el objetivo de estudiar el efecto de la temperatura en la actividad transfructosilasa de la enzima 1-SSTrec, se prepararon mezclas de reacción que contenían sacarosa 600 g/L en tampón acetato de

sodio 0.1 M; pH=5.5 y 6000 U/L de enzima en volumen final de 10 ml. Las mezclas de reacciones se incubaron por 30 minutos y manteniendo una agitación de 100 rpm a temperaturas entre 30 y 70 °C a intervalos de 5 °C. Las reacciones se detuvieron incubando a 100 °C durante 5 minutos y se determinó la concentración de 1-kestosa presente en las mezclas de reacción por HPLC (7).

Análisis del efecto del pH en la velocidad inicial de la reacción enzimática

El pH puede tener influencia tanto sobre la actividad como en estabilidad enzimática de la 1-SSTrec. Para analizar el efecto del pH en la actividad de la 1-SSTrec se disolvió la sacarosa 600 g/L en 0,1 M de tampón acetato de sodio a los pH 4, 4.5, 5 y 5.5 y 0.1 M de tampón fosfato de sodio a los pH de 6, 6.5, 7, 7.5 y 8 y se procedió a hacer mezclas de reacción en proporciones similares al ensayo de actividad y manteniendo constante la concentración de enzima (7).

Análisis del efecto de la concentración inicial de enzima y sustrato (E/S) en la velocidad inicial de la reacción enzimática y en la producción de FOS

Se realizaron ensayos para conocer el efecto de la concentración inicial de enzima y de sustrato (sacarosa) en la velocidad inicial de reacción. En el caso del efecto de la concentración de enzima se ensayó la velocidad inicial de la reacción a concentraciones de enzima entre 750-9000 U/L en 600 g/L de sacarosa inicial a 45 °C, 100 rpm, pH 5.5 en tampón acetato de sodio 0.1 M. Las reacciones se detuvieron a los 10 minutos calentando una muestra a 100 °C durante 5 minutos. Las muestras o sus diluciones se analizaron por el método DNSA. Por otra parte, para conocer la influencia de la concentración inicial de sustrato en la producción de FOS, se ensayó la cinética de reacción durante 7 horas a 40 °C, 100 rpm, 0,1 M de acetato de sodio pH 5,5 en el intervalo de concentración de sacarosa 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 y 800 g/L (342-2339 mmol/L), manteniendo constante la relación cantidad de enzima por gramo de sustrato (RE/S= 5U/g sacarosa). Se tomaron muestras cada 1 hora y se incubaron a 100 °C durante 5 minutos para detener la reacción. Las muestras fueron analizadas por HPLC (7).

Producción de sirope de fructooligosacáridos (FOS) a escala industrial en la planta de sorbitol

Una vez identificadas experimentalmente las condiciones de máxima productividad se procedió a evaluar las condiciones existentes actualmente en la planta de sorbitol para realizar la síntesis de FOS. La evaluación permitió constatar que en la planta se dispone de equipamiento tecnológico para la preparación de la materia prima (dilución de sacarosa y filtración), así como para el refinado, pulido y con-

centración después de las síntesis a través de operaciones de intercambio iónico, filtración con carbón activado y evaporación por película descendente (8, 9). Para la etapa de síntesis no se cuenta con un reactor tipo tanque agitado enchaquetado con control de temperatura empleado para dicha reacción (10, 11). Ante esta situación se propuso evaluar la síntesis FOS en el reactor de hidrogenación catalítica de glucosa en el proceso de producción de sorbitol el cual tiene control de temperatura y se logra mantener la solución homogénea a través de un mezclado por recirculación por bombeo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influencia de las variables ambientales en la actividad enzimática de la 1-SSTrec

Influencia de la temperatura en la velocidad inicial de la reacción enzimática

Los resultados obtenidos se muestran en la figura 1 donde se evidencia que la temperatura óptima de reacción se encuentra entre 40 y 50 °C.

La temperatura óptima de una fructosiltransferasa puede ser muy variable en dependencia de su origen. Las fructosiltransferasas provenientes de plantas presentan temperaturas óptimas entre 30 y 40 °C (12- 15). Sin embargo las fructosiltransferasas de hongos como *Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus japonicus* y *Aspergillus niger*, presentan temperaturas óptimas superiores que pueden oscilar entre 50 y 65 °C (16- 18).

