

# **ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL**

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y  
AGROINDUSTRIA**

**ESCALADO DE LA PRODUCCIÓN INDUSTRIAL DE LEVADURA  
DE PANIFICACIÓN USANDO DOS REACTORES MODELO Y UN  
BIO-REACTOR PROTOTIPO**

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA  
QUÍMICA**

**MARÍA AUGUSTA PÁEZ LARA**

[map0701@hotmail.com](mailto:map0701@hotmail.com)

**DIRECTOR: ING. GASTÓN GUERRA**

[gaston.guerra@epn.edu.ec](mailto:gaston.guerra@epn.edu.ec)

**Quito, Agosto 2011**

© Escuela Politécnica Nacional 2011  
Reservados todos los derechos de reproducción

## **DECLARACIÓN**

Yo, María Augusta Páez Lara, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

---

María Augusta Páez L.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

	<b>PÁGINA</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>xiv</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>xv</b>
<b>1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>1</b>
1.1 Proceso de escalado	1
1.1.1 Definición del término escalado	1
1.1.2 Límites entre escalas	3
1.1.2.1 Escala de laboratorio	4
1.1.2.2 Escala piloto	5
1.1.2.3 Escala industrial	6
1.1.3 Métodos de escalado	7
1.1.3.1 Método fundamental	7
1.1.3.2 Método semi-fundamental	7
1.1.3.3 Análisis dimensional	8
1.1.3.4 Regla del pulgar (rule of thumb)	8
1.2 Principio de similitud	9
1.2.1 Modelo y prototipo	9
1.2.2 Precepto de similitud	11
1.2.2.1 Similitud geométrica	11
1.2.2.2 Similitud cinemática	12
1.2.2.3 Similitud dinámica	13
1.3 Escalado de los procesos biotecnológicos	14
1.3.1 Agitación	14
1.3.1.1 Mecanismos de agitación	16
1.3.1.2 Parámetros de escalado relacionados con la agitación	17
1.3.2 Aireación	21
1.3.3 Coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno $k_La$	24
1.3.3.1 Dinámica de la transferencia de oxígeno en el bio-reactor	25
1.3.3.2 Factores que afectan el $k_La$	27

1.3.3.3	Medición del $k_La$	30
<b>2</b>	<b>METODOLOGÍA</b>	<b>34</b>
2.1	Diseño de los cabezales para los reactores modelo de 2 y 14 L	34
2.1.1	Diseño del sistema de agitación	34
2.1.2	Diseño del aspersor de aire	38
2.1.3	Diseño de la chaqueta de enfriamiento	50
2.2	Influencia de la agitación, aireación y de los parámetros de escalado en el $k_La$	60
2.2.1	Diseño experimental	60
2.2.2	Proceso de producción de levadura de panificación por fermentación	61
2.2.2.1	El microorganismo	61
2.2.2.2	Composición del sustrato y condiciones de crecimiento	62
2.2.2.3	Preparación y tamaño del inóculo	63
2.2.2.4	Esterilización del medio y tiempo de ensayo	64
2.2.3	Determinación del $k_La$	65
2.2.4	Medición de la potencia por unidad de volumen	68
2.2.5	Medición del crecimiento microbiano	68
2.2.6	Estudio de la reología del medio de fermentación	69
2.3	Verificación del modelo matemático de escalado	71
2.3.1	Aplicación del protocolo de escalado	71
2.3.2	Procesos fermentativos para verificar el modelo de escalado	73
<b>3</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>74</b>
3.1	Diseño de los reactores modelo de 2 y 14 L	74
3.2	Influencia de la agitación, aireación y de los parámetros de escalado en el $k_La$	84
3.2.1	Análisis de la viscosidad del medio de fermentación	84
3.2.2	Evaluación de la potencia por unidad de volumen en función de la agitación y aireación	86
3.2.3	Efecto de la potencia por unidad de volumen en el $k_La$	87
3.2.4	Cinética de consumo de oxígeno por parte de la población microbiana	91
3.2.5	Obtención del modelo matemático de escalado	92
3.2.6	Evaluación de la región efectiva de escalado	95

3.3	Verificación del modelo matemático de escalado	98
3.3.1	Condiciones de operación obtenidas en el protocolo de escalado	98
3.3.2	Evaluación de los parámetros y factores de escalado	99
3.3.3	Análisis de la productividad en el proceso de escalado	100
<b>4</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>103</b>
4.1	Conclusiones	103
4.2	Recomendaciones	103
	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>104</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>108</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>PÁGINA</b>
<b>Tabla 1.1:</b> Relación entre el $k_{La}$ y las variables de operación definidas en función de la potencia por unidad de volumen y velocidad superficial de aire	28
<b>Tabla 2.1:</b> Concentración de saturación de oxígeno disuelto para sistemas de crecimiento de levadura de panificación	44
<b>Tabla 2.2:</b> Composición de la levadura de panificación empleando como sustrato fuentes de carbohidratos	51
<b>Tabla 2.3:</b> Calores de combustión de la fuente de carbono y de la levadura determinados por dos autores	52
<b>Tabla 2.4:</b> Parámetros de operación para el ensayo de producción de biomasa	53
<b>Tabla 2.5:</b> Niveles de velocidad de agitación y tasa de aireación para el diseño experimental factorial mixto utilizado en el prototipo y en los modelos.	60
<b>Tabla 2.6:</b> Composición del sustrato para la producción de levadura de panificación	61
<b>Tabla 2.7:</b> Volumen de operación, tamaño de inóculo y peso de levadura para el proceso fermentativo en los modelos y el prototipo	62
<b>Tabla 3.1:</b> Dimensiones de los agitadores disco-turbina pertenecientes a los modelos	73
<b>Tabla 3.2:</b> Relaciones para la ubicación de los agitadores en el prototipo y valores de diseño para los modelos de 2 y 14 L	74
<b>Tabla 3.3:</b> Resultados del modelo esférico para la formación de la burbuja desde el orificio en los modelos de 2 y 14 L	77
<b>Tabla 3.4:</b> Dimensiones del aspersor de aire en las escalas modelo	79
<b>Tabla 3.5:</b> Parámetros de control y resultados de estabilidad en la variación del espesor de la chaqueta en función del tiempo obtenidos en la simulación	82

<b>Tabla 3.6:</b>	Dimensiones de las chaquetas de los modelos y del prototipo	82
<b>Tabla 3.7:</b>	Potencia por unidad de volumen en $W/m^3$ a diferentes combinaciones de velocidad de agitación y tasa de aireación en los modelos y el prototipo	85
<b>Tabla 3.8:</b>	Constantes y coeficientes de la relación entre los parámetros de escalado y el $k_La$ en los modelos y el prototipo	92
<b>Tabla 3.9:</b>	Parámetros y factores obtenidos en el proceso de escalado desde el reactor de 2 L hacia los reactores modelo de 14 L y prototipo de 150 L	98
<b>Tabla 3.10:</b>	Parámetros de cinética de crecimiento microbiano en el proceso de escalado para el prototipo y los modelos de 2 y 14 L	101



## ÍNDICE DE FIGURAS

		PÁGINA
<b>Figura 1.1:</b>	Patrón de flujo radial y axial en turbinas	15
<b>Figura 1.2:</b>	Curva de potencia para diferentes tipos de agitador en un bio-reactor tanque agitado estándar provisto con deflectores	18
<b>Figura 1.3:</b>	Efecto del flujo de aire en el patrón de flujo para reactores tipo tanque agitado	23
<b>Figura 1.4:</b>	Pasos en la transferencia de oxígeno desde la burbuja de aire hasta la célula	26
<b>Figura 1.5:</b>	Esquema del método estático en dos etapas para la determinación del $k_{La}$	30
<b>Figura 1.6:</b>	Esquema del método dinámico en dos etapas para la determinación del $k_{La}$	31
<b>Figura 2.1:</b>	Relaciones de similitud geométrica estándar para un bio-reactor	34
<b>Figura 2.2:</b>	Diagrama del sistema de agitación	35
<b>Figura 2.3:</b>	Esquema del elemento interfacial empleado en el método iterativo que resuelve el modelo esférico de formación de la burbuja desde el orificio	42
<b>Figura 2.4:</b>	Algoritmo de diseño para la determinación del diámetro de burbuja y diámetro del orificio del aspersor de aire en los modelos	43
<b>Figura 2.5:</b>	Diagrama del sistema de producción de biomasa	49
<b>Figura 2.6:</b>	Algoritmo de simulación para el proceso de producción de biomasa	56
<b>Figura 2.7:</b>	Esquema del criterio de escalado para el diseño de la chaqueta de enfriamiento en el modelo de 14 L	57
<b>Figura 2.8:</b>	Esquema de la esterilización del medio de cultivo para el caso del prototipo y de los modelos	63

<b>Figura 2.9:</b>	Esquema del acople para la medición de oxígeno disuelto en los modelos	66
<b>Figura 2.10:</b>	Esquema del viscosímetro de Ubbelohde utilizado para el estudio reológico del medio de fermentación	69
<b>Figura 2.11:</b>	Protocolo de escalado para la determinación de las condiciones de operación en las escalas de 14 y 150 L	71
<b>Figura 3.1:</b>	Variación del diámetro de la burbuja con la velocidad de agitación, evaluada a dos tasas de aireación en el modelo de 2 L	75
<b>Figura 3.2:</b>	Variación del diámetro de la burbuja con la velocidad de agitación, evaluada a dos tasas de aireación en el modelo de 14 L	75
<b>Figura 3.3:</b>	Esquema de formación de la burbuja desde el orificio del aspersor en el modelo de 2 L, evaluado a 550 rpm y 1 VVM	78
<b>Figura 3.4:</b>	Esquema de formación de la burbuja desde el orificio del aspersor en el modelo de 14 L, evaluado a 400 rpm y 1VVM	78
<b>Figura 3.5:</b>	Espesor de la chaqueta aplicando la ecuación empírica de Hilbert y Knudsen-Katz para convección forzada alrededor de un cilindro	80
<b>Figura 3.6:</b>	Espesor de la chaqueta aplicando la ecuación empírica de Donohue para convección forzada por el lado de la coraza en intercambiadores de tubos concéntricos	80
<b>Figura 3.7:</b>	Espesor de la chaqueta aplicando la ecuación empírica de Coulbourn para convección forzada por el lado de la coraza en intercambiadores de tubos y coraza.	8
<b>Figura 3.8:</b>	Variación de la viscosidad del medio para diferentes combinaciones de velocidad de agitación y tasa de aireación en los procesos realizados en el prototipo	83
<b>Figura 3.9:</b>	Variación del $k_La$ versus la potencia por unidad de volumen dos tasas de aireación en el prototipo	87
<b>Figura 3.10:</b>	Variación del $k_La$ versus la potencia por unidad de volumen a dos tasas de aireación en el modelo de 14 L	87
<b>Figura 3.11:</b>	Variación del $k_La$ versus la potencia por unidad de volumen a dos tasas de aireación en el modelo de 2 L	88

<b>Figura 3.12:</b>	Variación del $k_{La}$ en función de la velocidad de agitación en el prototipo y en los modelos a dos tasas de aireación	89
<b>Figura 3.13:</b>	Tasa específica de consumo de oxígeno por parte de la población microbiana en los modelos y el prototipo	90
<b>Figura 3.14:</b>	Variación de la concentración final de levadura en función del $k_{La}$ evaluada a diferentes parámetros de operación en el prototipo	94
<b>Figura 3.15:</b>	Variación de la concentración final de levadura en función del $k_{La}$ evaluada a diferentes parámetros de operación en el modelo de 14 L.	95
<b>Figura 3.16:</b>	Variación de la concentración final de levadura en función del $k_{La}$ evaluada a diferentes parámetros de operación en el modelo de 2 L	95
<b>Figura 3.17:</b>	Crecimiento de levadura de panificación durante el proceso de escalado para el prototipo y los modelos de 2 y 14 L	100

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>PÁGINA</b>
<b>ANEXO I</b>	
Planos de construcción de los reactores modelos de 2 y 14 L	109
<b>ANEXO II</b>	
Calibración del rotámetro correspondiente al prototipo BIOLAFITTE	112
<b>ANEXO III</b>	
Curva de calibración para la determinación de la concentración de levadura	113
<b>ANEXO IV</b>	
Ejemplo de cálculo para la determinación del $k_{La}$	114
<b>ANEXO V</b>	
Análisis estadístico ANOVA de los modelos de escalado en los reactores modelo y prototipo	117

## LISTA DE ABREVIATURAS

a	área interfacial de transferencia
$A_i$	ancho del deflector
$A_o$	área transversal del orificio
$A_p$	área transversal de la conducción del aspersor
$A_T$	área de transferencia de calor
$C^*$	concentración de saturación de oxígeno disuelto
C	constante de la correlación de Cooper
$C_L$	concentración de oxígeno disuelto en el sistema
$C_{Lo}$	concentración inicial de oxígeno disuelto en el sistema
$C_o$	coeficiente característico del orificio
$C_p$	capacidad calórica del agua de enfriamiento
$C_{pm}$	capacidad calórica del medio de fermentación
d	distancia perpendicular al eje de agitación
$D_{Ag}$	diámetro mínimo de diseño del eje del agitador
db	diámetro de equilibrio de la burbuja
$D_i$	diámetro del agitador
$D_L$	difusividad del gas en el líquido
$D_o$	diámetro del orificio
$D_t$	diámetro del reactor
$D_T$	diámetro de la conducción del aspersor
E	energía emitida por el motor hacia el eje de agitación
e	espesor de la pared del reactor
$E_F$	eficiencia de soldadura
F	fuerza aplicada sobre el eje de agitación
$f_D$	factor de fricción de Darcy
g	aceleración de la gravedad
he	coeficiente de convección por el lado de la chaqueta
$H_i$	ancho de la paleta del agitador
hi	coeficiente de convección por el lado del reactor
I	corriente generada en el motor de agitación

K	torsión del acero
$k_L$	coeficiente de transferencia de oxígeno
$k_{La}$	coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno
L	longitud de la conducción del aspersor
$L_i$	alto de la paleta del agitador
LMTD	temperatura logarítmica media
$\dot{m}_{fe}$	flujo de agua de enfriamiento
$\bar{m}_i$	masa desplazada del líquido acelerado en el modelo de formación de la burbuja desde el orificio
N	velocidad de agitación
n	velocidad de agitación máxima
$N_{ag}$	número de agitadores
$N_h$	número de orificios en el aspersor
$N_p$	número adimensional de Potencia
$N_{RE}$	número adimensional de Reynolds de agitación
$Nu_E$	número adimensional de Nusselt por el lado de la chaqueta
$Nu_I$	número adimensional de Nusselt por el lado del reactor
$P/V$	potencia de agitación con aireación por unidad de volumen
P	potencia de agitación con aireación
p	presión hidrostática aplicada en el interior de la chaqueta
$P_b$	presión del gas en la burbuja
$P_c$	presión del gas en el aspersor
$P_o$	potencia de agitación sin aireación
Pot	potencia del motor de agitación
$Pr_E$	número adimensional de Prandalt por el lado de la chaqueta
$Pr_I$	número adimensional de Prandalt por el lado del reactor
q	flujo de gas a través del orificio del aspersor
Q	flujo de gas de operación
$Q_{O_2}$	tasa específica de respiración microbiana
R	radio interno de la chaqueta
$Re_E$	número adimensional de Reynolds por el lado de la chaqueta
$Re_I$	número adimensional de Reynolds por el lado del reactor
$r_x$	velocidad de producción de biomasa

T	torque ejercido sobre el eje de agitación
$T_E$	temperatura de agua de alimentación a la chaqueta
$T_S$	temperatura de agua de descarga de la chaqueta
V	voltaje generado en el motor
$V_b$	volumen de la burbuja
$V_i$	volumen desplazado del líquido acelerado en el modelo de formación de la burbuja desde el orificio
$\bar{V}_i$	velocidad promedio del gas en la conducción del aspersor
$\bar{V}_o$	velocidad promedio del gas en el orificio
$V_{op}$	volumen de operación
$V_s$	velocidad superficial del aire en el reactor
W	factor de corrección de la potencia de agitación sin aireación para sistemas de agitación múltiple
X	concentración de microorganismo en el medio
Y	factor de tolerancia a la corrosión
Z	factor de corrección de la potencia de agitación con aireación para sistemas de agitación múltiple

### Letras Griegas

$\Delta H_{C(L)}$	calor de combustión de la levadura
$\Delta H_{C(S)}$	calor de combustión del sustrato
$\Delta m$	coeficiente de masa añadida en el modelo de formación de la burbuja desde el orificio
$\Delta P$	caída de presión a través de la conducción del aspersor
$\Delta P_o$	caída de presión a través del orificio
$\gamma$	coeficiente adiabático del gas
$\gamma_{CAL}$	rendimiento calórico de fermentación
$\delta_C$	densidad del gas a la presión en el aspersor
$\delta_L$	densidad del líquido
$\varepsilon$	energía disipada por turbulencia en el contacto gas-líquido
$\varepsilon_{pared}$	espesor de la pared de la chaqueta

$\mu$	tasa de crecimiento microbiano
$\mu_G$	viscosidad del gas
$\mu_L$	viscosidad del líquido
$\alpha$	exponente de la correlación de Cooper para la influencia de la agitación en el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno
$\beta$	exponente de la correlación de Cooper para la influencia de la aireación en el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno
$\theta$	porcentaje de distribución de flujo deficiente en el aspersor
$\sigma$	tensión superficial del medio



## RESUMEN

En este trabajo se desarrolló una investigación detallada para el proceso de escalado de la producción de levadura de panificación desde un reactor modelo de 2 L hacia escalas superiores de 14 y 150 L, basado en el criterio de escalado que establece que el coeficiente de transferencia de oxígeno ( $k_La$ ) se mantiene constante.

Inicialmente, se debieron diseñar y construir los reactores modelo, con el objetivo de que tanto el sistema de agitación, aspersión de aire y sistema de enfriamiento permitan que se guarde similitud geométrica y dinámica con el prototipo. Se realizaron ensayos de fermentación tanto en los modelos como en el prototipo a diferentes combinaciones de velocidades de agitación y tasas de aireación, con la finalidad de analizar la influencia de la potencia por unidad de volumen y la velocidad superficial de aire en el  $k_La$  y por consiguiente desarrollar el modelo matemático de escalado.

Los modelos de escalado correspondientes a las escalas de 2 y 14 L cumplen con la correlación de Cooper. Sin embargo, esto no sucede en el prototipo donde se modificó la correlación adicionándose una constante de  $7\ 076,71\ \text{W/m}^3$  que representa la potencia adicional por unidad de volumen que se requeriría para romper las burbujas que circunvalan la zona de agitación en el prototipo.

Se determinó que con un  $k_La$  de  $1,235 \times 10^{-2}\ \text{s}^{-1}$  se produce la mayor productividad, luego de evaluar la región efectiva de escalado en la escala base de 2 L. Finalmente, se aplicó el protocolo de escalado y mediante ensayos de fermentación se verificó que al trabajar a 680 rpm y 3,5 L/min en el modelo de 2 L; 440 rpm y 9,5 L/min en el modelo de 14 L; y 200 rpm y 27,2 L/min en el prototipo es factible llevar a cabo un proceso de escalado exitoso manteniendo el valor del coeficiente de transferencia de oxígeno constante y logrando la máxima productividad en todas las escalas.

## INTRODUCCIÓN

Las presiones competitivas en la industria química y en la biotecnológica hacen más necesario contar con procedimientos de escalado rápidos y directos, desde los laboratorios en investigación y desarrollo, para poder acortar el tiempo que transcurre entre la concepción de un nuevo proceso y la puesta en marcha de la planta correspondiente a escala industrial.

Actualmente en la tecnología de fermentación, los reactores con mayor volumen de operación se encuentran en la producción de antibióticos, etanol a partir de caña de azúcar y tratamiento de aguas residuales. Nuevas plantas de fermentación para la producción de antibióticos han sido construidas combinando en su proceso 12 reactores de 250 000 L cada uno, comparados con aquellos de 75 m<sup>3</sup> que se usaban antes. Bayer A.G. emplea bio-reactores de 20 000 m<sup>3</sup> de capacidad con 26 m de diámetro y 30 m de altura que gastan 7 MW de potencia para la agitación y aireación. (Moreno, 2008)

Sin embargo en Ecuador, empresas como LEVAPAN, que constituye la más grande productora de levadura de panificación ubicándose en el puesto 50 entre las 100 empresas más rentables del país con ingresos de 154 700 USD en el año 2008, no logra alcanzar esta magnitud de escala industrial. (Moreno, 2008)

En vista de esta realidad, se plantea este estudio como respuesta a la necesidad de incursionar en el proceso de escalado, como el primer paso, para disminuir o eliminar los requerimientos de importación de tecnología y equipos extranjeros, de tal manera que en el país sea factible diseñar procesos y equipos en función de la demanda local.

Gran parte de los procesos biotecnológicos son aerobios y se llevan a cabo en reactores tipo tanque agitado, razón por la que se han desarrollado diversas investigaciones para comprender la teoría de escalado en este tipo de procesos.

El trabajo realizado por Sukla *et al.*, 2001 se destaca por el estudio detallado de la influencia del agitador en el escalado de la bio-transformación de levadura basado

en un  $k_{La}$  constante. Wong *et al.*, 2003 emplea diferentes correlaciones que le permiten desarrollar un escalado basado no solamente en un  $k_{La}$  constante sino también mantener el flujo de aire por unidad de volumen constante. Otras investigaciones complementarias como el trabajo de Hensiriak, 1997 acerca de la influencia de la dispersión de micro-burbujas con la finalidad de mejorar la transferencia de oxígeno en el bio-reactor durante el escalado y el análisis de la influencia de la potencia por unidad de masa en la hidrodinámica del bio-reactor desarrollado por Wernersson y Tragardh, 1999.

A pesar de los estudios realizados, y considerando que el enfoque de la ingeniería en los procesos biotecnológicos se sigue centrando en la transferencia de oxígeno. Los investigadores no han logrado generalizar una base eficaz para el desarrollo de un proceso de escalado exitoso. En la actualidad – de hecho- muchos ingenieros bioquímicos todavía practican el escalado como si se tratara de una ciencia oculta o una especie de arte negro, en el que tratan de mantener constante la tasa de aireación asegurando únicamente que se encuentre en valores muy por debajo de las condiciones de inundación del sistema de agitación.

Por esta razón, en este trabajo el reto y objetivo es manipular las condiciones de operación, velocidad de agitación y tasa de aireación, aprovechando su influencia en el  $k_{La}$  mediante la correlación empírica de Cooper, 1994. Adicionalmente proporcionar un protocolo de escalado para la producción de levadura de panificación desde una escala de 2 L hacia una de 14 y 150 L.