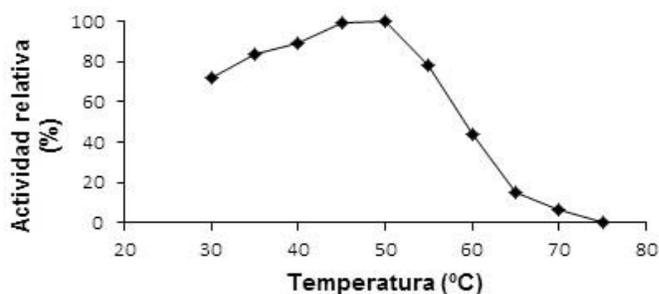


Figura 1. Influencia de la temperatura sobre la actividad de la enzima 1-SSTrec.

Influencia del pH en la velocidad inicial de la reacción enzimática

En las condiciones ensayadas se obtuvo que el pH óptimo para la 1-SSTrec se encuentra entre 5 y 6, pues según la comparación de medias por la prueba de Student-Newman-Keuls, ($p \leq 0.05$) no existía diferencia significativa entre los valores de glucosa liberada a estos valores de pH, siendo pH 5.5 la condición de mayor actividad. Los resultados obtenidos se muestran en la figura 2.

Estos resultados coinciden con los obtenidos

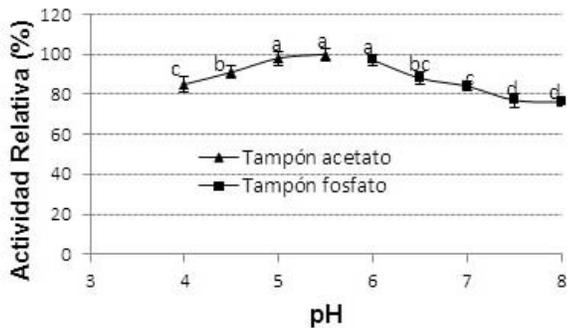


Figura 2. Efecto del pH en la actividad enzimática de la 1-SSTrec.

para otras 1-SST de plantas como la de cebolla (19), alcachofa de Jerusalén (20) y el trigo (19).

Influencia de la concentración inicial de E/S en la velocidad inicial de la reacción enzimática y en la producción de FOS

Para estudiar el efecto de la concentración sustrato se ensayó la velocidad inicial de la reacción a concentraciones de sacarosa inicial entre 100-800 g/L y concentración enzima de 6000 U/L a 45 °C, 100 rpm, pH 5.5 en tampón acetato de sodio 0.1 M. En la figura 3 se observa que con el aumento de la concentración inicial de sacarosa desde 294 hasta 1460 mM aumenta progresivamente la velocidad inicial. A partir de esta concentración la velocidad se mantiene aproximadamente constante. Estos resultados muestran un inusual comportamiento a los reportados para la mayoría de las fructosiltransferasas de hongo (20- 21); pues la velocidad máxima se alcanza a altas concentraciones de sacarosa y a partir de ese punto no decrece. Por lo cual, ni el mecanismo de Michaelis-Menten, ni el mecanismo de inhibición por sustrato son una interpretación acertada para la interacción enzima-sustrato.

La influencia de la concentración inicial de sustrato en la producción de FOS se puede observar en la figura 4. Como se muestra todas las cinéticas mostraron un curso temporal de la reacción similar, a pesar de que las conversiones para un mismo tiempo no se comportaron de igual modo. Los perfiles de productos se caracterizan por la formación de 1-kestosa y la liberación de glucosa como únicos productos de la reacción hasta alcanzar aproximadamente un 65-70 % de conversión de la concentración inicial de sustrato. A conversiones entre 70 - 80 % se observa la aparición de nistosa, la que aumenta discretamente con el avance de la reacción. No se observó presencia de fructosa en ninguna de las cinéticas ensayadas hasta las 7 horas de reacción. Se observó que la conversión aumenta con el incremento de la concentración de sacarosa en el intervalo de 100-600 g/L y a partir de este valor disminuye. Este comportamiento se debe a la desactivación térmica de

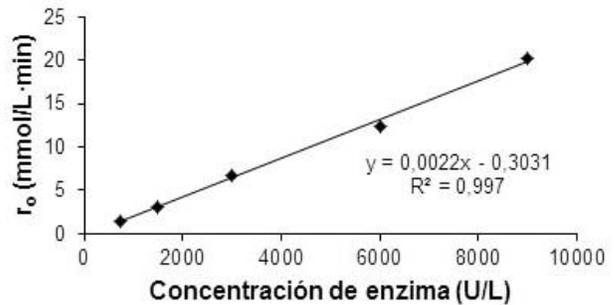


Figura 3. Efecto de la concentración inicial de enzima en la velocidad inicial donde (♦) representa la media de tres experimentos y (-) representa la línea de tendencia.