# **1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

## **1.1 PROCESO DE ESCALADO**

### **1.1.1 DEFINICIÓN DEL TÉRMINO ESCALADO**

En el campo de la investigación y desarrollo industrial ha sido siempre necesario convertir los conocimientos obtenidos en el laboratorio en una estructura económica de producción, conectarlos con los conocimientos de ingeniería y así lograr una escala comercial de producción. Con frecuencia, durante el proceso de escalado, se presentan problemas que son ignorados parcial o completamente causando el fracaso del proyecto (González, 2000). En este trabajo estos problemas se clasificarán en dos grupos: los relacionados únicamente con la necesidad de manejar grandes volúmenes de operación y aquellos en que la naturaleza misma del problema se vea afectada por la escala de operación.

El concepto de escalado ha sido, en general, pobremente definido y mucho menos estudiado. Además poco se ha investigado acerca de la solución general para los problemas de escalado debido a la falta de conocimiento profunda acerca de los aspectos físicos y químicos de los procesos.

Las definiciones del término escalado se extienden desde la más elemental que se plantea en términos de los problemas asociados a la transferencia de datos desde la escala de laboratorio y la planta piloto a la escala de producción industrial, hasta una definición más completa que señala que el escalado consiste en el conjunto de técnicas y metodologías utilizadas para transferir un proceso desarrollado en una escala menor a la escala de producción. Esta definición que se reproduce a continuación es, a pesar de considerarse todavía incompleta, la más próxima a la concepción actual: "Escalado es el proceso mediante el cual se logra exitosa puesta en marcha y la operación económica de una unidad a escala

basándose, al menos en parte, en resultados de investigaciones realizadas a una escala más pequeña". (González, 2000)

De esta definición de escalado quedan excluidos los casos de diseño de unidades industriales conocidas, realizados con procedimientos tradicionales de cálculo, en los que para obtener los valores de diseño sólo se requieren datos de las propiedades termo físicas de las sustancias que se procesan y las cantidades a procesar.

Para que el concepto de escalado se aplique, es imprescindible que el diseño tenga algún grado de incertidumbre y que por ello tenga que realizarse sobre la base de experimentos que se lleven a cabo a una escala inferior a la industrial.

La correcta aplicación de un modelo de escalado permite asegurar que las condiciones químicas, físicas e incluso fisiológicas del proceso en la escala mayor sean las mismas o muy similares a las de las de la escala menor. Por esto el diseño de un proceso de escalado se enfoca en el mantenimiento de la constancia del criterio primario de escalado que sirve para trasladar el proceso desde una escala menor a una escala mayor, para obtener un producto industrial que tenga las mismas características que el que se consiguió en la primera.

Bajo esta concepción, determinar el criterio primario de escalado implica que el diseñador posea las competencias adecuadas para seleccionar un parámetro del proceso que influya de manera determinante sobre los resultados que se vayan a obtener.

El objetivo del proceso de escalado es, entonces, producir un resultado, en la escala que se haya seleccionado para la producción comercial, que sea idéntico o muy similar al de la escala menor que se ha analizado en el laboratorio. Este objetivo se fundamenta en que el incremento de la capacidad de producción se logre exitosamente con equipos de mayor tamaño que los usados en la escala menor.

Sin embargo, para producir exitosamente a una escala mayor que la utilizada en el laboratorio, no es suficiente incrementar el tamaño de la escala solamente. De

hecho, se requiere suficiente conocimiento acerca del diseño de equipos a mayor escala para poder realizar un escalado eficaz. (Gill *et al.*, 2008)

### 1.1.2 LÍMITES ENTRE ESCALAS

Existen gran variedad de criterios que permiten definir los límites dentro de los cuales se puede aplicar el escalado de un proceso. El más utilizado es el volumen de los equipos.

Otro criterio es que la relación entre las dimensiones lineales de los equipos (factores de escala geométricos) se encuentre en el rango de 1 a 3, lo que implicaría, por ejemplo, que una columna de 250 mm de diámetro puede ser escalada hasta una que tenga 2 m de diámetro, al aplicarse un factor de escala de 1:8.

Por otra parte, cuando se considera un factor de escala de volumen, como en el caso del escalado de reactores, los factores geométricos son mayores que los anteriormente citados. (González, 2000)

Para el caso de bioprocesos, por ejemplo, la optimización final del proceso se lleva a cabo a escala piloto en bio-reactores de 50 a 300 L de capacidad, donde las condiciones de operación y los perfiles de hidrodinámica y mezclado son similares a aquellos usados en la escala industrial. En estos casos los factores de escala son típicamente de 1:10, es importante anotar que factores menores disminuyen el riesgo de resultados indeseados en el proceso de escalado. (García y Gómez, 2009)

En la práctica el criterio que permite definir los límites entre las distintas escalas depende de los objetivos que se persigan y de los procesos que se deseen escalar.

### 1.1.2.1 Escala de laboratorio

El laboratorio de ingeniería de procesos es la unidad primaria de investigación donde se determinan las metodologías de síntesis de compuestos y las configuraciones básicas de los procesos, además de ser el lugar donde se determina las condiciones de operación que permiten obtener los resultados deseados.

La investigación realizada en el laboratorio tiene, entonces, la finalidad de confirmar o rechazar las hipótesis planteadas acerca del proceso, y de obtener datos que complementen la información que se haya obtenido de literatura, que constituye la base para el diseño de la escala a planta piloto. (González, 2000)

De esta investigación básica, también se consigue determinar diversas propiedades físico-químicas y formular los modelos matemáticos necesarios para realizar cálculos que determinen las dimensiones del nuevo equipo y los parámetros de operación en la nueva escala.

Los principales objetivos que se deben plantear en la escala de laboratorio son obtener, recuperar y purificar los productos de interés, que deben pasar por un análisis y caracterización para determinar si se han alcanzado dichos objetivos.

Además de esto, para los casos de síntesis química se definen algunos objetivos adicionales como:

- Conocer la influencia de las variables macroscópicas (composición, temperatura, pH, etc.) en el rendimiento u otro parámetro que caracterice la eficiencia del sistema.
- Determinar la cinética de reacción e incluir la construcción de modelos matemáticos.
- Caracterizar los subproductos y otros residuales.

En el caso de los procesos biotecnológicos, se deberían plantear objetivos secundarios como los siguientes:

- Determinar un criterio para la selección y evaluación de cepas.
- Optimizar la formulación del medio de cultivo para el rendimiento deseado.

### **1.1.2.2 Escala piloto**

Cuando exista incertidumbre, como por ejemplo, en los procesos biotecnológicos donde la obtención de la biomasa depende no solamente de la cinética microbiana que es independiente de la escala, sino también de los fenómenos de transporte que son influenciados totalmente por el cambio de escala. Se deberá estudiar el proceso a escala piloto para obtener información que permita establecer los modelos matemáticos de la dinámica del proceso. Esto también permitirá obtener información acerca de los parámetros de operación, costos energéticos y rendimientos del proceso, con los que se podrá trasladar el proceso a escala industrial.

Sin embargo, se debe tener presente que la realización de este tipo de experimentación conllevará un alto costo, y que la decisión para ejecutarla debe fundamentarse en un conjunto de factores, entre los cuales pueden incluirse los siguientes: (González, 2000)

- Tipo de proceso
- Cantidad de información disponible
- Tamaño propuesto para la unidad industrial
- Incertidumbre

El objetivo de montar una planta piloto debe orientarse a cumplir al menos una de las metas siguientes:

- Establecer la factibilidad de un proceso tecnológico a escala industrial.
- Obtener la información acerca de la que exista incertidumbre, y que se requiera para el diseño de una planta comercial.
- Obtener cantidades suficientes de productos con fines de ensayo o promoción.



En el caso de los procesos biotecnológicos el pilotaje tiene, entre otros, los siguientes objetivos específicos:

- Seleccionar las estrategias de esterilización del medio y de concentración y purificación de productos.
- Ofrecer una información de validación de los parámetros de operación del proceso obtenidos por simulación a un costo relativamente alto.

### **1.1.2.3 Escala industrial**

Esta escala, constituye el resultado del escalado, no se considera parte del proceso de investigación y desarrollo, ya que la obtención de un proceso completamente funcional a escala industrial implica que el escalado ha terminado exitosamente.

Sin embargo, la implementación del proceso a escala industrial no constituye en sí el único resultado del proceso de investigación, existen resultados adicionales que enriquecen la información disponible, como por ejemplo, los modelos matemáticos formulados para llegar a la escala industrial, que brindan información adicional que puede ser de gran valor para el perfeccionamiento de equipos y para la optimización del propio proceso productivo industrial. (García y Gómez, 2009)

Aunque en general los procesos de escalado se realizan desde modelos de escalas de menor tamaño hasta unidades de escala industrial, la investigación sobre esta escala no debe excluirse. De hecho, con fines pedagógicos para universidades europeas como Manchester y Cambridge, importantes empresas como Mettler Toledo y Brunswick desarrollan y diseñan procesos a escala planta piloto utilizando como modelo los procesos de una planta industrial que se conoce y opera eficientemente.

### **1.1.3 MÉTODOS DE ESCALADO**

De acuerdo con Kossen y Oosterhuis, 1985, el proceso de escalado se puede desarrollar según cuatro diferentes métodos ampliamente reconocidos.

#### **1.1.3.1 Método fundamental**

Se basa en la aplicación de modelos matemáticos que describen la influencia de las condiciones de operación y el diseño geométrico del reactor, que determina los patrones de flujo, razón por la que se requiere la resolución de balances de diferenciales de transferencia de masa y momentum.

Aunque en los últimos años se han presentado herramientas efectivas como software de simulación de la dinámica del fluido en el reactor para el estudio de la hidrodinámica y escalado de bioprocesos, estos métodos son muy complicados.

No obstante, el desarrollo de modelos fundamentales capaces de describir las características de las transferencias en el sistema es aún la herramienta más útil para un proceso de escalado exitoso, y para la estimación de las condiciones de operación óptimas en la escala industrial.

#### **1.1.3.2 Método semi-fundamental**

Constituye un conjunto de ecuaciones simplificadas producto de balances de conservación de masa y momentum, que se aplican para obtener una aproximación funcional de la operación del proceso.

Los parámetros que se obtienen dependen de la escala y, por consiguiente, la influencia de la escala en el proceso se puede evaluar mediante simulaciones matemáticas del modelo.

Sin embargo, a pesar de la significativa simplificación de las ecuaciones, durante el paso del método fundamental al semi-fundamental, la complejidad de modelo es esencialmente la misma.

### **1.1.3.3 Análisis dimensional**

Se fundamenta en mantener ciertos grupos adimensionales referidos a parámetros del proceso constantes durante el escalado.

Los grupos adimensionales usados, como por ejemplo, Número de Reynolds, Número de Potencia, entre otros, se relacionan con tasas de aireación y producción, o con constantes de tiempo para los diferentes mecanismos involucrados en el proceso.

Este método se basa en la idea de que si todos los grupos adimensionales se mantienen constantes a través de las diferentes escalas, las relaciones entre los mecanismos de transferencia, o entre los fenómenos involucrados en el proceso también se mantendrán constantes durante el escalado. Esto, sin embargo, es prácticamente imposible, razón por la que, inicialmente se deben identificar los grupos adimensionales de mayor influencia.

### **1.1.3.4 Regla del pulgar (rule of thumb)**

Constituye el método más común, que consiste en establecer un criterio de escalado que se mantendrá constante durante el proceso, a través de las diferentes escalas. Debido a que si se aplican diferentes criterios de escalado

para un mismo proceso de escalado, se obtendrán diferentes condiciones de operación para la escala industrial, y diferentes factores de escala.

Se debe tener en cuenta que la regla del pulgar tiene limitaciones que están dadas por la influencia de la escala en las condiciones de operación a las cuales se mantiene constante el criterio de escalado durante el proceso. Por ejemplo, en los procesos biotecnológicos donde el  $k_La$  constituye el criterio de escalado, si la escala aumenta en forma excesiva la velocidad de agitación será tan baja que el bio-reactor operará en régimen laminar.

Por esto, aunque la aplicación de este método sea simple, no deja de constituir un método frágil, y -por tanto- susceptible a errores, debido a la posibilidad de que ocurran cambios drásticos en los regímenes de flujo del sistema, al operarlo por encima de cierta escala.

Como se ha comprobado en la práctica, es usual que se deban combinar los cuatro métodos; y -también- que en ocasiones, se deba utilizar el método de ensayo y error.

La razón es que, en general, es imposible que en un proceso de escalado se puedan mantener todas las condiciones de operación en los valores adecuados, razón por la que, como se ha indicado antes, se deba escoger la que el diseñador considere la variable más importante del proceso.

## **1.2 PRINCIPIO DE SIMILITUD**

### **1.2.1 MODELO Y PROTOTIPO**

Para obtener un proceso industrial operativo a partir de modelos se requiere aplicar un conjunto de técnicas, metodologías y procedimientos que permitan transferir las escalas de laboratorio o de planta piloto a la escala industrial. Una

manera de obtener este objetivo consiste en la investigación experimental en modelos y prototipos.

Un modelo es un equipo que replica la geometría del prototipo y se usa para pronosticar su rendimiento. Cuando las relaciones de escala son iguales a las del prototipo en todas las direcciones se le denomina simplemente “modelo” y en el caso de que las relaciones de escala sean diferentes en algunas de las direcciones, se denomina “modelo distorsionado”.

Por conveniencia, se acepta que los equipos a gran escala se denominen prototipos y describan el sistema físico a la escala completa que se trata de modelar. (Doran, 1995)

En general, el prototipo no existe materialmente antes que su modelo, porque el objetivo del trabajo de escalado con modelos y prototipos es garantizar que la relación que exista entre el comportamiento de las unidades de pequeña y gran escala, se mantenga en el prototipo que se planea construir.

Cuando se formula el modelo físico de un prototipo aún inexistente, siempre es indispensable que esa concepción se haga teniendo en cuenta el tipo y forma de la unidad de gran escala que se desea obtener, lo que se logra si se utiliza la información previa obtenida en el laboratorio, o del mismo proceso en una escala mayor.

Esta consideración hace que, en la mayoría de los casos, el escalado de un producto o proceso, desde la escala de laboratorio hasta la escala industrial (*scale-up*), sea realmente precedido por el proceso de escalado desde el equipo industrial supuesto hasta el laboratorio (*scale-down*), lo que demuestra que estos dos procesos no son más que etapas de un único e integral proceso de escalado.

Para el escalado se utilizan fundamentalmente los métodos basados en el principio de semejanza, que se aplica a los sistemas en los cuales se emplean modelos homólogos, o sea aquellos modelos que sólo se diferencian del prototipo en el tamaño o escala. (Gill *et al.*, 2008)

## **1.2.2 PRECEPTO DE SIMILITUD**

Newton enunció, por primera vez, el precepto o principio de similitud o semejanza para sistemas compuestos de partículas sólidas en movimiento. Motivo por el que se aplicó a sistemas fluidos, campo en el cual es particularmente útil.

El principio de semejanza se enfoca en la determinación de las relaciones entre sistemas físicos de diferentes tamaños. Por esto es fundamental cuando se trate de ampliar o disminuir la escala de un proceso, y está estrechamente ligado con el concepto forma y dimensiones, que se aplica a sistemas complejos.

El principio incluye las proporciones geométricas de sus componentes, incluyendo las superficies; y entre otros, factores como patrones de flujo, gradientes de temperaturas y perfiles de concentración.

En términos más precisos, el principio de semejanza establece que la configuración espacial y temporal de un sistema físico, se define por relaciones de magnitud dentro del sistema mismo, y no depende del tamaño del sistema ni de las unidades de medida de esas magnitudes. (González, 2000)

Estas relaciones pueden medirse de dos formas diferentes: al especificar las proporciones entre diferentes magnitudes en el mismo sistema (proporciones intrínsecas o factores de forma); o mediante comparación de medidas correspondientes entre dos sistemas (relaciones o factores de escala).

En el primer caso, se requieren valores de un cierto número de factores de forma para poder definir la configuración de un objeto; en el segundo, se requiere de un solo factor de escala para definir la semejanza.

### **1.2.2.1 Similitud geométrica**

El concepto de semejanza geométrica se refiere a un conjunto de relaciones de correspondencia entre dimensiones lineales de un sistema y las del otro.

En general, se dice que dos cuerpos son geoméricamente semejantes cuando para cada punto en uno de ellos existe al menos un punto correspondiente en el otro.

### **1.2.2.2 Similitud cinemática**

Se define semejanza cinemática como el conjunto de relaciones que existen entre escalas cuando se analizan sistemas en movimiento, lo que añade la dimensión del tiempo a las tres coordenadas espaciales.

Entonces, dos sistemas que son geoméricamente semejantes, serán cinemáticamente semejantes cuando partículas correspondientes se muevan sobre trayectorias geoméricamente semejantes, en intervalos de tiempo correspondientes.

Los tiempos correspondientes son los intervalos de tiempo en el que ocurre el mismo fenómeno en ambas escalas, y su relación representa el factor de escala de tiempo. Así por ejemplo, en dos reactores agitados de escalas diferentes que operan en forma continua, los tiempos correspondientes para las partículas que circulan en los equipos serían los tiempos de circulación.

Adicionalmente, las partículas correspondientes se definen como aquellas que son geoméricamente semejantes y se desplazan en tiempos correspondientes. Si la relación de escala de tiempo es mayor que la unidad, los movimientos en el prototipo se realizarán más lentamente que en el modelo.

El concepto de relación de escala de tiempo es menos familiar que el de relación de escala lineal. Por ello, para propósitos de ingeniería es más conveniente calcular las relaciones en términos referidos a velocidades, porque relacionan las velocidades de las partículas correspondientes en tiempos correspondientes.

La semejanza cinemática es un concepto de particular interés para la ingeniería de procesos. Esto se debe a que si dos sistemas de fluidos son geoméricamente

semejantes, entonces los patrones de flujo también lo serán, y las variaciones de transferencia de calor y masa con respecto al tiempo en los dos sistemas conformarán una relación simple entre sí.

Por ejemplo, para dos intercambiadores de calor geoméricamente semejantes, los sistemas fluidos que circulan por el interior poseen trayectorias semejantes, y –en consecuencia- la relación entre los coeficientes globales de transferencia de calor entre los dos sistemas se puede expresar como una relación lineal ( $U_1 = k U_2$ ).

### 1.2.2.3 Similitud dinámica

La semejanza dinámica es la relación que existe entre las fuerzas que aceleran o retardan masas en movimiento entre sistemas dinámicos en diferentes escalas.

Las fuerzas de una misma naturaleza que actúan sobre partículas correspondientes en tiempos correspondientes, se denominan fuerzas correspondientes.

Los sistemas geoméricamente semejantes son dinámicamente semejantes cuando las relaciones entre todas las fuerzas correspondientes son iguales.

Las fuerzas principales que actúan en los sistemas fluidos son: fuerzas de presión, inerciales, viscosas e interfaciales. Las relaciones entre las magnitudes de dichas fuerzas en puntos correspondientes se expresan como grupos adimensionales, y constituyen los criterios de semejanza dinámica. Un ejemplo de un módulo que relaciona las fuerzas inerciales, con las fuerzas viscosas es el Número de Reynolds.

No es posible establecer más de dos relaciones entre tres tipos de fuerzas para sistemas homólogos porque las propiedades físicas y químicas de los componentes son iguales, lo que no es el caso de los sistemas no son homólogos.



### 1.3 ESCALADO DE LOS PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS

En los procesos biotecnológicos se dan interacciones complejas entre los fenómenos de transporte y la cinética microbiana que determinan el rendimiento del proceso en el bio-reactor.

La cinética microbiana no es dependiente de la escala, pero los fenómenos de transferencia si lo son. Debido a esto se originan problemas durante escalado, asociados a valores relacionados con los fenómenos de transporte, y con la cinética de crecimiento, como por ejemplo el  $k_{La}$ , que a su vez está relacionado con el tiempo de circulación, el tiempo de residencia de gas, y con la transferencia de masa.

Un análisis que relacione los factores mencionados permite concluir que en la mayoría de los procesos biotecnológicos la transferencia de oxígeno desde la burbuja hacia el medio líquido es con frecuencia la función crítica que afecta el ambiente extracelular en un bio-reactor y que –además- está directamente influenciada por la agitación y aireación que constituyen los principales parámetros de operación, razón por la que es indispensable abordar el aspecto de la aireación y de la agitación.

#### 1.3.1 AGITACIÓN

La agitación es una operación física que tiene como propósito la homogenización del fluido mediante la eliminación de gradientes de concentración, temperatura y otras propiedades. Cuando un sistema se encuentra perfectamente mezclado existe una distribución homogénea de sus propiedades en el volumen de mezcla.

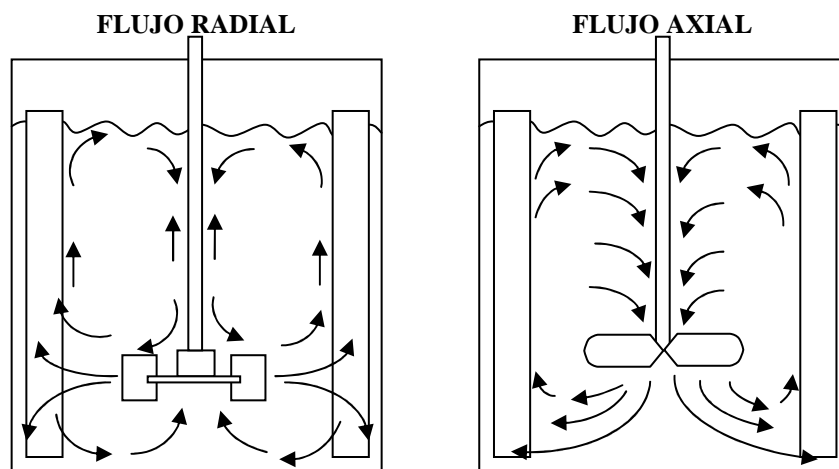
Por esto, la agitación influye en la combinación de los componentes solubles del medio, en la dispersión de gases como el aire en forma de burbujas que atraviesan un líquido, y como consecuencia, inclusive, un aumento en la eficiencia

de la transferencia de calor hacia o desde el medio líquido, porque mejora el coeficiente de transferencia por convección. (Holman, 1998)

En los procesos biotecnológicos, la agitación constituye la operación más importante porque garantiza que el microorganismo tenga acceso a todos los nutrientes presentes en el sustrato, que incluye el oxígeno cuando se trata de cultivos aerobios, con lo cual se crean las condiciones ambientales óptimas para la fermentación.

La ausencia de un proceso adecuado de mezcla en el medio de cultivo, aún cuando la composición del sustrato sea rica en nutrientes, dará lugar a la formación de zonas con deficiencia de fuentes de carbono y nitrógeno en aquellos puntos en el bioreactor donde hay mayor consumo por parte del microorganismo. Adicionalmente, este problema se acentúa si en la mezcla no se mantiene una suspensión uniforme de biomasa.

La técnica de mezcla habitual en los procesos fermentativos es la agitación mecánica mediante turbina. En bio-reactores de tipo tanque esto se realiza mediante una turbina que se instala en la parte inferior de un agitador mecánico situado sobre el eje longitudinal del tanque. La rotación de la turbina cumple la función de impulsar el líquido, creando un flujo regular desde la turbina, a través del reactor y que retorna a la región de agitación, como se aprecia en la Figura 1.1.