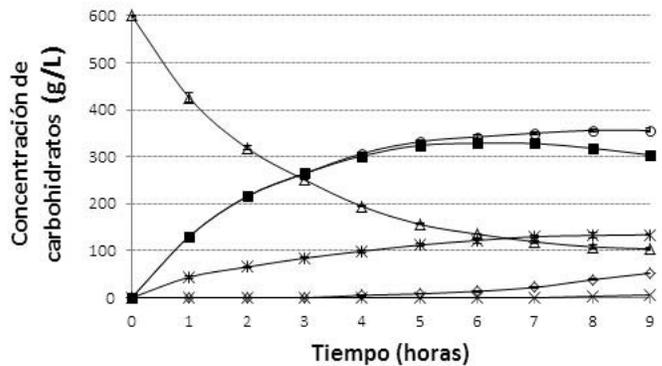


Figura 4. Curso temporal de la reacción catalizada por la 1-SSTrec a 600 g/L de sacarosa inicial en 0,1 M de tampón acetato de sodio pH 5.5, 40 °C, y 100 rpm. Los datos representan las medias de tres experimentos ± la desviación estándar y los símbolos (Δ) sacarosa, (□) 1-kestosa, (◇) nistosa, (x) glucosa, (*) Fructosa, (o) FOS totales.

la enzima combinada con el efecto termoprotector de la sacarosa, el que se incrementa con el aumento de la concentración de la misma. Esta composición de 1-kestosa en la mezcla de reacción donde la concentración de FOS se hace máxima, es una cuota de rendimiento y concentración no alcanzada por ningún otro biocatalizador de los reportados en la literatura cuando reaccionan a concentraciones iniciales de sacarosa superiores a 480 g/L. Los rendimientos típicos de 1-kestosa no superan la barrera del 38 % en mezclas de reacciones producidas por biocatalizadores generados a partir de enzimas fúngicas y cuyo contenido de FOS es de 55-60 % (7, 22).

A manera de resumen se puede decir que la producción de FOS a partir de la sacarosa catalizado por la 1-SSTrec alcanza rendimientos máximos en el intervalo de 55-60 % de conversión, siendo la 1-kestosa el compuesto más representado en más de un 50 % del total de productos de la mezcla reacción. La mayor productividad en la obtención de 1-kestosa se alcanza a las condiciones de: concentración de sacarosa 600 g/L, pH 5,5, temperatura de 45 °C y velocidad de agitación de 100 rpm y la mayor con-

Tabla 1. Caracterización del producto a la salida de la etapa de síntesis enzimática (lotes 1, 2 y 3)

Parámetros	LOTE 1		LOTE 2		LOTE 3	
	Laboratorio	Proceso	Laboratorio	Proceso	Laboratorio	Proceso
Tiempo reacción (h)	22	28	24	26	29	52
Nistosa %	5.17	6.02	9.26	7.36	10.32	7.07
Kestosa %	48.25	47.68	46.37	49.09	43.08	48.95
Sacarosa %	23.72	23.68	19.65	20.03	22.75	20.15
Glucosa %	25.71	26.37	31.56	20.94	32.65	21.42
Fructosa %	2.32	2.25	2.41	2.59	1.49	2.41
FOS totales %	53.42	53.70	55.63	56.44	53,40	56.02

centración de 1-kestosa se alcanza a similares condiciones, pero a una concentración de sacarosa de 800 g/L.

Caracterización de la síntesis de los lotes producidos

En la prueba realizada se produjeron 3 lotes cada uno de 5 m³ de FOS mezcla en el reactor. La tabla 1 muestra la caracterización del producto a la salida de la etapa de síntesis tanto en laboratorio como en fábrica en cada uno de los lotes.