**Figura 1.1.** Patrón de flujo radial y axial en turbinas.  
(Doran, 1995)

La viscosidad del líquido que se va a agitar y la sensibilidad del sistema a los esfuerzos de corte son los principales factores que afectan la elección del tipo de turbina más adecuado para el proceso. Por esto, en los casos de procesos biotecnológicos que se desarrollan con concentraciones bajas de microorganismo en el inóculo, se recomienda la utilización de agitadores de paletas planas, ya que el medio de cultivo presenta una viscosidad mediana a baja.

En la actualidad existen varios diseños de turbinas entre los que destacan las hélices marinas y los tornillos helicoidales. Sin embargo el agitador más utilizado en la industria de fermentación es la turbina de disco con seis o cuatro paletas planas conocida comúnmente como turbina Rushton, que tiene la característica de mantener constante el Número de Potencia, mientras la viscosidad del medio de fermentación aumenta con la formación de biomasa.

#### **1.3.1.1 Mecanismos de agitación**

Un proceso efectivo de mezcla se describe como la combinación de tres procesos físicos: distribución, dispersión y difusión, que constituyen los mecanismos de agitación y cuya finalidad es que el fluido impulsado alcance una velocidad que sea suficiente para arrastrar el material hacia las partes más lejanas del reactor y para formar turbulencias en un tiempo razonable. (Doran, 1995)

El término “distribución del fluido” se refiere a la manera en que las líneas de flujo se distribuyen en el reactor de manera homogénea, con la misma concentración, luego de que han sido recirculadas de forma regular a través de la zona de mezcla debido a la acción de bombeo periódica de la turbina, desde las zonas de alta turbulencia cercanas a esta, hasta las zonas más alejadas, donde el flujo es lento y casi laminar.

Aunque en principio, al aumentar la velocidad de agitación la velocidad de mezcla se incrementa. Sin embargo, cuando el fluido alcanza el régimen turbulento la

velocidad de mezcla se vuelve independiente de la velocidad de agitación. Por esto la distribución constituye la etapa más tardía del proceso de mezcla.

El término “dispersión” se refiere al proceso de ruptura de la corriente turbulenta del fluido en remolinos de menor tamaño, que facilita una rápida transferencia de masa a través del reactor.

El grado de homogeneidad que se alcanza durante este proceso está limitado por el tamaño de los remolinos, que se puede estimar mediante la escala de mezcla de Kolmogorov o mediante una escala de turbulencia, que es función de la viscosidad del fluido y de la velocidad específica de disipación de energía turbulenta del líquido. (Doran, 1995)

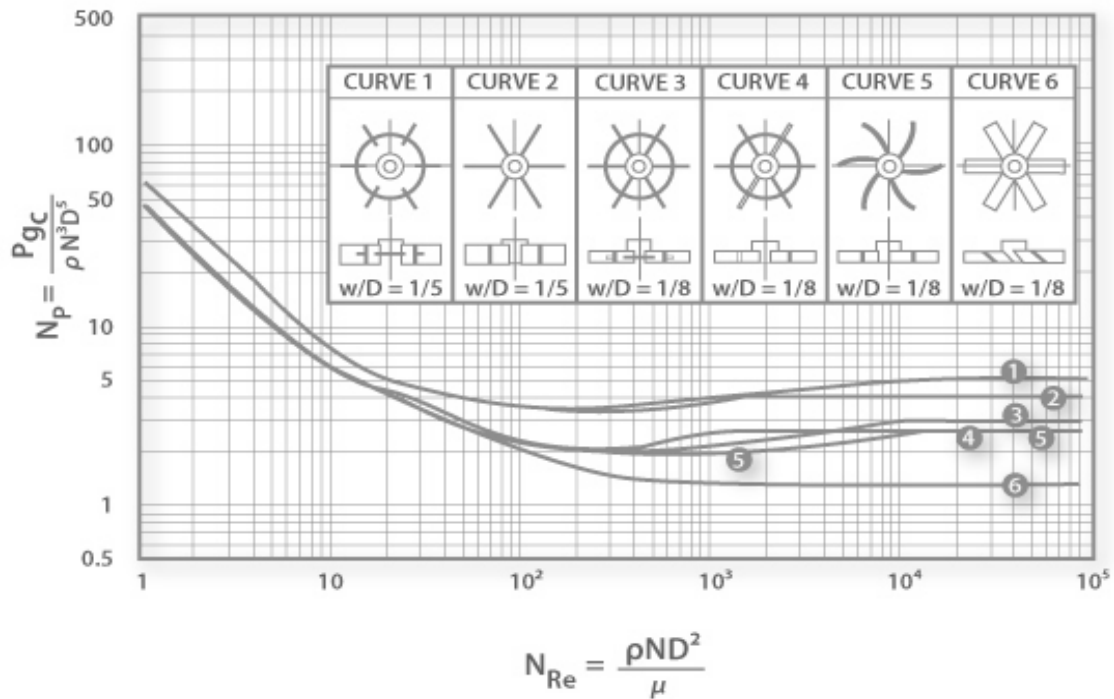
La difusión es el proceso a través del cual se alcanza la homogenización en el interior de los remolinos a una escala menor que la de Kolmogorov. La difusión se considera un proceso lento, pero si se trata de fluidos de baja viscosidad la homogeneidad se puede alcanzar en aproximadamente un segundo en el interior de remolinos de 30 a 100  $\mu\text{m}$ . (Stanbury *et al.*, 1995)

### **1.3.1.2 Parámetros de escalado relacionados con la agitación**

La potencia transferida al fluido por unidad de volumen, el tiempo de mezcla y la “velocidad de punta” del agitador son parámetros de escalado que dependen de la agitación. Esto se debe a que el efecto de la agitación incrementa el área de transferencia de oxígeno, retrasa el escape de las burbujas de aire desde el medio líquido hacia el medio ambiente, y previene la coalescencia entre las burbujas.

La potencia por unidad de volumen es la energía que la turbina transfiere al fluido al rotar a una velocidad de agitación dada. La energía requerida constituye, por otro lado, la energía necesaria, que se consume en el proceso de mezcla en la interface gas-líquido durante el contacto entre las burbujas de gas y los remolinos de fluido.

La potencia consumida durante la agitación de un fluido sin aireación se describe mediante el número adimensional de potencia que constituye la relación entre las fuerzas externas ejercidas por el fluido y las fuerza inercial impartida. (Stanbury *et al.*, 1995)



**Figura 1.2.** Curva de potencia para diferentes tipos de agitador en un bio-reactor tanque agitado estándar provisto con deflectores.

(Stanbury *et al.*, 1995)

En la Figura 1.2 se presentan curvas típicas de Número de Potencia ( $N_P$ ) versus Números de Reynolds de Agitación ( $N_{RE}$ ) para diferentes tipos de turbinas y para una hélice, válidas para el caso de un bio-reactor estándar con deflectores.

En los trazos de esta figura, la porción recta de las curvas, ubicada entre un Número de Reynolds igual a 0 y a 10 delimita la zona de régimen laminar de agitación. A continuación de esta región, pueden observarse la región del régimen de transición, que se ubica en el rango  $10 < N_{RE} < 10^3$ . A partir del anterior límite superior, puede observarse la zona de régimen turbulento de agitación.

Es usual comparar los números de potencia de la mayoría de los agitadores en la región entre un número de Reynolds de  $10^3$  y de  $10^4$ .

La potencia transferida es función de la resistencia ofrecida por el fluido a la rotación del agitador, así como de los parámetros de diseño del agitador. Los gráficos de la ilustración anterior muestran que cuando el sistema opera en régimen laminar la potencia transferida depende de la viscosidad del fluido mientras que en régimen turbulento la potencia es muy poco o casi nada dependiente de la viscosidad.

Por otra parte, y aunque no se pueda concluir esto de los gráficos, la potencia transferida a un sistema con aireación debe ser menor que la potencia transferida a un sistema sin aireación, porque las burbujas de aire disminuyen la densidad del sistema y por consiguiente reducen los requerimientos de potencia.

Únicamente el 30% de los procesos de escalado desarrollados en el ámbito de la biotecnología a escala industrial emplean la potencia por unidad de volumen como criterio de escalado. Esto se debe a que este criterio no es energéticamente eficiente ya que incrementa el esfuerzo cortante máximo en un 28% a 40% lo cual, además, provoca disminución en la velocidad de propagación del microorganismo durante el proceso fermentativo. (García y Gómez, 2009)

El tiempo de mezcla es el tiempo necesario para que el sistema alcance un cierto grado de homogeneidad partiendo de un estado completamente segregado. Constituye un parámetro útil para evaluar la efectividad de mezcla y se aplica para la caracterización del flujo en los bio-reactores.

El método usual para la determinación del tiempo de mezcla está basado en la inyección de un trazador en el reactor, y en la medición de la concentración en un punto del tanque a diferentes tiempos. En estas determinaciones el tiempo de mezcla se toma como el tiempo que debe transcurrir hasta que la concentración del trazador difiera de la concentración final en menos del 10% de la diferencia entre la concentración final y la inicial.

En los bio-reactores tipo tanque agitado el tiempo de mezcla depende tanto de los parámetros de diseño como por ejemplo tipo, número y disposición de los

agitadores, así como de la capacidad del tanque y el diámetro del agitador, así como de propiedades del fluido como la viscosidad y de las condiciones de operación referidas a la velocidad de agitación.

Los fermentadores a escala industrial, que operan con un volumen entre 1 y 100 m<sup>3</sup>, presentan tiempos de mezcla entre 30 y 120 s de acuerdo con la velocidad de agitación. (Doran, 1995)

El 10% de los procesos de escalado desarrollados en el ámbito de la biotecnología a escala industrial emplean el tiempo de mezcla como criterio de escalado (García y Gómez, 2009). No obstante se ha comprobado que este criterio es energéticamente menos eficiente que emplear la potencia entregada por unidad de volumen.

Esto se debe a que, si –de acuerdo con este criterio- el tiempo de mezcla debe ser lo más pequeño posible para conseguir una mezcla efectiva, para esto se debe utilizar un agitador con diámetro grande, y se le debe imprimir una elevada velocidad de agitación, lo que produce un consumo elevado de energía especialmente si se trata de reactores de gran capacidad. (Hishman y Alam, 2005)

La velocidad de punta del agitador conocida también como velocidad periférica es la velocidad de agitación, que –a su vez- proporciona la fuerza cortante que es necesaria para dispersar las burbujas de aire.

La dispersión de las burbujas exige un balance de fuerzas opuestas. Por un lado está la fuerza de corte que produce remolinos turbulentos, que tiene como objetivo la deformación y ruptura de las burbujas en tamaños más pequeños. Por otro lado está la tensión superficial en la interface gas-líquido que se opone a la ruptura de las burbujas.

Un proceso fermentativo requiere de una ruptura eficiente de las burbujas que no produzca daños en el microorganismo por efecto de las fuerzas de corte. Por esta razón se deben considerar los niveles de sensibilidad del microorganismo a las fuerzas de corte así como los mecanismos puedan causar del daño celular durante el proceso, que se mencionan a continuación:

- Interacción entre células y los remolinos turbulentos.
- Formación de fuerzas de corte en las capas límite y remolinos cerca de los objetos sólidos presentes en el reactor, principalmente los agitadores.
- Ascenso de las burbujas de aire a través del líquido, que origina fuerzas de corte.
- Estallido de las burbujas en la superficie del medio de cultivo.

El 20% de los procesos de escalado desarrollados en el ámbito de la biotecnología a escala industrial emplean la velocidad de punta del agitador como criterio de escalado. (García y Gómez, 2009)

Esto se debe a que este criterio presenta ventajas frente a otros criterios, en aquellos procesos en los que el microorganismo tiene una sensibilidad elevada a los esfuerzos de corte, y a que es posible determinar el esfuerzo cortante máximo que se debe aplicar para evitar daño celular y lograr un tamaño de burbuja adecuado.

Sin embargo, la utilización de este criterio de escalado provoca una reducción de la potencia por unidad de volumen lo cual origina una disminución significativa de la tasa de transferencia de oxígeno en el proceso.

### **1.3.2 AIREACIÓN**

La aireación es la variable principal de operación en procesos aerobios de fermentación, porque provee el oxígeno necesario para el crecimiento del microorganismo, mientras que la agitación mantiene la homogeneidad del medio de cultivo.

El aire ingresa al bio-reactor por medio de un aspensor que produce una corriente de burbujas de tamaño adecuado, que es función de la caída de presión originada



por la relación que existe entre el diámetro de la conducción y el diámetro de los orificios del aspersor.

Los sistemas de aspersión de acuerdo con Stanbury *et al.*, 1995, pueden ser de tres tipos:

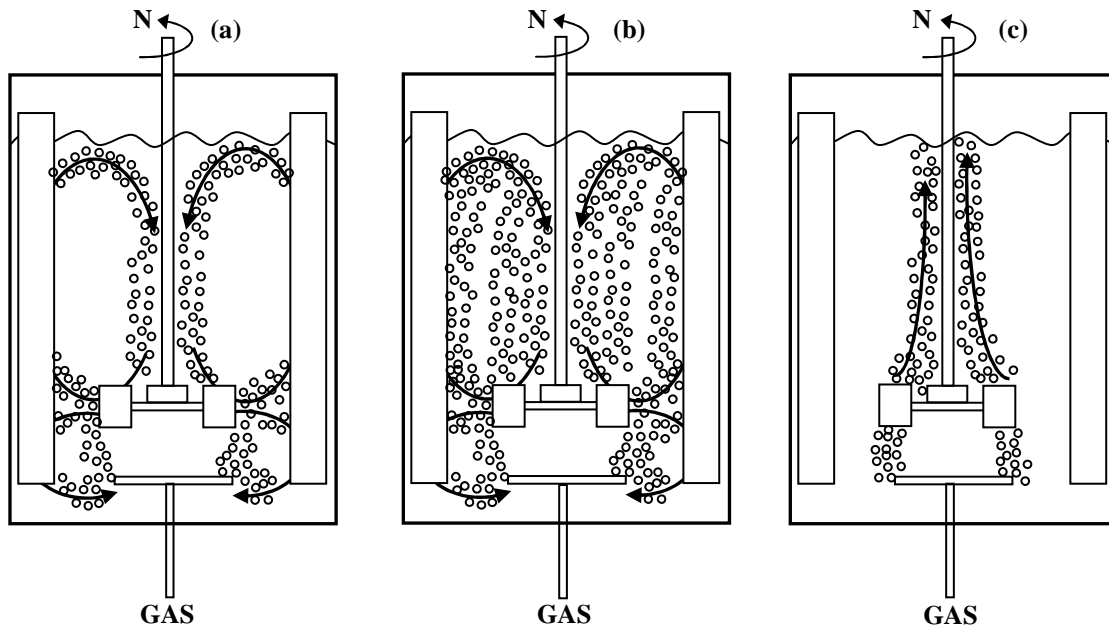
- Porosos: se emplean mayoritariamente en escala de laboratorio, en bio-reactores sin agitación. Su rendimiento es bajo debido a la elevada caída de presión, que se incrementa por el taponamiento de los orificios producido por la biomasa que se acumula sobre el aspersor durante el proceso fermentativo.
- De tubería perforada: en este tipo de aspersor la tubería puede disponerse en varios tipos de arreglo, entre los que se pueden citar los aspersores anulares, y los que tienen forma de cruz. En estos aspersores, los orificios se perforan en la superficie que mira hacia el fondo del reactor, para evitar el taponamiento de los orificios por depósitos de biomasa que podrían ocurrir durante el proceso fermentativo por acción de la fuerza de la gravedad.

Se ha comprobado (Nienow *et al.*, 1994) que en los reactores tipo tanque agitado se puede alcanzar un 50% más de eficiencia en la transferencia de oxígeno disuelto desde la burbuja hacia el medio de cultivo, si la longitud total del aspersor es igual a 1,2 veces el diámetro del agitador; y si se lo instala por debajo de la turbina inferior de agitación, a una distancia aproximada de tres cuartos del diámetro del agitador.

- De tobera: está conformado únicamente por un orificio que deja pasar una corriente de burbujas de aire. Se utiliza tanto a escala de laboratorio como a escala industrial. Idealmente, este tipo de aspersor debe estar ubicado sobre el eje longitudinal del bio-reactor, a una distancia adecuada por debajo de la turbina inferior de agitación para evitar que se produzca el fenómeno de inundación. El rendimiento de este aspersor es elevado porque la caída de presión es baja, y porque los problemas de taponamiento son escasos.

En todos los tipos de aspersores, la velocidad de aireación influye directamente en el tamaño de las burbujas, y -por consiguiente- en el área interfacial de transferencia de oxígeno.

Sin embargo, los patrones de flujo en el bio-reactor son función tanto de la velocidad de agitación, que es responsable de la dispersión de las burbujas, como de la tasa de aireación.



**Figura 1.3.** Efecto del flujo de aire en el patrón de flujo para reactores tipo tanque agitado.

(Nienow *et al.*, 1994)

En la Figura 1.3 se muestran los patrones de flujo para diferentes reactores tipo tanque agitado, con diferentes combinaciones de velocidad de agitación y flujo de aire, que aumentan en el gráfico de izquierda a derecha.

El caso (c) muestra el fenómeno de inundación del agitador, que se produce cuando el flujo de aire predomina sobre la agitación en el patrón de flujo debido a un sistema de agitación pobre, sin dispersión adecuada.

Sin embargo, como en la mayoría de los casos, la tasa de aireación empleada es baja, y se encuentra dentro del rango de 0,5 a 1,5 VVM, la agitación predomina sobre la aireación y como consecuencia se producen velocidades de transferencia de oxígeno extremadamente bajas, con el consiguiente peligro de inundación.

Por esta causa, se han llevado a cabo muchas investigaciones para establecer las condiciones que permitan evitar la inundación. Los resultados de la investigación más aceptada indican que la inundación ocurre porque la energía disipada por el

flujo de aire es mayor que la que disipa el agitador, y que para evitar este fenómeno el agitador se debe operar con una velocidad de punta entre 1,5 y 2,5 m/s. (Kudrewizki y Rabe, 2001)

La velocidad superficial del aire es el principal parámetro de escalado relacionado con la aireación (García y Gómez, 2009). Esta velocidad se define como la velocidad promedio de ascenso de la corriente de burbujas generadas en el aspersor, y está fuertemente influenciada por la dispersión y la efectividad de mezcla durante la fermentación, y -por esta causa- constituye un factor importante en el diseño de los bio-reactores tipo tanque agitado.

Sin embargo de lo anteriormente citado, únicamente el 5% de los procesos de escalado desarrollados a escala industrial emplean este parámetro como criterio de escalado, porque su empleo produce resultados muy pobres, aún en el caso de aplicarse en procesos de reducción de escala (scale down), que es el campo en el que se recomienda su utilización.

En el transcurso de este trabajo, se ha comprobado que su ineficacia se debe a que su aplicación implicaría una operación con flujos de aire inmanejables desde el punto de vista práctico que alterarían el coeficiente de transferencia de oxígeno.

### **1.3.3 COEFICIENTE VOLUMÉTRICO DE TRANSFERENCIA DE OXÍGENO**

*$k_{La}$*

En los cultivos aerobios el oxígeno disponible para la respiración del microorganismo es aquel que está disuelto en el medio líquido, razón por la que es obvio que la velocidad de transferencia de oxígeno debe ser mayor, o a lo más igual, que la velocidad a la que se consume.

Cuando las células están dispersas en el líquido y puede considerarse que el medio de cultivo se encuentra en mezcla perfecta, la mayor resistencia a la transferencia de oxígeno corresponde a la película líquida que rodea las burbujas de gas. (García y Gómez, 2009)

Por esta razón el parámetro que permite caracterizar la capacidad de transferir oxígeno de un bio-reactor es el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno  $k_{La}$ .

Este coeficiente, que constituye el criterio de escalado más exitoso, debe tener un valor que permita que la concentración de oxígeno disuelto que sea óptima para la formación de producto se mantenga constante a lo largo del proceso fermentativo. (Gill *et al.*, 2008)

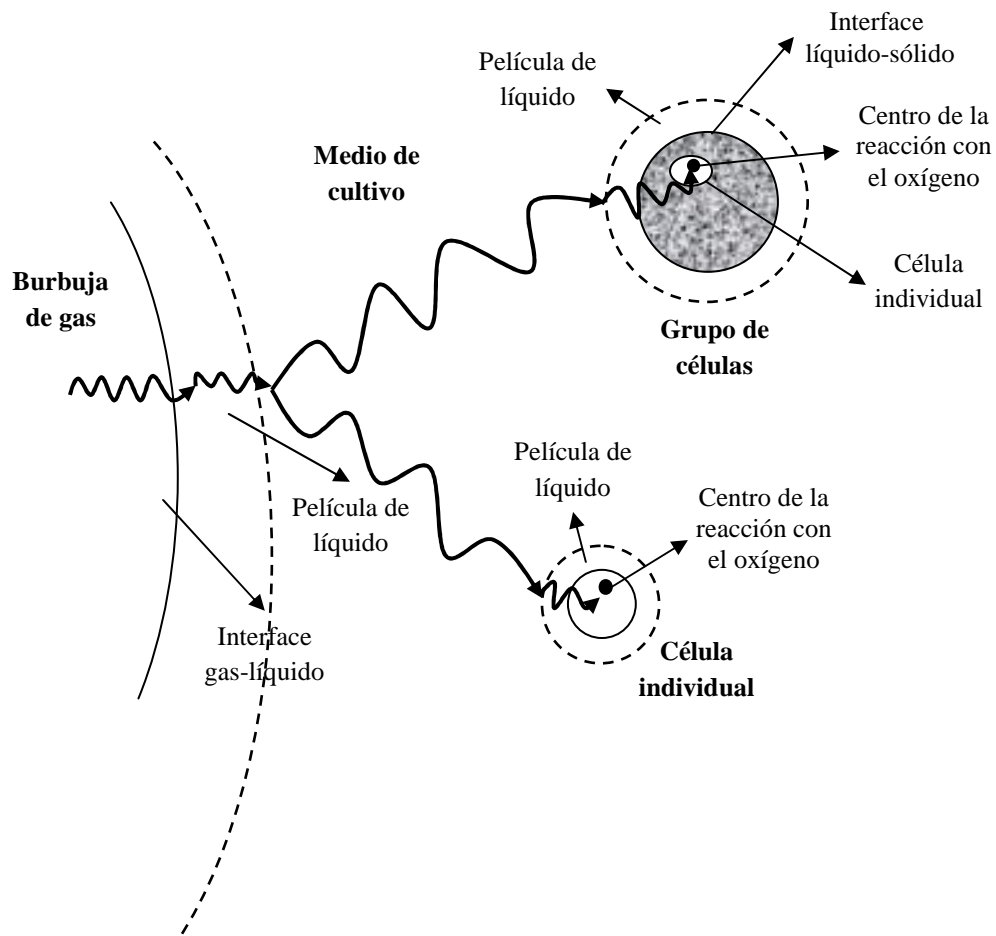
Los resultados experimentales, en la mayoría de los procesos de escalado, demuestran que prácticamente no existe diferencia entre los rendimientos obtenidos en los procesos fermentativos realizados, en diferentes escalas cuando el coeficiente volumétrico de transferencia se mantiene constante.