Para el lote 1 puede observarse que hubo un retardo de 6 horas de la industria respecto al laboratorio. Sin embargo, laboratorio y proceso se comportaron similarmente en cuanto a composición, alcanzándose un porcentaje de FOS totales aceptable. De hecho, es importante señalar que lo novedoso de esta enzima libre utilizada es que se sintetizan cantidades de 1-kestosa superiores al resto de productos comercializados internacionalmente, que es lo que le concede la cualidad como prebiótico. Para el lote 2 puede observarse que hubo un pequeño retardo en la etapa industrial respecto al laboratorio y que los niveles de 1-kestosa y de nistosa fueron inferiores, no obstante, se obtuvo un producto con calidades comercializables. Tanto en laboratorio como en fábrica, se alcanzaron tiempos de reacción superiores a lo esperado (12-16 horas) pudiendo estar relacionado con la concentración de enzima o la calidad del licor. En ambos casos se apreció disminución del pH en el transcurso de la reacción lo que explica el retardo de la misma, siendo mucho mayor en la industria porque la disminución de pH fue mayor en la misma. Para el lote 3, puede observarse que hubo un retardo considerable en la etapa industrial. Se obtuvieron niveles de 1-kestosa y de nistosa similares gracias a la adición de enzima a las 32 horas de reacción. A las 24 horas se produjo un estancamiento de la reacción durante 8 horas y se decidió a esa hora ajustar pH y adicionar 2 millones adicionales de unidades de enzima para dar continuidad a la reacción.

Se desconocen las causas que provocaron este efecto, pudiendo estar relacionada con la temperatura o con el envejecimiento del licor.

De manera general, en los 3 lotes el seguimiento de la reacción por el laboratorio comparada con la industria arrojó que:

- Tanto industria como laboratorio tuvieron tiempos de reacción superiores a lo esperado con un mayor retardo en la industria.
- Hubo variaciones de pH tanto en la síntesis a escala de laboratorio como en la industria, pero el descenso en la industria fue superior.
- Los FOS totales producto de la reacción fueron ligeramente inferiores en la fábrica en los lotes 2 y 3, variando en un 11.86 % para el lote 2 y en un 2.28 % para el lote 3. En el lote 1, la fábrica superó al laboratorio en un 0.5 % pero lamentablemente el producto posteriormente se vio afectado al pasar por las columnas de desmineralización.

Como en el laboratorio y en la fábrica se simuló el mismo licor y enzima, puede correlacionarse el descenso en el pH con el envejecimiento del licor y consecuentemente con el retardo de la reacción en los dos lugares.

Caracterización del lote 1

La producción del lote 1 siguió el proceso tecnológico según lo previsto, reproduciendo todas las etapas concebidas para la preparación de la materia prima, la síntesis y la purificación del producto. Una vez obtenido un producto de síntesis con un 53.70 % de FOS totales se procedió a la etapa de desmineralización donde el producto pasó por una batería de 3 columnas, una catiónica, una aniónica y un lecho mezclado. Al pasar por la columna catiónica descendió bruscamente el pH y la conversión se vio alterada de manera tal que el producto cambió su composición, bajando los niveles de 1-kestosa de 47.68 % a 27.28 % y los niveles de nistosa de 6.02 % a 4.16 % derivando en una disminución de los FOS totales de

Tabla 2. Composición del producto en la síntesis y en la desmineralización

Parámetros	LOTE 1	
	Síntesis	Desmineralización
Nistosa %	6,02	4,16
Kestosa %	47,68	27,28
Sacarosa %	23,68	25,66
Glucosa %	26,37	30,43
Fructosa %	2,25	16,60
FOS totales %	53,70	31,44

Tabla 3. Caracterización del producto final del lote 1

Parámetros/ Composición	LOTE 1
pH	5.46
Brix	69.2
Conductividad (µS/cm)	0.26
Color (UI)	57.33
Densidad (g/ml)	1.34
Nistosa (%)	5.64 ± 0.82
Kestosa (%)	27.34 ± 2.59
Sacarosa (%)	22.81 ± 0.98
Glucosa (%)	27.91 ± 2.20
Fructosa(%)	16.30 ± 0.23
FOS total (%)	32.8 ± 3.41
Kestosa/FOS total	82.95 ± 0.72

53.70 % a 31.44 %, obteniéndose un producto con niveles superiores de glucosa y fructuosa.