La tasa de transferencia de oxígeno depende de la escala. Sin embargo esto puede obviarse manteniendo el coeficiente volumétrico constante, con lo que la tasa de crecimiento microbiano en el bio-reactor podrá mantenerse también constante.

### **1.3.3.1 Dinámica de la transferencia de oxígeno en el bio-reactor**

A pesar de que en los procesos fermentativos aerobios el principal nutriente es el oxígeno, su solubilidad en soluciones acuosas a temperatura y presión ambiente es solo aproximadamente de 10 ppm.

Esto implica que el oxígeno sea rápidamente consumido por el microorganismo, y que deba renovarse constantemente mediante la inyección de aire. Sin embargo, el oxígeno debe superar una serie de resistencias antes de que pueda ser absorbido por el microorganismo. Estas resistencias se ilustran en Figura 1.4.



**Figura 1.4.** Pasos en la transferencia de oxígeno desde la burbuja de aire hasta la célula.

(Doran, 1995)

El mecanismo de transferencia de oxígeno puede describirse de la manera que se indica a continuación:

- Transferencia desde el interior de la burbuja hasta la interfase gas-líquido.
- Movimiento a través de la interfase gas-líquido.
- Difusión a través de la película líquida relativamente inmóvil que rodea la burbuja.
- Transporte a través del seno del fluido.
- Difusión a través de la película líquida relativamente inmóvil que rodea las células.

- Movimiento a través de la interface líquido-célula.
- Difusión a través del sólido hasta cada célula individual en el caso de que las células se encuentren en un floculo, agregado o partícula sólida.
- Transporte a través del citoplasma hasta el lugar de reacción.

La evaluación de la dinámica de transferencia de oxígeno en los bio-reactores de tipo tanque agitado demuestra que la velocidad transferencia a través del seno de la fase gaseosa es relativamente rápida; que la resistencia en la interface gas-líquido y célula-líquido es despreciable; y que, cuando las condiciones se aproximan a la “mezcla perfecta” los gradientes de concentración en el seno del líquido son mínimas, por lo que la resistencia a la transferencia de masa en esta región es pequeña. (Hishman y Alam, 2005)

Los resultados de este análisis permiten establecer que el valor relativo de las diferentes resistencias a la transferencia depende de la composición y propiedades reológicas del medio de cultivo; de la intensidad de la mezcla; del tamaño de las burbujas de aire, y de las características de adsorción en la interface. Y que todos estos parámetros afectan directamente la resistencia en la película líquida alrededor de las burbujas, que como ya se ha dicho, constituye la fase controlante del proceso de transporte de oxígeno.

### **1.3.3.2 Factores que afectan el $k_La$**

El tamaño de las burbujas de aire, la tasa de consumo de oxígeno por parte de la población microbiana y la presencia de agentes antiespumantes son factores que influyen la eficacia de la transferencia de oxígeno desde la burbuja hacia el medio líquido.

El primer factor que afecta el  $k_La$  es el tamaño de las burbujas de aire que es función del nivel de dispersión de gas del bio-reactor, que –a su vez- depende de

la escala de producción, y es el resultado de la combinación entre la velocidad de agitación y el flujo de aire durante el proceso fermentativo.

Las relaciones que existen entre el valor de  $k_{La}$  y las variables de operación mencionadas, definidas en función de la potencia por unidad de volumen y la velocidad superficial de aire, se presentan en forma tabular, a continuación, conjuntamente con los autores que propusieron las correlaciones.

**Tabla 1.1.** Relación entre el  $k_{La}$  y las variables de operación definidas en función de la potencia por unidad de volumen y velocidad superficial de aire

Autor	Relación
Van't Riet	$k_{La} = 0,026 * \left(\frac{P}{V}\right)^{0,4} * (Vs)^{0,5}$
Richards	$k_{La} = K * \left(\frac{P}{V}\right)^{0,4} * (Vs)^{0,5} * (N)^{0,5}$
Fukuda	$k_{La} = 4,8 * Ni * \left(\frac{P}{V}\right)^{0,56} * (Vs)^{0,7} * (N)^{0,5}$
Hospodka	$k_{La} = 0,56 * \left(\frac{P}{V}\right)^{0,72} * (Vs)^{0,12}$
Taguchi	$k_{La} = 1,78 * \left(\frac{P}{V}\right)^{0,35} * (Vs)^{0,56}$

La eficiencia de ruptura de las burbujas en los reactores a escala industrial es menor que en la escala de laboratorio, donde la relación entre la cantidad de medio de cultivo que se encuentra cerca del rodete es mayor que en la escala industrial, por lo que las burbujas están sujetas a distorsiones que interaccionan con las corrientes turbulentas del líquido.

Por el contrario, en las escalas industriales la relación entre la cantidad de medio de cultivo que se encuentra cerca del área de influencia de la turbina es menor, por lo que el tiempo durante el cual las burbujas flotan libremente a través del líquido después de la dispersión inicial del agitador es mayor que en la escala de laboratorio.

En ambas escalas, las burbujas con tamaños mayores a 3 mm desarrollan una circulación interna y superficies móviles que les permiten moverse en espirales

durante el ascenso libre a través del medio líquido, y así dar lugar a la formación de remolinos que provocan un aumento en el  $k_{La}$ . (Doran, 1995)

Otro factor de influencia es la tasa de absorción de oxígeno, ya que la transferencia de oxígeno se ve afectada por el crecimiento del microorganismo en el medio de cultivo, debido a que la masa celular interfiere en la ruptura y coalescencia de las burbujas.

El efecto cuantitativo depende de cada sistema porque el valor de  $k_{La}$  puede variar ampliamente debido a la diferente concentración de células, sustrato y productos, que son magnitudes que varían durante la fermentación.

Sin embargo, investigaciones realizadas en diferentes medios de cultivo han demostrado que el incremento de la tasa de consumo de oxígeno por parte de la población microbiana aumenta el  $k_{La}$ . (Doran, 1995) Esto sucede porque a un mayor consumo de oxígeno menor es la concentración en el equilibrio, por lo tanto la diferencia entre la concentración de saturación y la concentración en equilibrio aumenta. Este gradiente actúa como fuerza impulsora para la transferencia de oxígeno, incrementando el  $k_{La}$ .

Finalmente, la influencia de los agentes antiespumantes que en el proceso fermentativo afecta la química de la superficie de las burbujas así como su tendencia a coalescer debido a la disminución de la tensión superficial, que provoca una reducción del diámetro de la burbuja, y consecuentemente un aumento de área interfacial específica.

No obstante, esto se contrarresta por una disminución de la movilidad de la interfase gas-líquido, lo cual ocasiona, a su vez, una disminución del  $k_{La}$ .

Por lo anterior, para controlar la formación de espuma en el bioreactor, y con la finalidad de mantener el carácter no coalescente del medio y la eficacia de la transferencia de oxígeno es recomendable utilizar métodos mecánicos en vez de métodos químicos. (Doran, 1995)



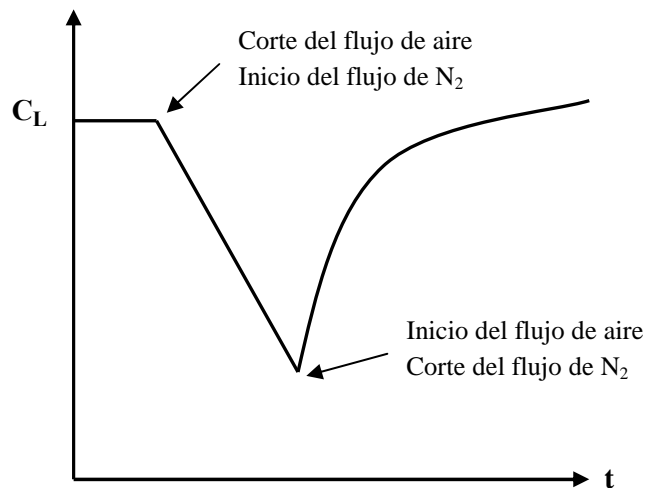
### 1.3.3.3 Medición del $k_{La}$

El método dinámico y estático en dos etapas constituyen las principales técnicas para la medición del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno.

El método estático en dos etapas descrito por Wise, 1951 es ampliamente utilizado debido a su simplicidad. Sin embargo, para implementarlo, se requieren cantidades significativas de nitrógeno y, además, no se recomienda su aplicación en bioreactores con un nivel de líquido mayor a un metro. (Van't Riet y Tramper, 1991)

El esquema del método estático se presenta en la Figura 1.5, donde la primera etapa constituye la desoxigenación del medio de cultivo mediante la aspersion de nitrógeno lo que ocasiona la disminución de la concentración de oxígeno disuelto.

En la segunda etapa del proceso se reinicia la aireación en el bioreactor y el aumento de la concentración de oxígeno se monitorea por medio de un electrodo de oxígeno disuelto.



**Figura 1.5.** Esquema del método estático en dos etapas para la determinación del  $k_{La}$

Considerando que el medio de fermentación se encuentra en mezcla perfecta y que no existe absorción de oxígeno por parte de la población microbiana, la tasa de transferencia de oxígeno se describe mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a^* (C^* - C_L) \quad [1.1]$$

Donde:

$k_L a$ : coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno

$C^*$ : concentración de saturación de oxígeno disuelto

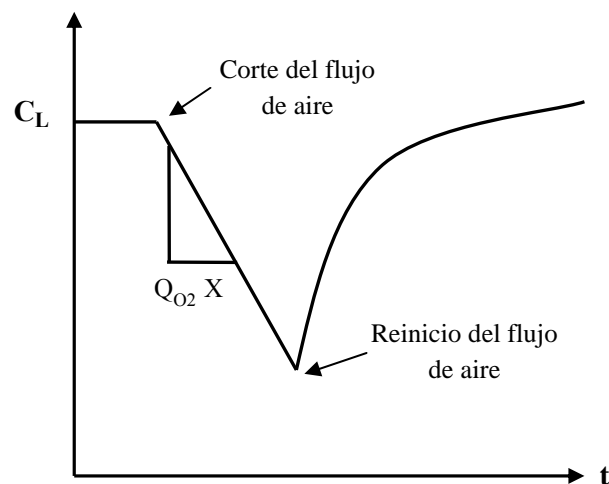
$C_L$ : concentración de oxígeno disuelto a un determinado tiempo

La integración de la ecuación anterior permite establecer la siguiente expresión:

$$k_L a = \frac{1}{t} * \ln \left( \frac{C^* - C_{L0}}{C^* - C_L} \right) \quad [1.2]$$

El coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno se determina como la pendiente de la recta que se obtiene al graficar  $\ln(C^* - C_{L0} / C^* - C_L)$  versus el tiempo.

El método dinámico en dos etapas descrito por Taguchi y Humprey, 1966, está basado en la influencia de la respiración microbiana en la variación de la concentración de oxígeno disuelto en el medio de cultivo. El esquema del método se presenta en la Figura 1.6, donde la primera etapa constituye la suspensión de la aireación al bio-reactor que ocasiona la disminución de la concentración de oxígeno disuelto debido a la actividad respiratoria de la población microbiana en la biomasa.



**Figura 1.6.** Esquema del método dinámico en dos etapas para la determinación del  $k_L a$   
 No obstante, en esta etapa se debe evitar la suspensión de aire por mucho tiempo ya que podría afectar el metabolismo del microorganismo.

Durante la segunda etapa del proceso se reinicia la aireación en el bio-reactor y el incremento de la concentración de oxígeno se monitorea por medio de un electrodo de oxígeno disuelto. El balance global que describe la transferencia de oxígeno en se describe mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a * (C^* - C_L) - Q_{O_2} * X \quad [1.3]$$

Donde:

$k_L a$ : coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno

$C^*$ : concentración de saturación de oxígeno disuelto

$C_L$ : concentración de oxígeno disuelto a un determinado tiempo

$Q_{O_2}$ : tasa específica de respiración microbiana

$X$ : concentración de microorganismo en el medio

El reordenamiento de la expresión anterior permite determinar el valor de  $k_L a$  como el recíproco de la pendiente de la recta que se obtiene al graficar  $C_L$  versus  $dC_L/dt + Q_{O_2} * X$ .

## **2 METODOLOGÍA**

### **2.1 DISEÑO DE LOS CABEZALES PARA LOS REACTORES MODELO DE 2 Y 14 L**

El diseño de los reactores modelo de 2 y 14 L (que en adelante se denominarán simplemente “los modelos”), se realizó con base en la estructura, diseño y disposición del sistema de agitación, aspersionador de aire y sistema de transferencia de calor del prototipo BIOLAFITTE (que en adelante se denominará simplemente “el prototipo”), que es un reactor a escala piloto, de 150 L de capacidad, construido en acero inoxidable 304, fabricado en Francia en 1992.

El control de temperatura, de la velocidad de agitación, y de la concentración de oxígeno en el bio-reactor prototipo se realizan mediante un módulo de control que recibe las señales de la termocupla, el osciloscopio óptico y la señal de voltaje del electrodo polarográfico de oxígeno disuelto. Por otro lado, para controlar estas mismas variables, en los reactores modelo de 2 y 14 L se emplearon los módulos existentes de control marca BRUNSWICK serie MF-100. Por esta razón, los cabezales de las unidades que se adaptaron a la infraestructura se diseñaron, así mismo, de acuerdo a las tomas de señales que preexistían en dichos módulos. Una vez diseñados los cabezales y elaborados los planos de construcción que se muestran en el Anexo I, se encargó a la empresa ACINDEC “Aceros Industriales del Ecuador” la fabricación de los reactores modelo.

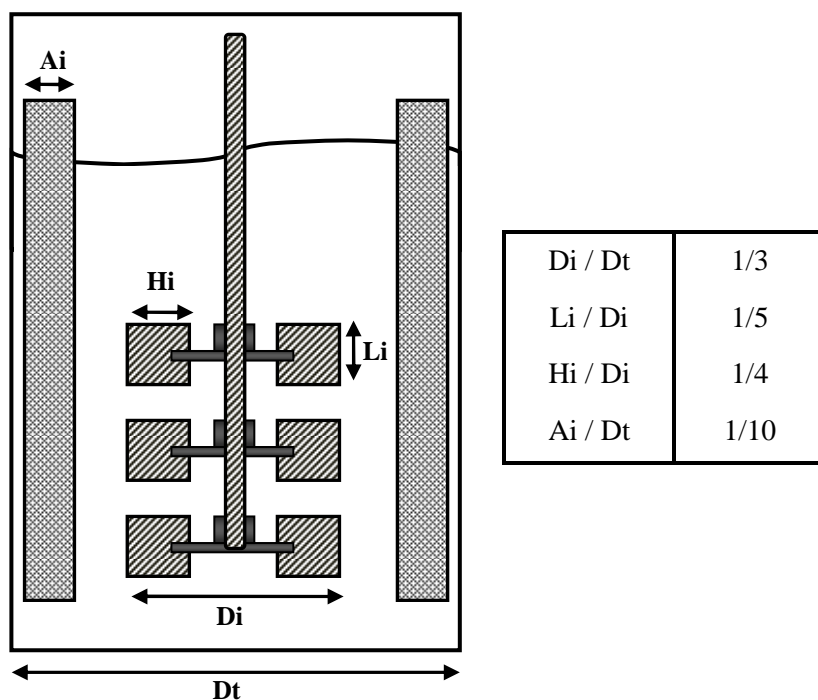
#### **2.1.1 DISEÑO DEL SISTEMA DE AGITACIÓN**

El prototipo dispone de un sistema de agitación múltiple, conformado por tres agitadores de flujo radial tipo disco-turbina, de cuatro paletas planas, unidas a un

eje que gira en sentido anti-horario, propulsado por un sistema de dos bandas y dos poleas, que –a su vez- es impulsado por un motor de corriente continua.

Para el diseño de los agitadores en los modelos se aplicaron las relaciones de similitud geométrica estándar para el escalado de fermentadores de tipo tanque agitado, que se presentan en la Figura 2.1, de acuerdo con los valores estandarizados de Quintero, 1981.

Para esto inicialmente se verificó que el prototipo cumpla con las relaciones estándar de similitud geométrica. Para la comprobación respectiva las dimensiones se midieron con un calibrador vernier marca ORION de  $\pm 1/20$  mm de precisión. El diámetro del bioreactor y el ancho de los deflectores se midieron con un flexómetro marca YOKOHAMA de  $\pm 0,5$  mm de precisión.



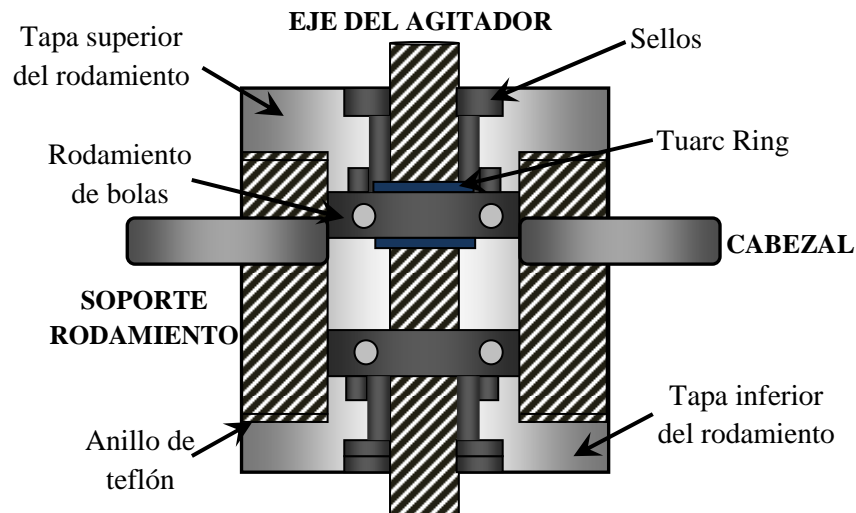
**Figura 2.1.** Relaciones de similitud geométrica estándar para un bio-reactor.

(Quintero, 1981)

Para establecer la posición de los agitadores en los modelos, en el prototipo se midieron las distancias entre el agitador inferior y el fondo del bio-reactor, el agitador superior y el nivel del líquido y entre cada agitador. Con estas medidas se determinaron las relaciones entre las distancias anteriormente mencionadas y el diámetro del agitador, así como la relación entre el nivel del líquido y el

diámetro del bio-reactor, y, adicionalmente, también se estimó el volumen de operación.

Para completar el diseño del sistema de agitación se calculó el diámetro del eje del agitador en los modelos, que se muestra en la Figura 2.2.



**Figura 2.2.** Diagrama del sistema de agitación.

(Manual Brunswick, 1987)

El eje del agitador transmite la potencia al disco-turbina de paletas por lo que el torque y los momentos de flexión se consideraron en su diseño.

Los momentos de flexión se dan cuando el agitador experimenta fuerzas horizontales fluctuantes que lo deforman y lo empujan hacia las paredes del bio-reactor, que se propagan por el eje hasta llegar a los rodamientos inferiores localizados en la parte superior del sistema de agitación induciendo un torque en todo el sistema de agitación. Por esta razón el eje debe tener un diámetro apropiado para resistir la fuerza producida por el torque dentro de los límites aceptables.

El diámetro del eje del agitador se calculó tomando en cuenta el módulo de trabajo del material (AISI 304) y el diámetro necesario para soportar el máximo torque, considerando un factor de seguridad de 2.

El torque constituye la fuerza ejercida por un brazo de palanca perpendicular al eje de rotación, que puede estimarse por medio de la ecuación siguiente:

$$T = F * d = K * \pi * \frac{D_{Ag}^3}{2} \quad [2.1]$$

Donde:

F: fuerza aplicada, que deberá ser mínimo igual a la torsión del acero.

d: distancia perpendicular al eje de rotación.

K: torsión del acero igual a  $500 \overrightarrow{\text{kg}}/\text{cm}^2$

$D_{Ag}$ : diámetro mínimo del eje del agitador.

Adicionalmente el torque también se puede estimar con referencia al cambio en el momento angular por unidad de tiempo, mediante la siguiente ecuación:

$$T = \frac{E}{3 * t * n} \quad [2.2]$$

Donde:

E: energía emitida por el motor hacia el eje de agitador.

t: unidad de tiempo.

n: velocidad de agitación máxima (1 000 rpm para el caso de los reactores modelo de 2 y 14 L de acuerdo con el manual de operación de los módulos Brunswick).

En este trabajo el diámetro mínimo del eje del agitador se determinó, mediante la ecuación [2.3] que resulta de la combinación de las dos ecuaciones anteriores, que hace referencia a la resistencia que deberá tener el eje del agitador respecto de la potencia del motor y el material del cual está construido.

$$\frac{\text{Pot}}{n} = \frac{3}{2} * K * \pi * D_{Ag}^3 \quad [2.3]$$



Donde:

Pot: potencia del motor de agitación ( $\frac{1}{2}$  hp para los reactores modelo de 2 y 14 L, de acuerdo con el manual de operación de los módulos Brunswick).

El diámetro del eje del agitador se calculó como el doble del diámetro mínimo del eje.

### **2.1.2 DISEÑO DEL ASPERSOR DE AIRE**

El prototipo tiene un aspersor de aire que consta de dos tuberías perforadas, dispuestas en cruz. El aspersor está ubicado en la parte inferior del prototipo. El sistema de aireación gira con los agitadores por estar unido al eje de agitación.

Para diseñar los aspersores de los modelos, se debieron calcular, en cada caso, tanto el diámetro del orificio, cuanto la longitud y el diámetro de la conducción de cada aspersor, así como el número de orificios.

Para esto inicialmente fue necesario determinar el diámetro de equilibrio de la burbuja mediante la ecuación [2.4].

Este diámetro representa el diámetro promedio de las burbujas en la región de agitación del sistema, ubicada encima del aspersor, que es el sitio donde se produce la separación de la burbuja y su consiguiente ruptura.

La estimación de este diámetro fue crucial en el contexto de este trabajo. Esto se debe a que fue con este valor que se calculó el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno  $k_La$  para el proceso.

La ecuación con la que se efectuó este cálculo resulta de un balance entre la presión externa ejercida sobre la burbuja a consecuencia del flujo turbulento y las fuerzas que resisten el movimiento ascendente, que mayoritariamente se deben a la tensión superficial. (García y Gómez, 2009).

$$db = 0,7 * \frac{\sigma^{0,6}}{\left(\frac{P}{V}\right)^{0,4} * \delta_L^{0,2}} * \left(\frac{\mu_L}{\mu_G}\right)^{0,1} \quad [2.4]$$

Donde:

$\frac{P}{V}$ : potencia de agitación con aireación por unidad de volumen

$\sigma$ : tensión superficial, se consideró el dato de agua en contacto con aire que es igual a 0,06791 N/m.

$\delta_L$ : densidad del líquido.

$\mu_L$  ;  $\mu_G$ : viscosidad del líquido y gas respectivamente.

La potencia de agitación con aireación (P) se estimó mediante la ecuación siguiente, considerando que en los modelos la agitación se logra mediante un sistema conformado por tres agitadores de tipo disco-turbina.

$$\frac{P}{P_o} = \frac{1}{\sqrt{1 + Z * \frac{V_s}{\sqrt{g * D_i}}}} \quad [2.5]$$

Donde:

P: potencia de agitación con aireación.

$P_o$ : potencia de agitación sin aireación

Z: factor de corrección de la potencia de agitación con aireación, para sistemas de agitación múltiple.

$V_s$ : velocidad superficial de aire, depende del flujo de aireación y del área transversal del reactor.

g: aceleración de la gravedad igual a 9,8 m/s<sup>2</sup>

$D_i$ : diámetro del agitador

En este trabajo se debió desarrollar una ecuación basada en análisis dimensional, para el cálculo de la potencia de agitación sin aireación ( $P_o$ ), que se muestra a continuación:

$$P_o = W * N_{ag} * N_p * \delta_L * N^3 * D^5 \quad [2.6]$$

Donde:

W: factor de corrección de la potencia de agitación sin aireación para sistemas de agitación múltiple.

$N_{ag}$ : número de agitadores

$N_p$ : número de potencia (para agitadores tipo disco turbina es igual a 6).

N: velocidad de agitación.

En esta ecuación se consideró el número adimensional de potencia, la velocidad de agitación, y el diámetro del agitador, además de un factor W para corregir el valor de la potencia en función de la distancia entre agitadores, en los casos en los que se debe manejar sistemas de agitación múltiple. De manera que se estableció el valor de este factor en 1 cuando la distancia entre agitadores es igual al doble del diámetro del agitador, y en un valor menor que la unidad cuando la distancia entre los agitadores se encuentra entre 0,5 y 1,5 veces el diámetro del agitador.

Posteriormente se determinó el diámetro del orificio, mediante la aplicación del modelo esférico de una fase desarrollado por Chuang y Goldschmidt, 1990, para la formación de la burbuja desde el orificio.

Este modelo se aplica cuando el líquido fluye en dirección paralela a la dirección de formación de la burbuja, bajo condiciones de flujo constante de aireación, y permite predecir el volumen y el tiempo de desprendimiento de la burbuja para un determinado diámetro del orificio, con las siguientes restricciones para su implementación:

- Durante su formación la burbuja mantiene su simetría alrededor de su eje longitudinal.

- La influencia de la viscosidad del gas y del líquido en la interface de la burbuja es despreciable.
- La formación de la burbuja no se afecta por la presencia de otras burbujas.
- El aire se comporta como gas ideal, y su flujo es adiabático.

El desarrollo del modelo se sustenta en dos criterios: El primero es un balance de fuerzas en la interface de la burbuja, donde la fuerza resultante se compone de las fuerzas de arrastre, y la tensión superficial, que se debe a la diferencia de presión entre el gas contenido en la burbuja y la presión que ejerce el líquido en el exterior de la misma.

En la formación dinámica de la burbuja, estas fuerzas son iguales a la tasa de cambio en el *momentum* del líquido, lo que se puede expresar de la siguiente manera:

$$\bar{m}_i = V_i * (\Delta m * \delta_L + \delta_G) \quad [2.7]$$

Donde:

$\bar{m}_i$ : masa desplazada del líquido acelerado

$V_i$ : volumen desplazado del líquido acelerado

$\Delta m$ : coeficiente de masa añadida (generalmente igual a 11/16)

$\delta_L$ ;  $\delta_G$ : densidad del líquido y gas respectivamente

El segundo criterio es el análisis termodinámico del sistema, que resulta de la aplicación de la primera ley de la termodinámica, lo que permite determinar la variación de la presión del gas en la burbuja (ecuación [2.8]), y en el aspersor (ecuación [2.9]), así como el flujo de gas a través del orificio (ecuación [2.10]), como se muestra a continuación:

$$\frac{dP_b}{dt} = \frac{1}{V_b} * \left\{ \gamma * \delta_c * q + (\gamma - 1) * \frac{\delta_c * q^3}{2 * a_o^2} - \gamma * P_b * \frac{dV_b}{dt} \right\} \quad [2.8]$$

$$\frac{dP_c}{dt} = \frac{\gamma}{V_c} * (P_a * Q - P_c * q) \quad [2.9]$$

$$q = C_o * \pi * r_o^2 * \left( \frac{P_c - P_b}{\delta_c} \right)^{0,5} \quad [2.10]$$

Donde:

$P_c$ : presión del gas en el aspersor

$P_b$ : presión del gas en la burbuja

$q$ : flujo de gas a través del orificio

$V_b$ : volumen de la burbuja

$V_c$ : volumen del aspersor

$\delta_c$ : densidad del gas a la presión en el aspersor

$\gamma$ : coeficiente adiabático del gas

$Q$ : flujo de operación de gas

$a_o$ : área transversal del orificio

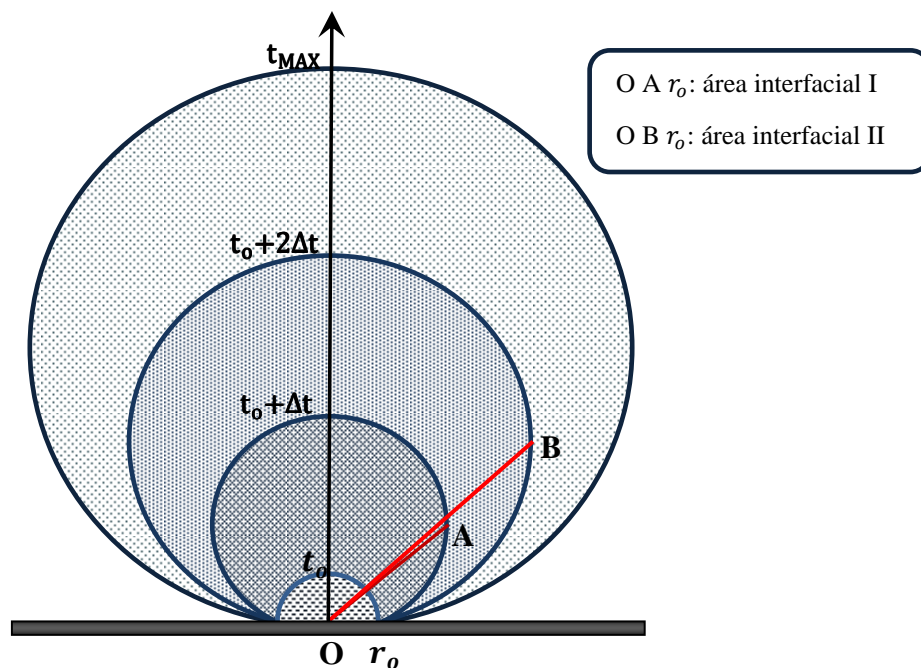
$C_o$ : coeficiente del orificio

La resolución del modelo se realizó en este trabajo de acuerdo al método iterativo descrito en Harris y Tan, 1986; Chen y Tan, 2002. El procedimiento para la aplicación del método iterativo se describe a continuación:

1. Se inicializan las variables: flujo de gas a través del orificio y la presión del gas tanto en la burbuja como en el aspersor.
2. Se establece el volumen inicial de la burbuja, considerando que a  $t = 0$  la burbuja tiene la forma de un semi-hemisferio cuyo diámetro es igual al del orificio.
3. Se incrementa el tiempo en  $\Delta t = 2 \mu s$

4. Se determina para el elemento interfacial, la masa y el volumen desplazados del líquido acelerado.
5. Se calcula el volumen de la burbuja.
6. Se determinan las presiones del gas en la burbuja y en el aspersor, y el flujo de gas a través del orificio.
7. Se determinan las coordenadas del nuevo elemento interfacial.
8. Se repite todo el proceso desde el paso 3 hasta que ocurra el desprendimiento de la burbuja.

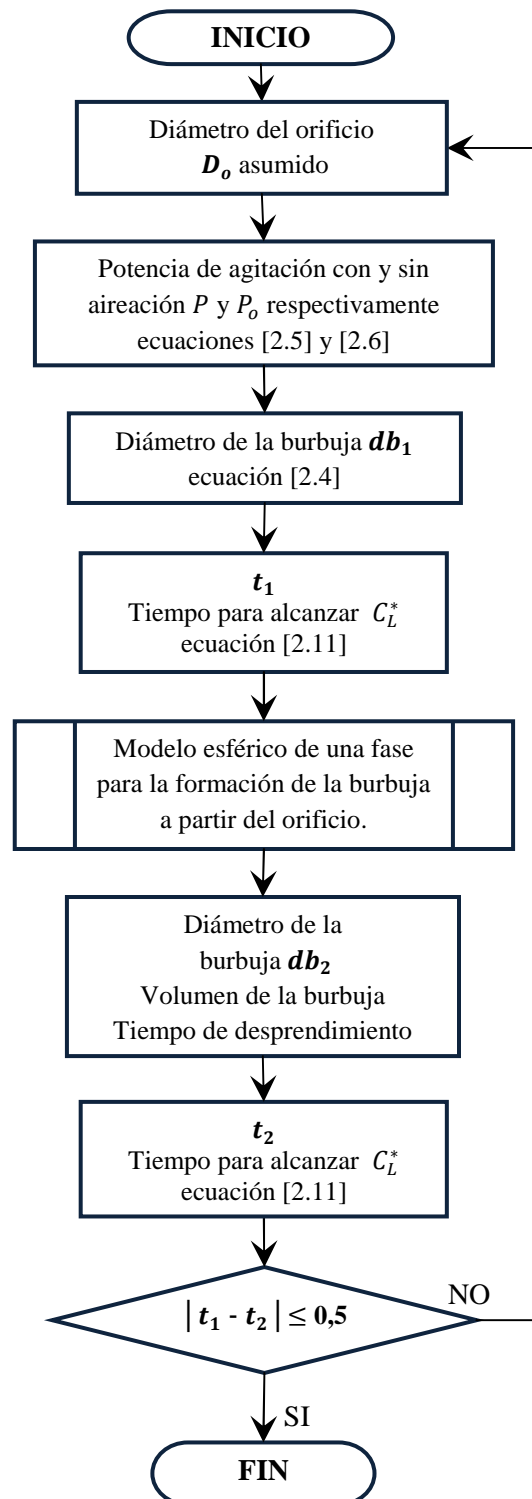
En este método se evalúan los elementos interfaciales en toda la superficie de la burbuja. Esto se muestra esquemáticamente en la Figura 2.3.



**Figura 2.3.** Esquema del elemento interfacial empleado en el método iterativo que resuelve el modelo esférico de formación de la burbuja desde el orificio.

Debido a la ausencia de modelos que relacionen el diámetro de la burbuja con el diámetro del orificio en reactores de tipo tanque agitado, bajo condiciones de

velocidad de agitación y flujo de aireación establecidas, se desarrolló el algoritmo de diseño que se presenta en la Figura 2.4.



**Figura 2.4.** Algoritmo de diseño para la determinación del diámetro de burbuja y diámetro del orificio del aspersor de aire en los modelos.

Este algoritmo permite determinar el diámetro del orificio que da origen a una burbuja cuyo diámetro asegura un coeficiente de transferencia de oxígeno óptimo para el proceso, al considerar como criterio de convergencia el tiempo que el sistema se demora en alcanzar la concentración de saturación de oxígeno disuelto.

El tiempo que se demora el sistema en llegar a la concentración de saturación de oxígeno disuelto se determinó mediante la ecuación [2.11], que describe la velocidad de transferencia de oxígeno desde la burbuja hacia el medio líquido.

$$\ln (C^* - C_{Lo}) = k_L a * t \quad [2.11]$$

Donde:

$C^*$ : concentración de saturación de oxígeno disuelto en el sistema.

$C_{Lo}$ : concentración inicial de oxígeno disuelto en el sistema.

$k_L a$ : coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno desde la burbuja hacia el medio líquido.

$t$ : tiempo que tarda el sistema en alcanzar la concentración de saturación de oxígeno disuelto.

**Tabla 2.1.** Concentración de saturación de oxígeno disuelto para sistemas de crecimiento de levadura de panificación

Referencia	Valor [ppm]	Desviación con respecto al promedio [%]
Calculado	4,30	8,3
Pouliot K.	4,70	20,0
Doran P.	4,25	11,8

En la Tabla 2.1 se presentan valores de concentración de saturación de oxígeno disuelto, recopilados de dos autores, para sistemas de producción de biomasa empleando levadura de panificación, en los que se trabaja con sacarosa como



fuente de carbono. Además, se muestra el valor calculado en el presente trabajo, considerando que en condiciones normales de operación, la concentración crítica de oxígeno disuelto es igual a 0,128 ppm y constituye el 3% de la concentración de saturación. (Stanbury *et al.*, 1995)

El coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno se calculó aplicando la ecuación [2.12], donde se considera que el área interfacial constituye la región en la que se produce la transferencia de oxígeno hacia el medio líquido.

$$k_L a = k_L * a \quad [2.12]$$

Donde:

$k_L a$ : coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno

$k_L$ : coeficiente de transferencia de oxígeno

$a$ : área interfacial de transferencia

El coeficiente de transferencia de oxígeno se determinó al aplicar la teoría de penetración de Higbie en reactores tipo tanque agitado, mediante la ecuación [2.13], de acuerdo a lo descrito en García y Gómez, 2009.

$$k_L = 2 * \sqrt{\frac{D_L}{\pi}} * \left( \frac{\varepsilon * \delta_G}{\mu_G} \right)^{1/4} \quad [2.13]$$

Donde:

$D_L$ : difusividad del gas en el líquido

$\varepsilon$ : energía disipada por turbulencia en el contacto gas-líquido

$\delta_G$ : densidad del gas

$\mu_G$ : viscosidad del gas

El área interfacial se calculó aplicando la ecuación [2.14], en la que se asume que la burbuja es esférica, y se considera que el área interfacial depende de la geometría y la hidrodinámica del reactor, debido a que el diseño del reactor afecta la dispersión del gas y el tiempo de residencia de las burbujas.

$$a = \frac{6 * \varphi}{db} \quad [2.14]$$

Donde:

a: área interfacial de transferencia

$\varphi$ : fracción de retención de gas en el reactor

db: diámetro de la burbuja

Finalmente, para la determinación de la longitud y el diámetro de la conducción del aspensor, se aplicó un método iterativo cuyo criterio de convergencia está basado en la relación empírica de diseño expresada en la ecuación [2.15], de acuerdo a lo especificado en Perry, 2008. Esta relación está sustentada en un porcentaje de distribución de flujo deficiente entre el primer y el último orificio igual a 5%.

$$\frac{\bar{V}_o}{\bar{V}_i} = \frac{A_P}{A_o} = \sqrt{10} * C_o \quad [2.15]$$

Donde:

$\bar{V}_o$ : velocidad promedio del gas en el orificio

$\bar{V}_i$ : velocidad promedio del gas en la conducción

$A_P$ : área transversal de la conducción

$A_o$ : área transversal del orificio

$C_o$ : coeficiente del orificio (depende de parámetros de diseño como diámetro de la conducción y del orificio, generalmente tiene un valor igual a 0,62).

El modelo expresado en la ecuación anterior implica que para lograr un flujo lo más uniforme posible se debe garantizar que la caída de presión a través de los orificios sea muy grande en comparación con la caída de presión en la conducción.

De esta manera, se considera que la variabilidad en la caída de presión en cada orificio será pequeña que permitirá asegurar una variación despreciable de flujo a

través de cada orificio. El porcentaje de distribución deficiente de flujo a través de los orificios está dado por la siguiente ecuación:

$$\theta = 100 * \left( 1 - \sqrt{\frac{\Delta P_o - \Delta P}{\Delta P_o}} \right) \quad [2.16]$$

Donde:

$\theta$ : porcentaje de distribución de flujo deficiente

$\Delta P$ : caída de presión a través de la conducción

$\Delta P_o$ : caída de presión a través del orificio

El procedimiento para la resolución del método iterativo se describe de la siguiente manera:

1. Se asumió un diámetro de conducción, cuyo valor está entre 0,2 y 0,5 cm.
2. Se calculó la velocidad promedio en la conducción, considerando que para el reactor modelo de 2 L el flujo de aire máximo será 8 800 mL/min y para el reactor modelo de 14 L será 16 000 mL/min.
3. Se estableció la longitud de la conducción, en un valor que se encuentre entre el 0,95 a 0,97 veces el diámetro del agitador, para garantizar que las burbujas de aire choquen en el disco del agitador y tengan contacto con las paletas.
4. Se determinó la caída de presión a través de la conducción, mediante la ecuación [2.17], obtenida al aplicar la ecuación de Bernoulli en la conducción.

$$\Delta P = \left( \frac{4 * f_D * L}{3 * D_T} - 2 * K \right) * \frac{\delta_G * \overline{V}_i^2}{2} \quad [2.17]$$

Donde:

$\Delta P$ : caída de presión a través de la conducción

$f_D$ : factor de fricción de Darcy

$L$ : longitud de la conducción

$D_T$ : diámetro de la conducción

$K$ : factor de pérdidas por fricción en la porción de flujo que permanece en la conducción, después de que el flujo se divide y sale por los orificios.

$\delta_G$ : densidad del gas

$\bar{V}_i$ : velocidad promedio en la conducción

5. Se determina la caída de presión a través de los orificios mediante la ecuación [2.16], considerando un porcentaje de distribución de flujo deficiente igual a 5%.

6. Se calculó la velocidad promedio en el orificio, aplicando la siguiente ecuación:

$$\Delta P_o = \frac{\delta_G * \bar{V}_o^2}{2 * C_o^2} \quad [2.18]$$

Donde:

$\Delta P_o$ : caída de presión a través de los orificios

$\delta_G$ : densidad del gas

$\bar{V}_o$ : velocidad promedio en el orificio

$C_o$ : coeficiente característico del orificio

7. Se evaluó la relación empírica para el diseño de aspersores tipo tubería perforada, mediante la ecuación [2.15].

8. Si no cumplió con la relación empírica se repitió el procedimiento desde el inicio, aumentando el diámetro de la conducción.

Para la estimación del número de orificios se aplicó la ecuación [2.19] de acuerdo a lo especificado en Perry, 2008.

$$D_T = 0,95 * (C_o * N_h)^{1/2} * \left(\frac{D_o}{\theta}\right)^{1/4} \quad [2.19]$$

Donde:

$D_T$ : diámetro de la conducción

$D_o$ : diámetro del orificio

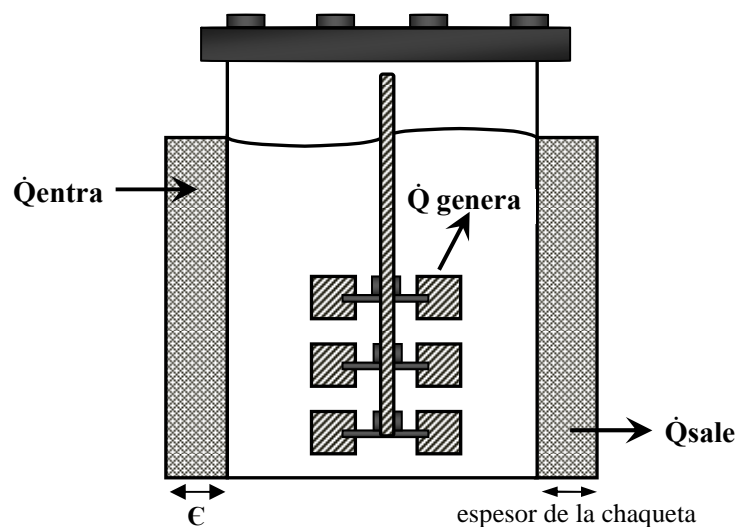
$C_o$ : coeficiente del orificio

$N_h$ : número de orificios

$\theta$ : porcentaje de distribución de flujo deficiente.

### 2.1.3 DISEÑO DE LA CHAQUETA DE ENFRIAMIENTO

En el prototipo, el sistema de transferencia de calor está constituido por una chaqueta de 3 L de capacidad, a través de la que se circula agua de enfriamiento, en un flujo que se regula automáticamente mediante un lazo de control proporcional, donde el elemento final es una válvula aire para abrir (ATO). La chaqueta está diseñada para funcionar a 3 bares, debido a que también permite la circulación de vapor de agua cuando se realiza la esterilización del sustrato para el proceso fermentativo.



**Figura 2.5.** Diagrama del sistema de producción de biomasa.

Para el diseño de la chaqueta de enfriamiento en los reactores modelo, se formuló el respectivo balance de energía general en el sistema que se muestra en la Figura 2.5.

El proceso de producción de biomasa es una reacción exotérmica, de manera que el balance de energía general contempla un término correspondiente al calor retirado por el flujo de agua de enfriamiento y otro término correspondiente al calor generado por el proceso de producción de biomasa, de la manera como se presenta en la siguiente ecuación:

$$\dot{m}_f c_p (T_E - T_S) + Y_{CAL} r_x V_{op} = m C_{p_m} \frac{dT}{dt} \quad [2.20]$$

Donde:

$\dot{m}_f$ : flujo de agua de enfriamiento

$c_p$ : capacidad calórica del agua de enfriamiento

$T_E$ : temperatura del agua de alimentación a la chaqueta

$T_S$ : temperatura del agua de descarga de la chaqueta

$Y_{CAL}$ : rendimiento calórico de fermentación

$r_x$ : velocidad de producción de biomasa

$V_{op}$ : volumen de operación

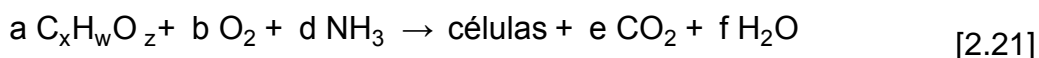
$m$ : masa de sustrato en el reactor

$C_{p_m}$ : capacidad calórica del sustrato igual a 3,65 KJ/Kg °C (Calderón y Navascués, 2002).

$T$ : temperatura en el reactor

Para la estimación del rendimiento calórico de fermentación  $Y_{CAL}$ , que representa la tasa de desprendimiento de calor en la fermentación aerobia, se realizó un balance de materia y energía simultáneo en el proceso de fermentación de la

fuentes de carbono y nitrógeno, cuyo principal producto formado es biomasa, que se describe de acuerdo a la ecuación [2.21].



Los cálculos están basados en las siguientes consideraciones:

- La composición elemental de la levadura es la que se presenta en la Tabla 2.2 a continuación.