La tabla 2 muestra el cambio de composición de la salida del reactor a la salida de la etapa de desmineralización.

De esta etapa se puede concluir que con las resinas que trabaja la planta no es posible desmineralizar la mezcla de FOS, pues provoca hidrólisis de los mismos modificando su composición. Se valoró colectivamente que los parámetros de color y conductividad del FOS a la salida de la síntesis se encontraban en norma comparado con calidades de productos comercializados y se acordó no desmine-

ralizar en los próximos lotes. Luego de tratado con carbón, filtrado y concentrado, se obtuvo un producto cuyas características se muestran en la tabla 3.

A pesar de no tener las concentraciones deseadas de FOS totales, este producto es comercializable pues tiene porcentajes de nistosa y 1-kestosa que solo variarían la dosis de empleo en dependencias de estas concentraciones en la mezcla.

Caracterización del lote 2

Una vez obtenido un producto de síntesis con un 56.44 % de FOS totales se procedió a la etapa de tratamiento con carbón, donde los parámetros de color y conductividad disminuyeron respecto a la síntesis cumpliendo su propósito en el proceso tecnológico. La tabla 4 y la figura 5 muestran los parámetros físicos-químicos del lote 2 a través de cada una de las etapas.

Como se puede observar la variable brix, se mantuvo constante y aumentó en la etapa de evaporación cuya función es concentrar el producto, así como el pH, se mantuvo constante. La conductividad, tuvo un ligero aumento en la etapa de síntesis y luego una disminución en la etapa de concentración. El color en la etapa de tratamiento con carbón disminuyó en un 71,77 % como se esperaba, sin embargo, en la etapa de evaporación se produjo un aumento de color, producto de las temperaturas alcanzadas en la misma para lograr 75 ° brix. Las características del lote 2 se resumen en la tabla 5.

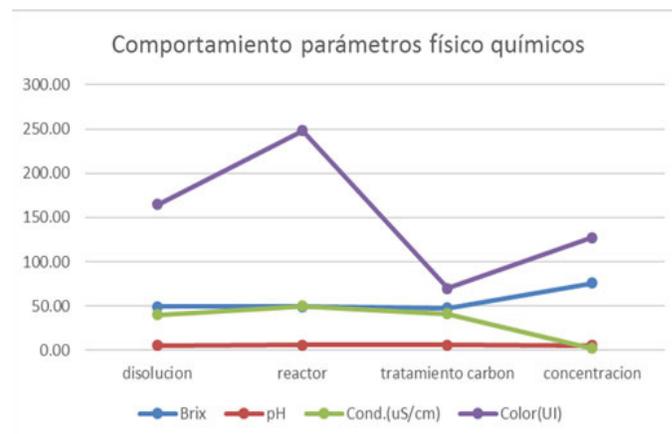


Figura 5. Comportamiento de las variables: brix, pH, conductividad y color a través de las etapas del proceso.

Tabla 4. Características físico químicas del producto del lote 2 en cada etapa

Etapa (salida)	Brix	pH	Cond.(uS/cm)	Color(UI)
Disolución	49.50	5.62	40.10	164.80
Reactor	49.30	5.64	49.80	248.41
Tratamiento con carbón	47.60	5.93	41.20	70.03
Concentración	75.75	5.52	1.97	127.12

Tabla 5. Caracterización del producto final del lote 1

Parámetros/ Composición	LOTE 2
pH	5.52
Brix	75.75
Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)	1.97
Color (UI)	127.12
Densidad (g/ml)	1.38
Nistosa (%)	7.36 \pm 0.78
Kestosa (%)	49.09 \pm 2.92
Sacarosa (%)	20.03 \pm 1.33
Glucosa (%)	20.94 \pm 2.26
Fructosa (%)	2.59 \pm 0.49
FOS total (%)	56.44 \pm 3.66
Kestosa/FOS total	86.99 \pm 0.63

Tabla 6. Caracterización del producto final del lote 3

Parámetros/ Composición	LOTE 3
pH	5,73
Brix	75,15
Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)	1,41
Color (UI)	69,34
Densidad (g/ml)	1,39
Nistosa (%)	7,07 \pm 0,49
Kestosa (%)	48,95 \pm 2,94
Sacarosa (%)	20,15 \pm 1,55
Glucosa (%)	21,42 \pm 1,79
Fructosa (%)	2,41 \pm 0,25
FOS total (%)	56,02 \pm 3,34
Kestosa/FOS total	87,38 \pm 0,47

Tabla 7. Comparación de las propiedades físico químicas de los lotes con otros productos similares.

Parámetros	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	FOS CHINO	FOS ICINAZ	FOS ICINAZ	FOS ICINAZ
pH	5.46	5.52	5.73	4.85			
Brix	69.2	75.75	75.15	75.1	76.2	75.04	78.78
Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)	0.26	1.97	1.41	6.8			
Color (UI)	57.33	127	69.34	194.07	1	4	4
Densidad (g/ml)	1.34	1.38	1.39		1.39	1.39	1.39

Tabla 8. Comparación de la composición de cada lote con otros productos similares

Composición	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	FOS CHINO	FOS ICINAZ	FOS ICINAZ	FOS ICINAZ
Nistosa %	5.64	7.36	7.07	18.54*			
Kestosa %	27.34	49.09	48.95	38.7			
Sacarosa %	22.81	20.03	20.15	18.86			
Glucosa %	27.91	20.94	21.42	21.78			
Fructosa %	16.30	2.59	2.41	1.84			
FOS Totales %	32.98	56.44	56.02	57.52	57.82	55.17	56.37

*Incluye la suma de los porcentos de nistosa (16.97 %) y fructosilnistosa (1.57 %)

Caracterización del lote 3

Una vez obtenido un producto de síntesis con un 56.02 % de FOS totales se procedió a las etapas de tratamiento con carbón, filtración y concentración.

En este lote 3 se obtuvo un FOS con las características mostradas en la tabla 6.

Validación del esquema tecnológico

En aras de comparar la calidad de los lotes con productos similares se tomó una muestra de un FOS

mezcla, producido por la empresa china Quantum Hitech Biotechnology y además se tomaron como referencia los resultados de lotes producidos por ICINAZ. Las tablas 7 y 8 muestran la comparación de las propiedades físico-químicas y las composiciones, respectivamente de los diferentes lotes.

Los parámetros físico-químicos de los 3 lotes son similares a los comercializables y en el caso de la composición de cada lote, solo el lote 1 tiene nive-

les muchos más bajos de FOS totales, pero aun así pudiese emplearse como prueba en algún centro de investigación o en LABIOFAM.