**Tabla 2.2.** Composición de la levadura de panificación empleando como sustrato fuentes de carbohidratos

Elemento	Carbono	Nitrógeno	Oxígeno	Hidrógeno	Cenizas
Composición [%]	47,0	8,5	32,5	6,0	6,0

- Los rendimientos de la fuente de carbono  $\gamma_C$  varían entre los límites de operación reportados de 0,4 a 0,7 moles de microorganismo por mol de sustrato.

Se determinó el rendimiento calórico de fermentación mediante la ecuación [2.22], de acuerdo a las consideraciones antes mencionadas y, empleando los calores de combustión tanto de la fuente de carbono como del microorganismo de acuerdo a lo descrito en Quintero, 1981.

$$Y_{CAL} = \frac{\Delta H_{C(S)}}{Y_C} * \Delta H_{C(L)} \quad [2.22]$$

Donde:

$Y_C$ : rendimiento de la fuente de carbono

$\Delta H_{C(S)}$ : calor de combustión del sustrato

$\Delta H_{C(L)}$ : calor de combustión de la levadura.

En la Tabla 2.3 se resumen valores para calores de combustión de la levadura y de la fuente de carbono en el sustrato, recopilados por dos autores.

**Tabla 2.3.** Calores de combustión de la fuente de carbono y de la levadura determinados por dos autores.

Parámetro	Valor		Unidades	Autor
Calor de combustión del sustrato	Glucosa	673	kcal/mol	Quintero R.
	Sacarosa	1 350		
	Glucosa	668		Doran P.
Calor de combustión del microorganismo	Levadura	5,06	kcal/g	Doran P.
	Levadura	4,79		Quintero R.

La velocidad de producción de biomasa  $r_x$ , se determinó mediante el estudio de la variación de la concentración celular en función del tiempo durante la fase de crecimiento exponencial, donde la velocidad de producción de biomasa está dada por la siguiente ecuación:

$$r_x = \frac{dX}{dt} = \mu X \quad [2.23]$$

Donde:

$\mu$ : tasa de crecimiento microbiano

X: concentración de microorganismo en el medio

Para estimar la tasa de crecimiento microbiano y la variación de concentración celular en función del tiempo, se realizó un ensayo de producción de biomasa empleando levadura de panificación (*sacharomyces cerevisiae*) y sacarosa como sustrato en el reactor tipo tanque agitado BRUNSWICK de 2 L de capacidad bajo las condiciones de operación que se presentan en la tabla a continuación:



**Tabla 2.4.** Parámetros de operación para el ensayo de producción de biomasa

Parámetro	Valor	Unidad
Temperatura	30	°C
Velocidad de agitación	300	rpm
Tasa de aireación	1	VVM
Tamaño del inóculo	100	mL
Volumen de operación	1,2	L
Concentración del inóculo	5	%
Tiempo de operación	10	h

La determinación del flujo de agua de enfriamiento en procesos exotérmicos, tales como las fermentaciones aeróbicas, constituye uno de los mayores obstáculos para el desarrollo del microorganismo y una limitante importante del proceso (Doran, 1995). Para la estimación de esta variable se evaluó la capacidad de transferir calor que posee la chaqueta considerando que comporta como un reactor de mezcla imperfecta, mediante la siguiente ecuación:

$$\dot{m}_f c_p (T_E - T_S) = U A_T \text{LMTD} \quad [2.24]$$

Donde:

U: coeficiente global de transferencia de calor

A<sub>T</sub>: área de transferencia de calor

LMTD: temperatura logarítmica media, propia para sistemas que no presentan mezcla perfecta.

El coeficiente global de transferencia de calor se calculó considerando el mecanismo de transferencia por convección en la chaqueta y en el reactor, así como también la conducción a través de la pared del reactor, de acuerdo a la ecuación [2.25].

$$\frac{1}{U} = \frac{1}{h_i} + \frac{e}{k_{ACERO}} + \frac{1}{h_e} \quad [2.25]$$

Donde:

$h_i$ : coeficiente de convección en el reactor

$h_e$ : coeficiente de convección en la chaqueta

$k_{ACERO}$ : conductividad térmica del acero

$e$ : espesor de la pared del reactor

Los coeficientes de convección se determinaron en forma general aplicando la ecuación [2.26], bajo la consideración de que las propiedades termofísicas tanto del sustrato como del agua de enfriamiento permanecen constantes a lo largo del proceso.

$$h = \frac{Nu * k}{L'} \quad [2.26]$$

Donde:

$Nu$ : número adimensional de Nusselt

$k$ : conductividad térmica del fluido en cuestión

$L'$ : longitud característica de transferencia de calor

Para estimar el coeficiente de convección en el reactor  $h_i$ , se calculó el Número de Nusselt aplicando la ecuación [2.27] que hace referencia a la transferencia de calor por convección en chaquetas de recipientes agitados y provistos de deflectores. (Brodkey, 1988).

$$Nu_l = 0,74 * Re_l^{2/3} * Pr_l^{1/3} \quad [2.27]$$

Por otra parte, para estimar el coeficiente de convección en la chaqueta  $h_e$ , se calculó el número de Nusselt con tres ecuaciones diferentes, con la finalidad de estimar el espesor más estable para la chaqueta.

La primera es la ecuación empírica de Hilpert y Knudsen-Katz, que hace referencia a la transferencia de calor por convección forzada alrededor de un cilindro, y se utiliza para un rango de número de Reynolds de 400 a 40 000. (Incropera y De Witt, 1999).

$$\text{Nu}_E = 0,68 * \text{Re}_E^{0,47} * \text{Pr}_E^{1/3} \quad [2.28]$$

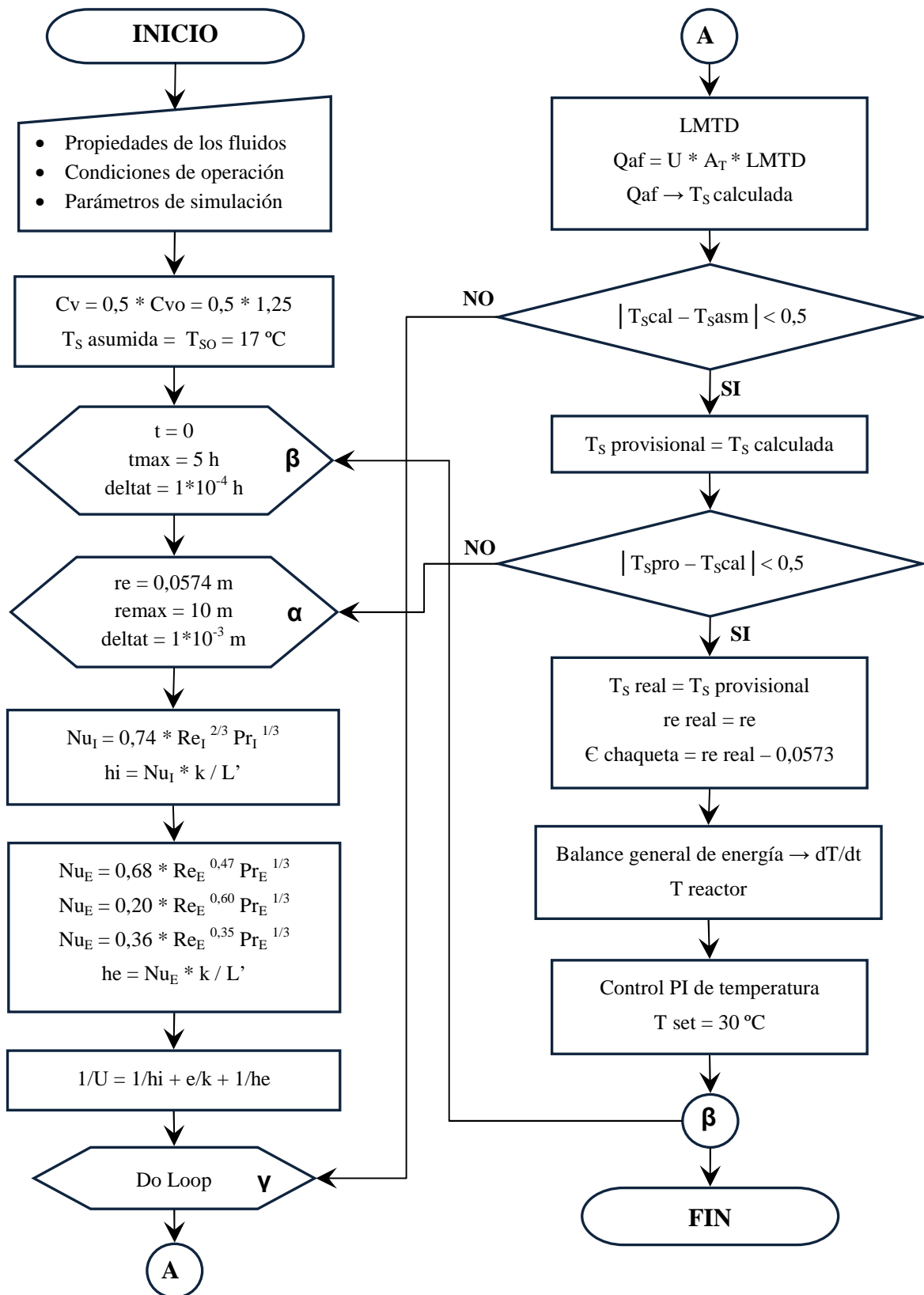
La segunda, es la ecuación empírica de Donohue, que hace referencia a la transferencia de calor por convección forzada por el lado de la coraza en intercambiadores de tubos concéntricos. (McCabe *et al.*, 2002).

$$\text{Nu}_E = 0,20 * \text{Re}_E^{0,60} * \text{Pr}_E^{1/3} \quad [2.29]$$

La última es la ecuación empírica de Coulbourn, que hace referencia a la transferencia de calor por convección forzada por el lado de la coraza en intercambiadores de tubos y coraza, que considera que el flujo es parcialmente paralelo y parcialmente perpendicular a los tubos y además que el 75% de la coraza posee deflectores. (Holman, 1998).

$$\text{Nu}_E = 0,36 * \text{Re}_E^{0,35} * \text{Pr}_E^{1/3} \quad [2.30]$$

Con el fin de seleccionar la ecuación adecuada para la estimación del coeficiente de convección en la chaqueta se implementó la simulación del proceso de producción de biomasa en el reactor modelo de 2 L, mediante el programa Visual Basic Applications de MS Excel™.

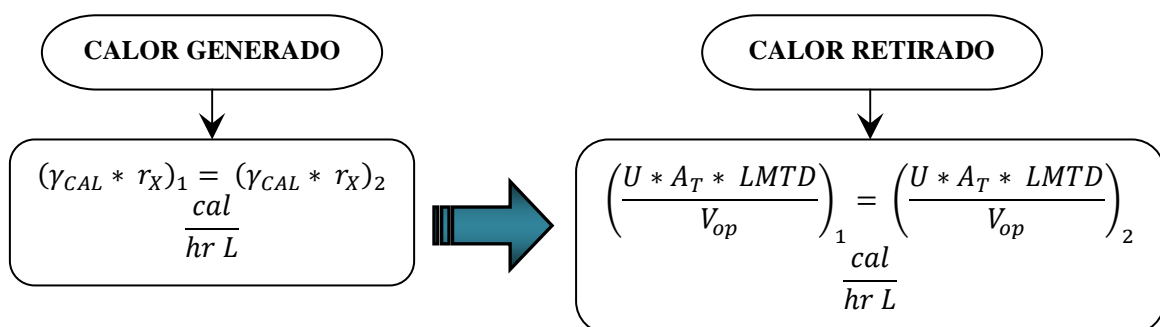


**Figura 2.6.** Algoritmo de simulación para el proceso de producción de biomasa

El algoritmo de simulación se presenta en el diagrama de flujo de la Figura 2.6, donde se pueden observar tres lazos:

1. El lazo principal, donde se resuelven, por integración numérica, las ecuaciones diferenciales de los balances de energía y las del esquema de control, requiriéndose para esto, determinar los valores del espesor de la chaqueta y la temperatura de salida del agua de enfriamiento, mediante dos ciclos iterativos.
2. El ciclo interno, que se inicia con una temperatura asumida de salida de agua de enfriamiento, y que permite encontrar la temperatura de salida cuando la diferencia entre la capacidad de la chaqueta para transferir calor y el calor ganado por el flujo de agua a través de la chaqueta es menor que el criterio de convergencia, que en este trabajo se estableció en 0,1 cal/h.
3. El ciclo externo, que permite determinar el espesor de la chaqueta en base al criterio de convergencia que establece que la temperatura de salida del agua se mantenga constante al incrementarse el espesor de la chaqueta.

Al finalizar la simulación se devuelve al usuario el esquema de la convergencia del procedimiento en función del número de iteraciones, lo que permite evaluar su estabilidad, y su independencia respecto de las diferentes ecuaciones utilizadas el coeficiente externo de convección, y –además– establecer el espesor de la chaqueta más adecuado para el modelo de 2 L.



**Figura 2.7.** Esquema del criterio de escalado para el diseño de la chaqueta de enfriamiento en el modelo de 14 L.

Para determinar el espesor de la chaqueta del modelo de 14 L se aplicó el siguiente criterio de escalado: El calor retirado por unidad de masa es igual en la escala de laboratorio y en la piloto, debido a que el calor generado por unidad de masa en el proceso fermentativo también es el mismo en ambas escalas. (Choudhury *et al.*, 2007)

Para lograr un escalado adecuado, además se requiere que se cumpla con la condición de que el modelo de 2 L esté equipado con un sistema de agitación, y con deflectores geoméricamente similares aquellos del modelo de mayor escala.

Adicionalmente se determinó el espesor de la pared de la chaqueta mediante la ecuación [2.31]. Este cálculo se realiza mediante una fórmula para paredes delgadas, lo que significa que el espesor debe ser menor que la mitad del radio interno de la chaqueta. (Megyesy, 1992).

$$\varepsilon_{\text{pared}} = \frac{p * R}{K * E_F - 0,6 * p} + Y \quad [2.31]$$

Donde:

p: presión hidrostática aplicada en el interior de la chaqueta

R: radio interno de la chaqueta

K: resistencia de trabajo del material de construcción (acero inoxidable)

E<sub>F</sub>: eficiencia de soldadura (de 0,50 a 0,95).

Y: factor de tolerancia a la corrosión (de 1/6 a 1/8).

## 2.2 INFLUENCIA DE LA AGITACIÓN, AIREACIÓN Y DE LOS PARÁMETROS DE ESCALADO EN EL $k_La$

### 2.2.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para determinar la influencia de la agitación y de la aireación, así como de los parámetros de escalado en el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, se formuló un diseño experimental factorial mixto de 4 x 2 x 3, como se indica más adelante.

Este diseño se utilizó por ser más eficiente que el tradicional, que consiste en cambiar el valor de un factor a la vez, ya que permite estudiar tanto el efecto individual, como el de las interacciones entre las variables de interés, mediante la investigación de todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores, que en este caso constituyen la agitación y la aireación en orden aleatorio. (Gutiérrez y De la Vara, 2008)

Para la implementación de este diseño fue necesario realizar procesos fermentativos por triplicado en el prototipo y en los modelos de 2 y 14 litros, evaluando –en cada uno de ellos- la influencia de la velocidad de agitación en cuatro niveles y de la tasa de aireación en dos niveles sobre el  $k_La$ .

En la Tabla 2.5 se presentan los niveles aludidos. Se debe añadir que su selección se realizó tomando en cuenta las condiciones permisibles de operación de los módulos de control en el prototipo y en los modelos, así como el flujo máximo permisible de aire que los rotámetros admiten y los valores reportados en la bibliografía para procesos de escalado en reactores de similar capacidad a los utilizados, para asegurar que el sistema trabaje en régimen turbulento y que las fuerzas de corte no afecten el microorganismo ni la calidad del producto final.

Así por ejemplo, es importante mencionar que se realizó una calibración del rotámetro del prototipo ya que su escala de medición se encuentra en porcentaje de flujo máximo. Para esto se colocó este rotámetro en serie con otro rotámetro

que permitió medir el flujo de aire en  $\text{pie}^3/\text{h}$ . Los resultados de esta calibración se muestran en el Anexo II.

**Tabla 2.5.** Niveles de velocidad de agitación y tasa de aireación para el diseño experimental factorial mixto utilizado en el prototipo y en los modelos.

Factor	Prototipo	Modelo de 2 L	Modelo de 14 L
Velocidad de Agitación [rpm]	200	550	400
	300	650	500
	400	750	600
	500	820	700
Tasa de Aireación [VVM]	0,24	1,47	0,74
	0,47	2,06	1,24

## 2.2.2 PROCESO DE PRODUCCIÓN DE LEVADURA DE PANIFICACIÓN POR FERMENTACIÓN

### 2.2.2.1 El microorganismo

Para este proceso se empleó la variedad de levadura *saccharomyces cerevisiae* en su presentación comercial de 250 gramos de levadura de panificación marca Levapan con un una humedad aproximada de 8%, sobre base húmeda. Esta variedad de levadura posee propiedades importantes, como: estabilidad bioquímica y posibilidad de resistir a la autólisis.

El microorganismo se conservó sellado con parafina y bajo refrigeración a 4 °C, hasta la preparación diaria del inóculo.



### 2.2.2.2 Composición del sustrato y condiciones de crecimiento

Con la finalidad de obtener buenos rendimientos de levadura, el medio usado en la propagación debe contener los nutrientes necesarios orgánicos e inorgánicos en cantidades adecuadas. El proceso de fermentación se desarrolló con la composición del sustrato descrita en la Tabla 2.6 de acuerdo a Wickerham, 1986.

**Tabla 2.6.** Composición del sustrato para la producción de levadura de panificación

Sustancia	Concentración
Sacarosa	3,4 % p/p
Panela	0,6 % p/p
Sulfato de amonio	1 g/L
Cloruro de sodio	0,3 g/L
Cobalto	1 ppm
Cobre	3 ppm
Manganeso	3 ppm
Zinc	3 ppm
Extracto de carne	0,6 g/L

El sustrato está conformado por la fuente de carbono, generalmente constituida por los azúcares contenidos en melazas de caña, que -en este caso- corresponden a sacarosa y panela, en un porcentaje tal que favorece la propagación de levadura, en vez de la producción de alcohol etílico.

La fuente de nitrógeno está constituida por sales amoniacales. Las fuentes de minerales esenciales se componen de sales de zinc, manganeso, cobre y cobalto, mientras que la proteína se suministra mediante extracto de carne.

En este trabajo los procesos de fermentación se efectuaron a un pH de 4,5 y a una temperatura de 30 °C, condiciones primordiales para el crecimiento del microorganismo, lo que se corrobora en Manovacía *et al.*, 2008 que indican que

los valores de pH comprendidos entre 4 y 5, y la temperatura entre 25 °C y 35 °C permiten obtener resultados satisfactorios.

### 2.2.2.3 Preparación y tamaño del inóculo

A pesar de que el prototipo constituye un reactor de desarrollo a escala piloto, los procesos fermentativos se desarrollaron a escala de laboratorio, por lo que el inóculo debió tener un tamaño adecuado en esa escala.

Por esto, se trabajó con un tamaño de inóculo igual a 5% del volumen de operación, con una concentración de levadura de 2,5%. En la Tabla 2.7 se presentan el volumen de operación, tamaño de inóculo y peso de levadura que se emplearon tanto en el prototipo como en los reactores modelo.

**Tabla 2.7.** Volumen de operación, tamaño de inóculo y peso de levadura para el proceso fermentativo en los modelos y el prototipo

Parámetro	Prototipo	Modelo de 2 L	Modelo de 14 L
Volumen de operación	100,0 L	1,7 L	12,9 L
Tamaño del inóculo	5 L	85 mL	645 mL
Peso de levadura	125,00 g	2,13 g	16,13 g

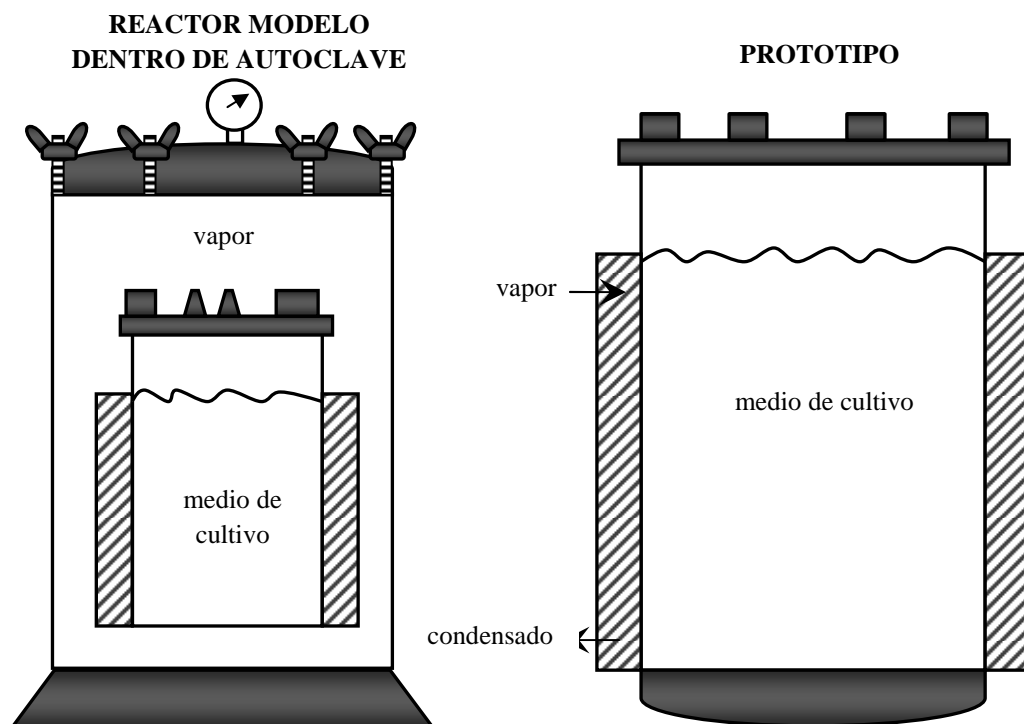
En todos los casos, el inóculo se preparó el día anterior al experimento. Para esto el medio de cultivo se preparó, en el caso del prototipo, en un erlenmeyer de 6 L; y en los casos de los modelos de 14 L y de 2 L en un erlenmeyer de 2 L o en uno de 100 mL respectivamente, se ajustó el pH a 4,5; en cada caso, mediante soluciones ácidas de HCl 5 N, y básicas de NaOH 5 N. Todos los inóculos se esterilizaron a 121 °C, durante 20 min.

El día del ensayo se pesó la cantidad de levadura adecuada y se la incubó durante 4 h en un baño María agitado, marca Julabo SW22, a 150 rpm y 30 °C.

#### 2.2.2.4 Esterilización del medio y tiempo de ensayo

Para el proceso fermentativo en el prototipo la esterilización se realizó *in situ*, y por separado, el día del ensayo. Esto implicó que inicialmente se esterilizó el equipo, se cargó el sustrato en el reactor y se ajustó el pH para posteriormente esterilizar el medio de cultivo a 121 °C, durante 20 min.