CONCLUSIONES

1. Se puede producir FOS en las condiciones de la planta de sorbitol, lo que permitirá diversificar esta industria con un nuevo producto de alto valor agregado y ser un renglón exportable, aprovechando las capacidades instaladas de dicha planta.
2. El lote 1 tiene un 32.98 % de FOS totales. A pesar de no tener más de 55 %, puede ser utilizable teniendo en consideración su composición.
3. Los lotes 2 y 3 tienen características y parámetros físico-químico similares a productos de igual grado de pureza existentes en el mercado, pero con una composición en 1-kestosa superior en más de un 10 %.
4. La etapa de desmineralización no es necesaria para alcanzar parámetros en norma, partiendo de una calidad de azúcar como la utilizada en la prueba.
5. Las simulaciones en el laboratorio demostraron un retardo en la reacción enzimática industrial y una ligera disminución en la producción de FOS totales lo que pudiese estar asociado al tipo y forma de agitación utilizada en la escala industrial, por lo que debe estudiarse la influencia de este parámetro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pérez, D.; López, G. Principales prebióticos y sus efectos en la alimentación humana. AN. VET. (MURCIA), 2004. 20: p. 5-20.
2. Muñoz, M. Estudio del efecto de los fructooligosacáridos en la producción de bacteriocinas por aislados nativos de *Lactobacillus* spp., in Facultad de Ciencias, Departamento de Química. 2011, Universidad Nacional de Colombia: Bogotá, Colombia.
3. Rubio, C.; Latina, C. Producción de fructooligosacáridos por invertasa de *Aspergillus Niger* IB56: un prebiótico de importancia para la salud humana y animal. Boletín Micológico, 2012. 27: p. 18-23.
4. Sabater-Molina, M.; *et al.* Dietary fructooligosaccharides and potential benefits on health. *Physiology and Biochemistry*, 2009. 65(3): p. 315-328.
5. Solange, I.; Teixeira, J.A. Increase in the fructooligosaccharides yield and productivity by solid-state fermentation with *Aspergillus japonicus* using agro-industrial residues as support and nutrient source. *Biochemical Engineering*, 2010. 53 p. 154-157.
6. Solange, I.; *et al.* Colonization of *Aspergillus japonicus* on synthetic materials and application to the production of fructooligosaccharides. *Carbohydrate Research*, 2009. 344: p. 795-800.
7. Alfonso, M. Definir las condiciones de síntesis de FOS con reactores batch existentes en la planta de Sorbitol con el empleo de la enzima recombinante de CIGB 1-SST, in Estudio del escalado de la producción de FOS (fructooligosacáridos) a nivel industrial en la planta de sorbitol, ICIDCA, Editor. 2017: La Habana, Cuba.
8. Alfonso, M. Actualizar estudio técnico-económico de la conveniencia de la producción de FOS bajo las condiciones de la planta de Sorbitol, in Estudio del escalado de la producción de FOS (fructooligosacáridos) a nivel industrial en la planta de Sorbitol, ICIDCA, Editor. 2017: La Habana.
9. Actualizar estudio de la demanda en los mercados interno y externo, in Estudio del escalado de la producción de FOS (fructooligosacáridos) a nivel industrial en la planta de sorbitol, ICIDCA, Editor. 2018: La Habana, Cuba.
10. Ana, D.; *et al.* New improved method for fructooligosaccharides production by *Aureobasidium pullulans*. *Carbohydrate Polymers*, 2012. 89: p. 1174-1179.
11. Markosyan, A. A.; *et al.* Production of Fructooligosaccharide Syrup from Sucrose in Combination with Palatinose and Trehalose. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2007. 43(4): p. 383-389.
12. Lüscher, M.; *et al.* Cloning and Functional Analysis of Sucrose:Sucrose 1-Fructosyltransferase from Tall Fescue. *Plant Physiology*, 2000. 124(3): p. 1217-1227.
13. Chatterton, N.J.; *et al.* Characterization of sucrose:sucrose fructosyltransferase from crested wheatgrass. *New Phytologist*, 1988. 109: p. 29-33.

14. Simmen, U.; *et al.* Fructan synthesis in excised barley leaves. Identification of two sucrose-sucrose fructosyltransferases induced by light and their separation from constitutive invertases. *Plant Physiology*, 1993. 101(2): p. 459-468.
 15. Lasseur, B.; *et al.* Molecular and functional characterization of a cDNA encoding fructan:fructan 6G-fructosyltransferase (6G-FFT)/fructan:fructan 1-fructosyltransferase (1-FFT) from perennial ryegrass (*Lolium perenne* L). *Journal of Experimental Botany*, 2006. 57(11): p. 2719-2734.
 16. L'Hocine, L.; *et al.* Purification and partial characterization of fructosyltransferase and invertase from *Aspergillus niger* AS0023. *Journal of Biotechnology*, 2000. 81: p. 73-84.
 17. Tarriseven, A.; Aslan, Y. Immobilization of Pectinex Ultra SP-L to produce fructooligosaccharides. *Enzyme and Microbial Technology*, 2005. 36: p. 550-554.
 18. Tzu-Chien, C.; Kow-Jen, D.; Dey-Chyi, S. Immobilization of β -fructofuranosidase from *Aspergillus japonicus* on chitosan using tris(hydroxymethyl)phosphine or glutaraldehyde as a coupling agent. *Biotechnology Letters*, 2005. 27: p. 335-338.
 19. Physiology, S.f.P. and Biochemistry, *Plant Physiology & Biochemistry*. 1998: Society for Plant Physiology and Biochemistry.
 20. Zorn, H.; Czermak, P. *Biotechnology of Food and Feed Additives*. 2014: Springer Berlin Heidelberg.
 21. Dixon, F.J. *Advances in Immunology*. 1999: Elsevier Science.
 22. Capote, O. Resultados de la prueba a escala Industrial, en estudio del escalado de la producción de FOS (fructooligosacáridos) a nivel industrial en la planta de sorbitol, ICIDCA, 2018: La Habana, Cuba.
-