Para el caso de los reactores modelo, inicialmente se cargó el sustrato en el reactor, se ajustó el pH y se esterilizó todo el conjunto constituido por el equipo y el medio de cultivo, a 121 °C, durante 20 min, el día anterior al ensayo.



**Figura 2.8.** Esquema de la esterilización del medio de cultivo para el caso del prototipo y de los modelos.

Las pruebas experimentales del proceso fermentativo, tanto en los modelos como en el prototipo se llevaron a cabo durante 9 horas, a partir de la inoculación. Durante el proceso se controlaron la temperatura, a un valor de 30 °C  $\pm$ 0,1 y el nivel de espuma mediante la adición manual de antiespumante que constituye una emulsión de silicona 20% v/v.

### 2.2.3 DETERMINACIÓN DEL $k_La$

El coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno se determinó de acuerdo al método dinámico de dos etapas propuesto por Taguchi y Humphrey, 1966.

Este método utiliza la respuesta transitoria que ocurre a causa de los cambios de concentración de oxígeno disuelto, que en el presente estudio, se midieron cada hora, mediante un electrodo polarográfico esterilizable marca Mettler Ingold, modelo InPro 6800, de 120 mm de altura de inmersión, las concentraciones se captaron por medio de un transmisor de la misma marca, modelo M300, con una precisión de  $\pm 0,1$  ppm.

La tasa de cambio de la concentración de oxígeno disuelto se describe mediante la ecuación [2.32] que hace referencia al balance de oxígeno durante la fermentación batch.

$$\frac{dC_L}{dt} = k_La * (C_L^* - C_L) - Q_{O_2} * X \quad [2.32]$$

Donde:

$C_L$ : concentración de oxígeno disuelto a un tiempo definido

$C_L^*$ : concentración de saturación de oxígeno disuelto

$k_La$ : coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno desde la burbuja hacia el medio líquido

$Q_{O_2}$ : tasa específica de respiración microbiana

$X$ : concentración de microorganismo en el medio.

La primera etapa del método permite establecer la tasa de absorción de oxígeno de la población microbiana (OUR oxygen uptake rate) para lo cual se debió suspender el suministro de aire al reactor, observándose la consecuente disminución de la concentración del oxígeno disuelto, debido a la respiración celular.

Durante esta etapa se trabajó con una concentración de oxígeno disuelto superior a 0,13 ppm, que es la concentración crítica para la levadura de panificación. Esto se hizo con el objetivo de que la población microbiana no se deteriore por falta de oxígeno en el medio.

En este caso la tasa de absorción de oxígeno por parte de la población microbiana está representada por la pendiente de la recta que se obtuvo al graficar  $C_L$  versus  $t$ , durante esta etapa.

La segunda etapa del método permite determinar la tasa de transferencia de oxígeno (OTR oxygen transfer rate) para lo que se reinició el suministro de aire al reactor, obteniéndose la elevación de la concentración de oxígeno disuelto. Estas condiciones, se representan mediante la integración de la ecuación que describe el balance de oxígeno en la fermentación batch.

$$\ln\left(\frac{C - C_{Lo}}{C - C_L}\right) = k_{La} * (t_2 - t_1) \quad [2.33]$$

Donde:

$C$ : concentración de oxígeno disuelto que se alcanza en estado estacionario al finalizar la segunda etapa del método

$C_{Lo}$ : concentración de oxígeno disuelto con la que se inicia la segunda etapa del método

$C_L$ : concentración de oxígeno disuelto a un tiempo definido

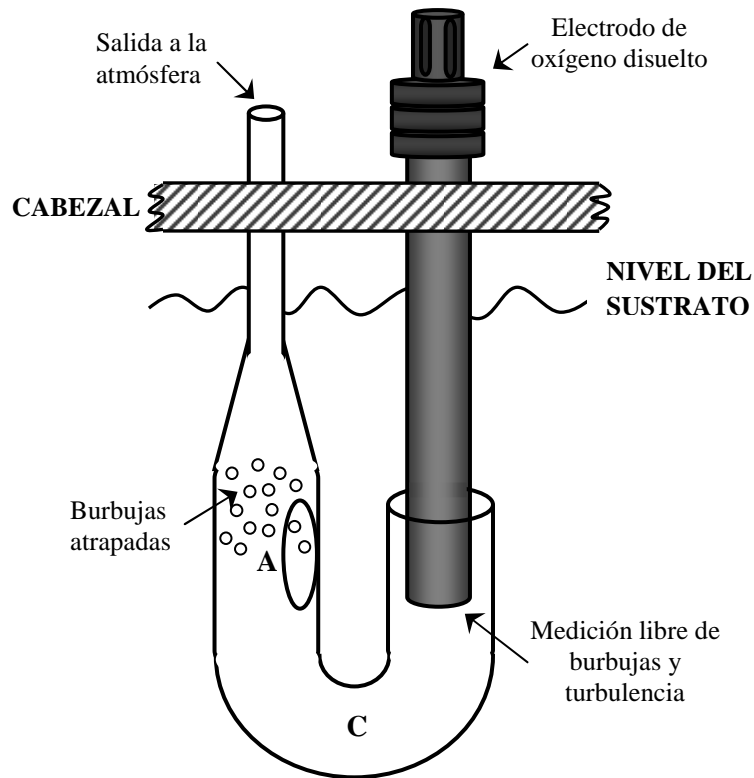
$t_1$ : tiempo en el que inicia la segunda etapa del método

$t_2$ : tiempo a una determinada concentración de oxígeno disuelto.

De esta manera se determinó el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, que se representa como la pendiente de la recta que se obtuvo al graficar  $\ln[(C-C_{Lo})/(C-C_L)]$  versus  $(t_2-t_1)$ .

Para el caso de los modelos, el electrodo de oxígeno disuelto estaba ubicado tan cerca al sistema de agitación que la determinación del  $k_{La}$  se vio afectada por las

corrientes turbulentas que arrastraban burbujas de aire a la membrana del electrodo y provocaban oscilaciones anormales en la medición de la concentración de oxígeno disuelto. Por esta razón fue necesaria la implementación un acople de medición fabricado en vidrio Pyrex, cuyo esquema se presenta en la siguiente figura:



**Figura 2.9.** Esquema del acople para la medición de oxígeno disuelto en los modelos

Este ensamble adicional funciona de manera que la corriente turbulenta impulsada por la velocidad de agitación ingrese por la entrada A y mientras atraviesa la parte curva C lo haga sin las burbujas de aire, que quedan atrapadas como se indica en la figura anterior, además que el fluido pierda energía y se encuentre en régimen laminar alrededor del electrodo, con lo que se logra un contacto eficiente entre el sustrato y la membrana del electrodo, permitiéndose así una medición real de la concentración de oxígeno disuelto.

#### 2.2.4 MEDICIÓN DE LA POTENCIA POR UNIDAD DE VOLUMEN

La potencia de agitación se determinó como la potencia eléctrica transferida al motor que impulsa el sistema de agitación, bajo condiciones controladas de aireación. Para esto se midieron tanto la corriente como el voltaje en los bornes respectivos de los módulos de control, en el prototipo y en los modelos.

La corriente se midió con una pinza amperimétrica de corriente continua marca Fluke modelo Y8100, y el voltaje mediante un multímetro marca Fluke con una precisión de  $\pm 0,1$  V.

La potencia por unidad de volumen, con aireación, se calculó de acuerdo a la ecuación siguiente:

$$\frac{P}{V} = \frac{I * V}{V_{op}} \quad [2.34]$$

Donde:

$P/V$ : potencia de agitación con aireación por unidad de volumen

I: corriente generada en el motor

V: voltaje generado en el motor

$V_{op}$ : volumen de operación en el reactor

#### 2.2.5 MEDICIÓN DEL CRECIMIENTO MICROBIANO

La concentración de levadura en el medio de cultivo, que corresponde a la biomasa producida durante el proceso se determinó mediante la medición de la absorbancia con un espectrofotómetro de luz visible marca Thermo Spectronic modelo 4001, a una longitud de onda de 600 nm, de acuerdo a lo descrito en Madigan *et al.*, 2004.

Durante la fermentación, se recogió una muestra de 20 mL cada hora, para el caso del prototipo, y una de 5 mL en el caso de los modelos. Las muestras se homogenizaron agitando manualmente con un agitador de vidrio. Para la medición se colocó la muestra en una celda de vidrio del espectrofotómetro y luego se procedió a la lectura respectiva.

Para relacionar la absorbancia con la concentración de levadura se construyó una curva de calibración estándar, entre concentraciones de levadura desde 0,1% hasta 2 %, que se puede observar en el Anexo III.

## **2.2.6 ESTUDIO DE LA REOLOGÍA DEL MEDIO DE FERMENTACIÓN**

El estudio reológico del medio de fermentación se realizó únicamente en el caso del prototipo. Esto se debió a que el método requería 10 mL de muestra como mínimo, y a que, en el caso de los modelos no habría sido posible recoger muestras mayores a 5 mL porque se afectaría la relación diámetro del reactor – nivel del líquido que, como se ha mencionado, constituye un principio de similitud geométrica importante para el proceso de escalado, que se debía cumplir.

Para realizar el estudio reológico la viscosidad del medio debió medirse cada hora durante el proceso fermentativo. El procedimiento para la medición de la viscosidad se detalla a continuación:

1. Se limpió el viscosímetro con hexano y se esterilizó en la estufa a 100 °C durante 30 minutos.
2. Se cargó una muestra de 15 mL a través del tubo A, porque esta cantidad garantiza que el nivel del líquido se encuentre entre los niveles J y K recomendado en el método descrito por el fabricante del equipo.
3. Se taponó el tubo B para evitar el ingreso de aire, y se aplicó succión en el tubo C hasta que el nivel del líquido alcanzó la mitad de la altura del bulbo D. Inmediatamente se removió la succión del tubo C, se retiró el tapón del tubo B, y

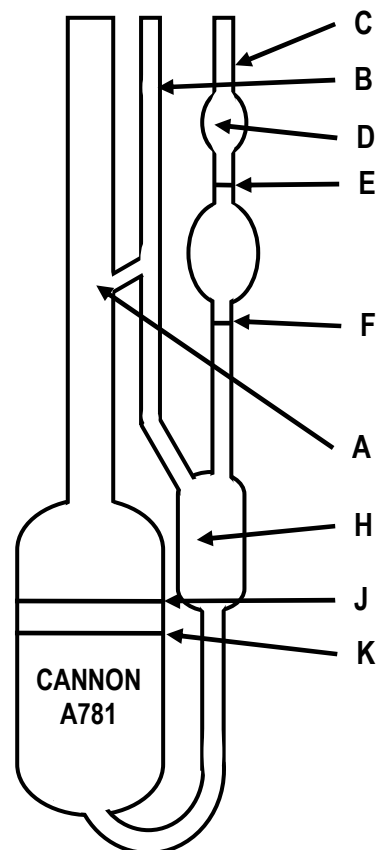


se taponó la entrada de aire por el tubo C hasta que el líquido contenido en el tubo B hubo descendido hasta el fondo del bulbo H.

4. Se retiró luego el tapón del tubo C, y se midió el tiempo necesario para que el líquido recorriese la distancia entre la marca E y la marca F.

5. Para concluir la determinación, se calculó la viscosidad del medio de fermentación multiplicando el tiempo mencionado anteriormente por el factor 0,03073 centistokes/segundo, constante proporcionada por el fabricante, que según el certificado de calibración, es independiente de la temperatura, y es propia para cada viscosímetro de Ubbelohde.

Esta medición se realizó mediante un viscosímetro de Ubbelohde para líquidos, marca Cannon modelo A781, que se muestra en la Figura 2.10.



**Figura 2.10.** Esquema del viscosímetro de Ubbelohde utilizado para el estudio reológico del medio de fermentación.

## **2.3 VERIFICACIÓN DEL MODELO MATEMÁTICO DE ESCALADO**

### **2.3.1 APLICACIÓN DEL PROTOCOLO DE ESCALADO**

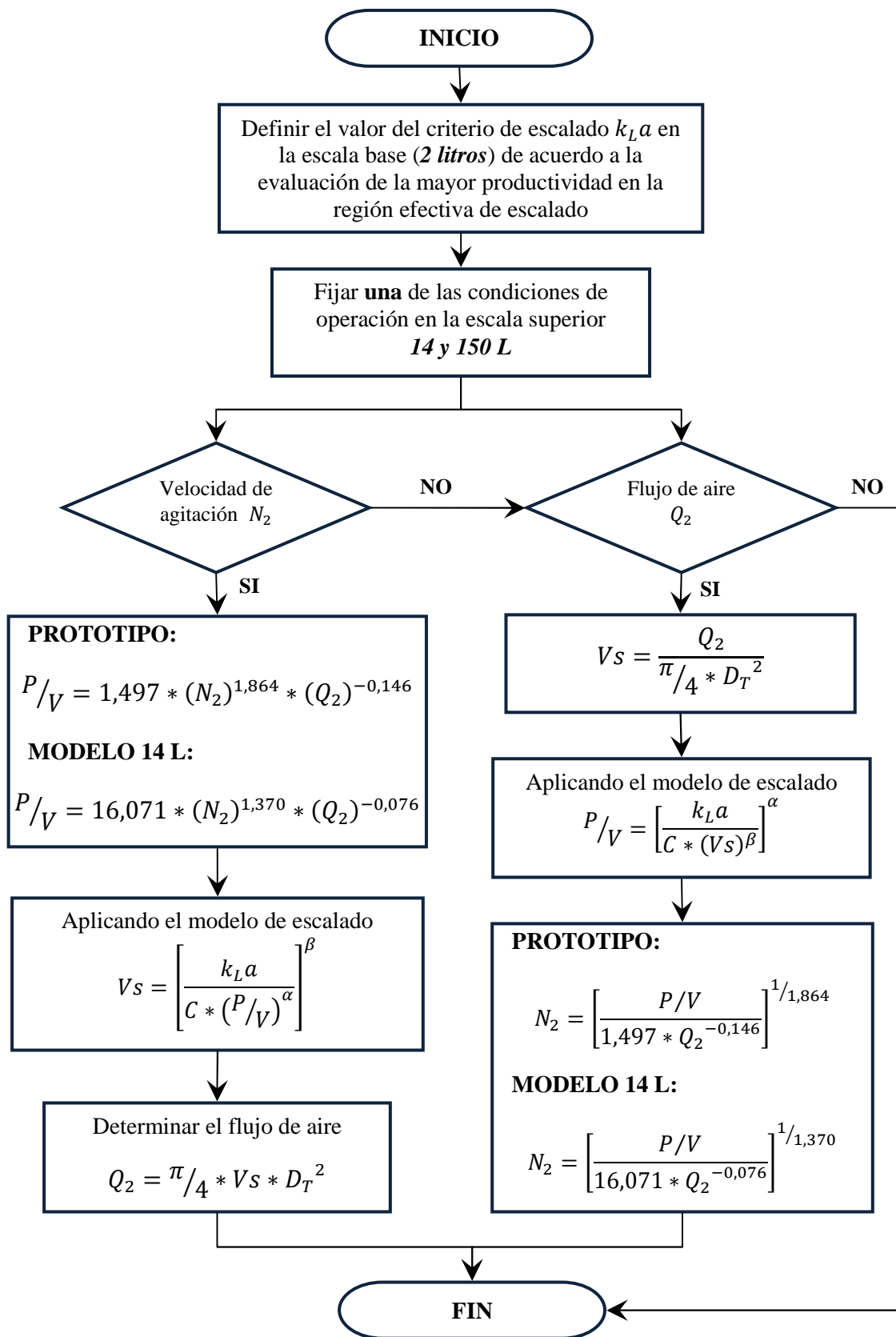
El protocolo de escalado es el conjunto de procedimientos consecutivos que se presentan, en forma de diagrama de flujo ANSI, en la Figura 2.11.

La aplicación de este protocolo permitió la determinación de la velocidad de agitación, y de la tasa de aireación, con las que se ejecutaron las fermentaciones en los reactores de 14 y 150 L, respectivamente.

Esto se hizo con la finalidad de verificar si al mantener el valor de  $k_La$  en  $1,235 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ , que en la escala de 2 L produjo la mayor productividad, se podrían reproducir estos resultados en los reactores de 14 y 150 L.

Para fijar las condiciones de operación ya sea en el reactor de 14 L o en el de 150 L, se consideraron las limitaciones de velocidad de agitación de los módulos de control, y el flujo de aire máximo que se pudo medir con los rotámetros disponibles en los equipos.

Además se debió asegurar que las condiciones de operación seleccionadas estuvieran dentro del rango con el que se determinó el modelo de escalado porque el modelo obtenido en este trabajo es válido solamente para los rangos reportados.



**Figura 2.11.** Protocolo de escalado para la determinación de las condiciones de operación en las escalas de 14 y 150 L.

### 2.3.2 PROCESOS FERMENTATIVOS PARA VERIFICAR EL MODELO DE ESCALADO

Como se ha dicho, para verificar el modelo matemático del escalado, se realizaron fermentaciones en el reactor de 14 L, y en el prototipo. Esto se realizó con los valores de velocidad de agitación y tasa de aireación establecidos mediante la aplicación del protocolo de escalado mencionado en la sección anterior.

Los parámetros propios del proceso tales como la composición del sustrato, la concentración de la levadura en el inóculo, el tamaño de inóculo, y los valores de pH y temperatura fueron los mismos que se usaron durante el trabajo para la estimación de la influencia de la agitación, aireación y de los parámetros de escalado en el  $k_{La}$ .

Todos los procesos fermentativos se llevaron a cabo durante ocho horas contadas a partir de la inoculación del microorganismo en el medio. El crecimiento de la levadura, el valor de  $k_{La}$  y la potencia por unidad de volumen se determinaron por medio de la metodología mencionada anteriormente.

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 DISEÑO DE LOS REACTORES MODELO DE 2 Y 14 L

Con referencia al diseño del sistema de agitación, a continuación en la Tabla 3.1 se presentan las dimensiones de los agitadores disco-turbina de cuatro paletas, correspondientes a los modelos de 2 y 14 L.

**Tabla 3.1.** Dimensiones de los agitadores disco-turbina pertenecientes a los modelos

Parámetro	Modelo de 14 L	Modelo de 2 L
Diámetro del agitador (Di)	7,32 cm	3,72 cm
Ancho de la paleta (Hi)	1,83 cm	0,93 cm
Alto de la paleta (Li)	1,46 cm	0,74 cm
Diámetro del disco del agitador	4,73 cm	2,41 cm

De igual manera en la Tabla 3.2 se muestran la ubicación entre los agitadores, así como el nivel del líquido y el volumen de operación. Se puede observar que la distancia entre el agitador inferior y el fondo del reactor es igual a la distancia entre el agitador superior y el nivel del líquido, además se evidencia que la distancia entre agitadores es 1,3 veces el diámetro del agitador, lo que garantiza una mezcla efectiva en el reactor de acuerdo al rango de 1,0 a 1,5 establecido por Doran, 1995.

Esto se debe a que si los agitadores se colocan demasiado separados se forman zonas sin agitación entre ellos, mientras que si se colocan demasiado juntos se producirán corrientes de flujo que interfieren unas con otras e interrumpen la circulación.

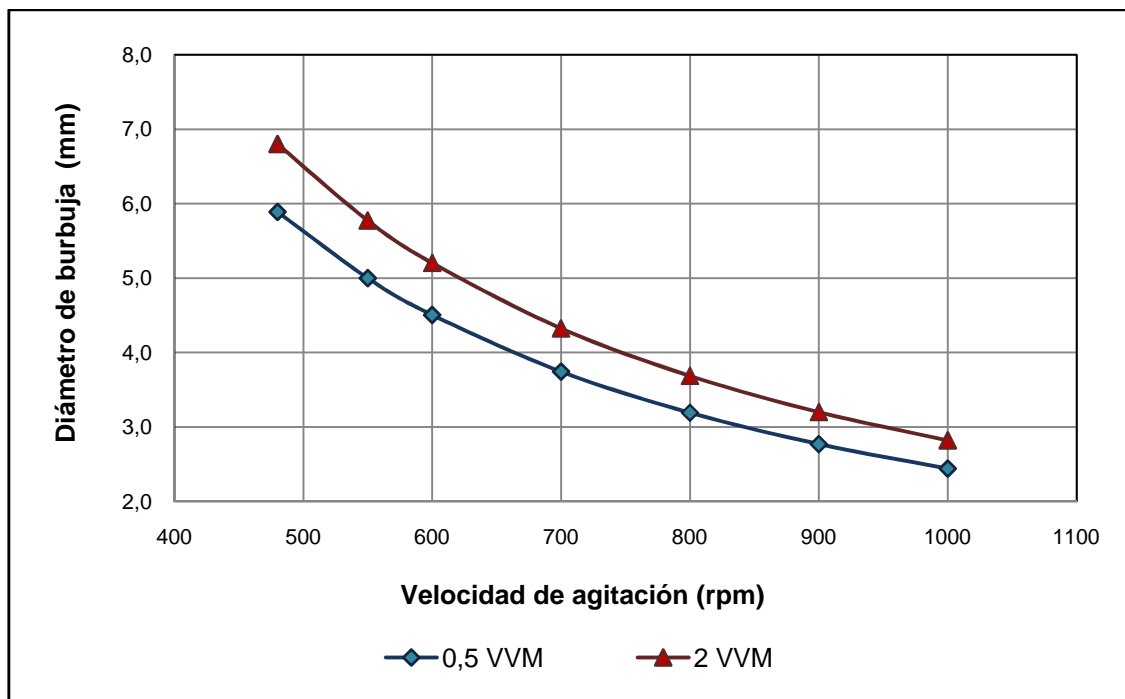
**Tabla 3.2.** Relaciones para la ubicación de los agitadores en el prototipo y valores de diseño para los modelos de 2 y 14 L

Parámetro	Prototipo		Modelo de 14 L	Modelo de 2 L
	Valor	Relación		
Volumen de operación	100,00 L	-	12,90 L	1,70 L
Nivel del líquido	68,80 cm	1,55 Dt	34,04 cm	17,30 cm
Distancia entre agitadores	18,90 cm	1,30 Di	9,52 cm	4,84 cm
Distancia entre el agitador superior y el nivel del líquido	15,50 cm	1,03 Di	7,50 cm	3,80 cm
Distancia entre el agitador inferior y el fondo del reactor	15,50 cm	1,03 Di	7,50 cm	3,80 cm

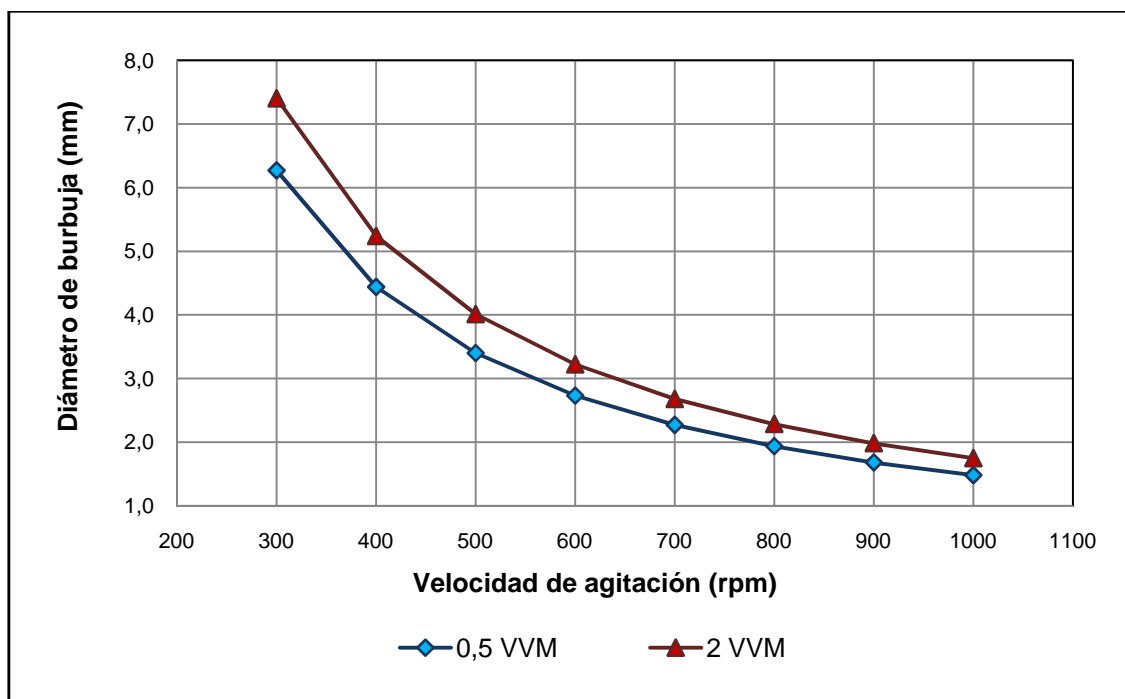
Adicionalmente, se debe indicar que se determinó el diámetro del eje de agitación en 0,46 cm tanto para el modelo de 2 L cuanto para el de 14 L, porque este valor asegura que el sistema de agitación sea capaz de soportar un torque de  $500 \overline{\text{kg}}/\text{cm}^2$  cuando gire con una velocidad de 1 000 rpm máximo.

También se presentan, en las Figuras 3.1 y 3.2, las relaciones entre el diámetro de burbuja y la velocidad de agitación que se usaron para diseñar el aspersor de aire en los modelos de 2 y 14 L. Los resultados que se presentan en estas figuras se evaluaron desde 480 y 300 rpm hasta 1 000 rpm, a intervalos de 100 rpm.

Los límites inferiores de estos rangos se escogieron porque constituyen las velocidades mínimas de agitación para que el sistema funcione dentro de un régimen turbulento de agitación, y el límite superior porque corresponde a la máxima velocidad obtenible en los módulos de trabajo.



**Figura 3.1.** Variación del diámetro de la burbuja con la velocidad de agitación, evaluada a dos tasas de aireación en el modelo de 2 L



**Figura 3.2.** Variación del diámetro de la burbuja con la velocidad de agitación, evaluada a dos tasas de aireación en el modelo de 14 L

En las gráficas anteriores se puede observar que, a medida que aumenta la velocidad de agitación el diámetro de la burbuja disminuye. De hecho, para cada uno de los modelos el incremento del diámetro de burbuja en el rango bajo de la velocidad de agitación, es mayor que en el rango alto.

Así por ejemplo, a velocidades de agitación bajas, los diámetros de burbuja varían significativamente desde 5,89 mm hasta 6,80 mm, mientras que a velocidades de agitación altas la variación es mínima desde 2,44 mm hasta 2,82 mm en el caso del modelo de 2 L. El comportamiento es el mismo en el modelo de 14 L, donde a velocidades bajas la variación va desde 6,27 mm hasta 7,40 mm y a velocidades altas desde 1,48 mm hasta 1,75 mm.

Esto se debe a que cuando la velocidad de agitación aumenta, el esfuerzo cortante del sistema de agitación ocasiona una mayor ruptura de las burbujas.

Es posible observar, así mismo, que para un rango alto de velocidades de agitación, la elevada turbulencia que se logra hace que el diámetro de la burbuja alcance valores prácticamente constantes debido a que la fuerza de corte se convierte en un factor relativamente insignificante.

También se muestra, en la Tabla 3.3, los resultados de la aplicación del modelo esférico para la formación de la burbuja desde el orificio del aspersor.

Estos resultados también permiten constatar que mientras la velocidad de agitación aumenta, el diámetro y el volumen de la burbuja, así como el tiempo de desprendimiento de la burbuja disminuyen.

Esto se debe a que la fuerza de arrastre se incrementa con el aumento de la velocidad, lo que hace que la burbuja se desprenda más rápido y además alcance menor tamaño.



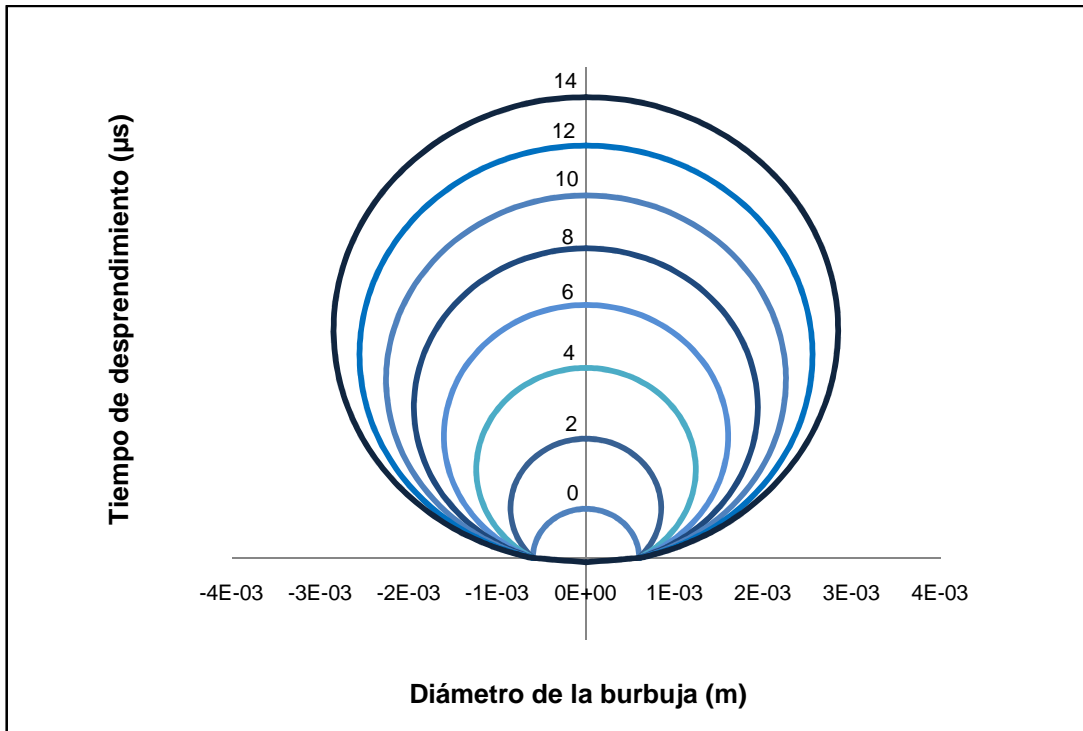
**Tabla 3.3.** Resultados del modelo esférico para la formación de la burbuja desde el orificio en los modelos de 2 y 14 L

Reactor Modelo	Velocidad de agitación [rpm]	Diámetro de burbuja [mm]	Volumen de la burbuja [m <sup>3</sup> ]	Tiempo de desprendimiento [μs]
2 L	550	5,6	9,45 x 10 <sup>-8</sup>	14
	700	4,5	5,35 x 10 <sup>-8</sup>	12
	900	3,5	2,48 x 10 <sup>-8</sup>	8
14 L	400	5,2	7,35 x 10 <sup>-8</sup>	14
	600	3,6	2,52 x 10 <sup>-8</sup>	8
	800	2,8	1,42 x 10 <sup>-8</sup>	6

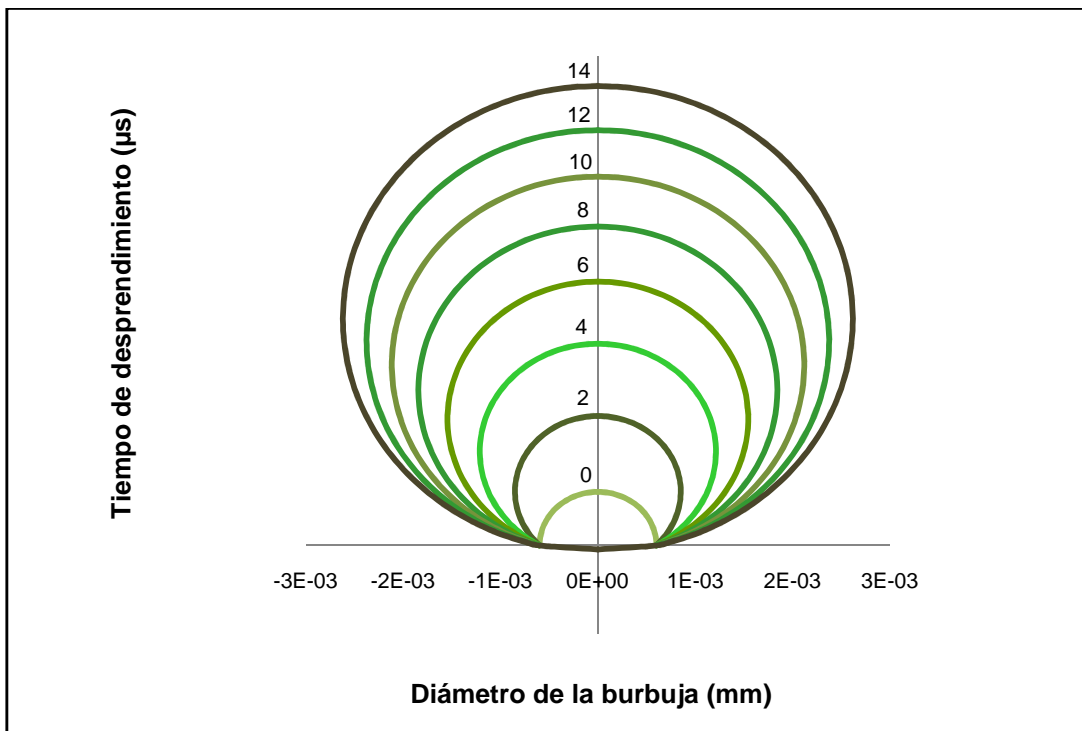
El esquema de formación de la burbuja desde un orificio del aspersor, cuyo diámetro es 1,3 mm, se presenta en las Figuras 3.3 y 3.4 para los modelos de 2 y 14 L, respectivamente.

Luego de analizar la formación de la burbuja mediante las simulaciones, a intervalos de tiempo de 2 μs, se puede constatar que el desprendimiento ocurre, en ambos casos, a los 14 μs, a pesar de haberse evaluado a diferentes velocidades de agitación.

Esto se explica, atendiendo al hecho de que el tamaño de las paletas del agitador es diferente para las escalas modelo de 2 y 14 L, y a que esto genera una velocidad de punta diferente en cada caso, factor que influye en la fuerza de arrastre de la burbuja.



**Figura 3.3.** Esquema de formación de la burbuja desde el orificio del aspersor en el modelo de 2 L, evaluado a 550 rpm y 1 VVM



**Figura 3.4.** Esquema de formación de la burbuja desde el orificio del aspersor en el modelo de 14 L, evaluado a 400 rpm y 1VVM

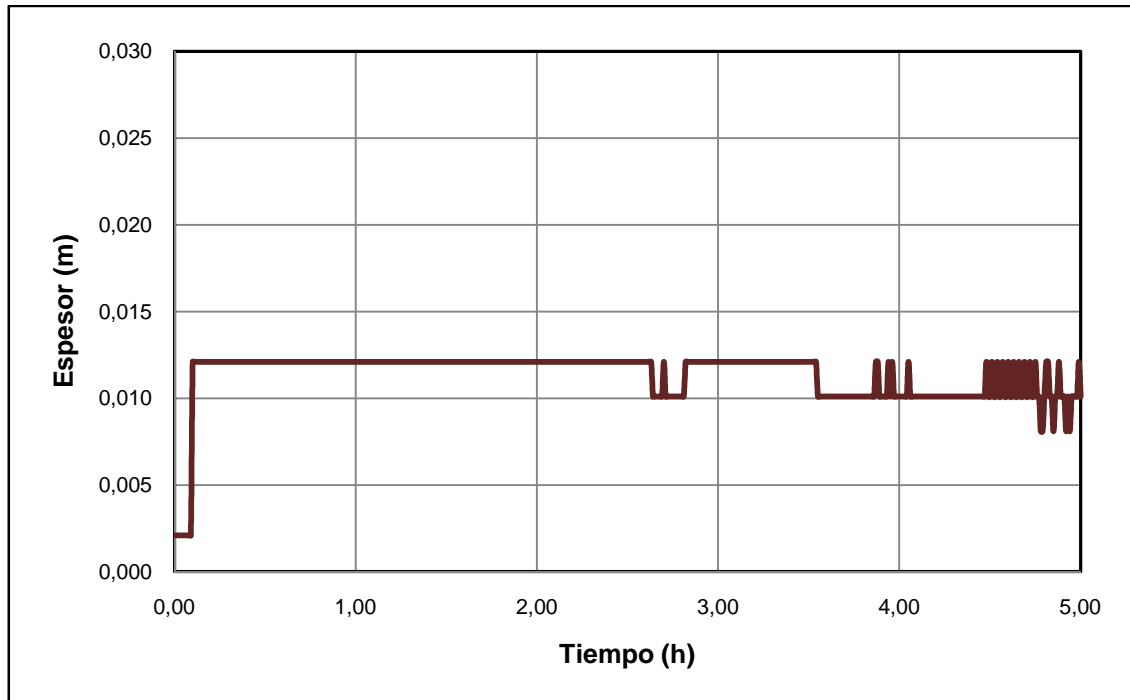
Finalmente, en la tabla siguiente se muestran las dimensiones del aspersor de aire de tubería perforada con arreglo en cruz para los modelos. Además, se presenta la presión de aire a la entrada del aspersor que se usó en los experimentos, que son valores calculados mediante el modelo de formación de la burbuja desde el orificio.

**Tabla 3.4.** Dimensiones del aspersor de aire en las escalas modelo

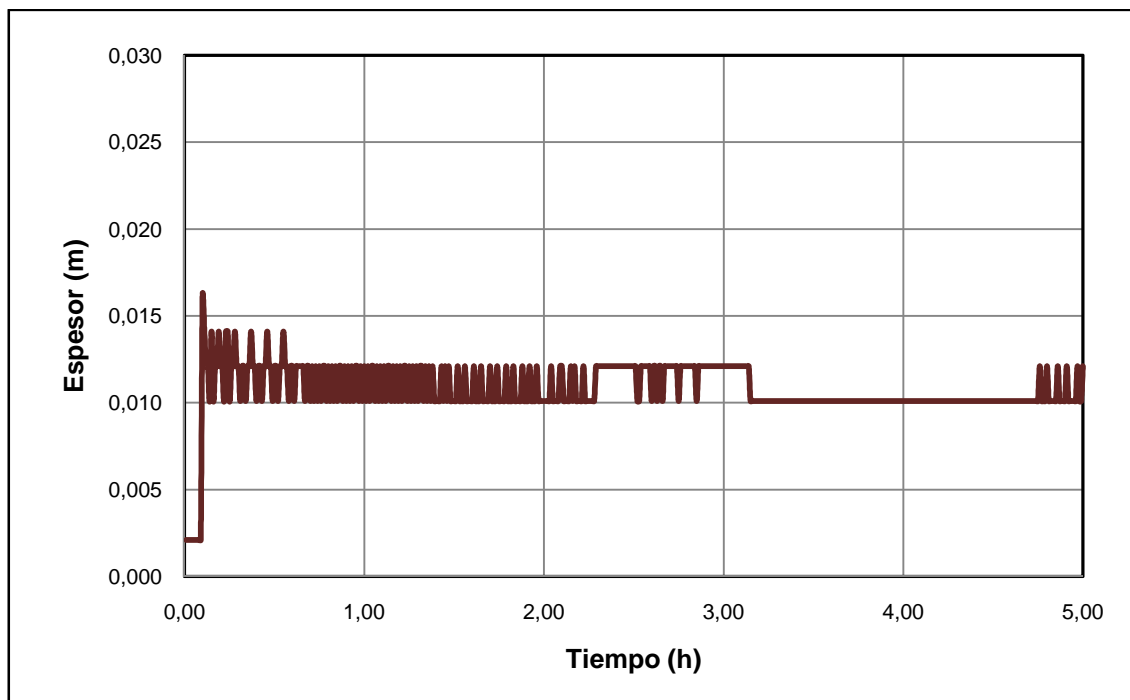
<b>Parámetro</b>	<b>Prototipo</b>	<b>Modelo de 14 L</b>	<b>Modelo de 2 L</b>
Longitud de conducción	7,0 cm	3,5 cm	1,8 cm
Diámetro de la conducción	0,8 cm	0,4 cm	0,4 cm
Diámetro del orificio	1,2 mm	1,3 mm	1,3 mm
Número de orificios por conducción	18	4	4
Presión de entrada de aire al aspersor	-	15 psi	20 psi

A continuación se presentan, en las Figuras 3.5, 3.6 y 3.7, los resultados del diseño de la chaqueta de enfriamiento, generados mediante la simulación del proceso de producción de biomasa en el reactor modelo de 2 L, con la finalidad de buscar un espesor de chaqueta que produjese la respuesta más estable.

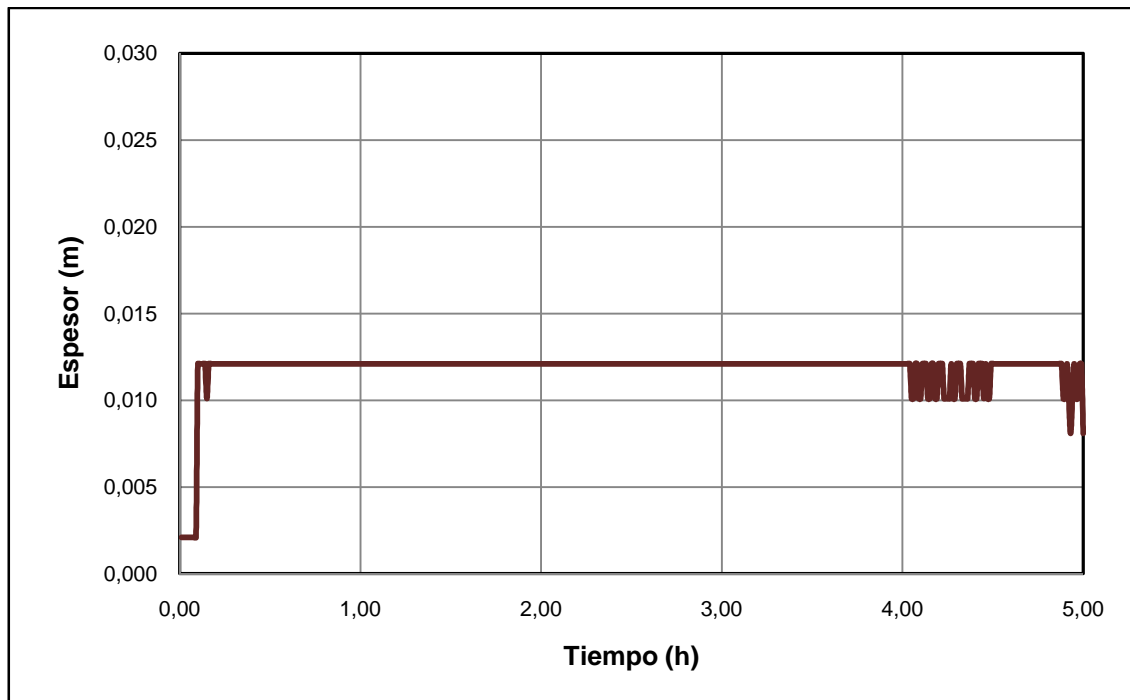
Las oscilaciones que pueden observarse se deben a la inercia del sistema que se hace ostensible cuando el controlador aumenta el flujo de agua de enfriamiento para mantener la temperatura en el valor requerido para el crecimiento microbiano, ya que esta temperatura se incrementa como resultado del aumento de la población de levaduras, que genera mayor calor de fermentación.



**Figura 3.5.** Espesor de la chaqueta aplicando la ecuación empírica de Hilbert y Knudsen-Katz para convección forzada alrededor de un cilindro



**Figura 3.6.** Espesor de la chaqueta aplicando la ecuación empírica de Donohue para convección forzada por el lado de la coraza en intercambiadores de tubos concéntricos



**Figura 3.7.** Espesor de la chaqueta aplicando la ecuación empírica de Coulbourn para convección forzada por el lado de la coraza en intercambiadores de tubos y coraza.

En los gráficos anteriores se evidencia que al aplicar la ecuación empírica de Donohue para la estimación del número de Nusselt en convección forzada en intercambiadores de tubos concéntricos, los resultados son más inestables que cuando se aplica la ecuación de Hilbert y Knudsen-Katz para convección forzada alrededor de un cilindro, y la de Coulbourn para convección forzada por el lado de la coraza en intercambiadores de tubos y coraza con deflectores, siendo esta última la que produce los mejores resultados, por ser más estables.

Es de señalar que, aún cuando se aplicaron diferentes parámetros de control como ganancia proporcional y tiempo integral, los resultados de variabilidad que se presentan en la Tabla 3.5 demuestran que a pesar de las oscilaciones obtenidas, y considerando los picos superiores e inferiores, en todos los casos el valor adecuado para el espesor de la chaqueta correspondiente al modelo de 2 L es 1,21 cm.

**Tabla 3.5.** Parámetros de control y resultados de estabilidad en la variación del espesor de la chaqueta en función del tiempo obtenidos en la simulación.

Parámetro	Ecuación empírica para la transferencia de calor por convección en la chaqueta		
	Hilpert y Knudsen-Katz	Donohue	Coulbourn
Ganancia del controlador	11,00 gpm/°C	13,72 gpm/°C	14,60 gpm/°C
Tiempo integral controlador	0,60 h	0,37 h	0,35 h
Pico superior máximo	1,21 cm	1,41 cm	1,21 cm
Pico inferior mínimo	0,97 cm	1,01 cm	1,01 cm
Espesor adecuado	1,21 cm	1,21 cm	1,21 cm

En la Tabla 3.6 se muestran las dimensiones de las chaquetas de los modelos de 2 y 14 L. De su observación es posible constatar que, a pesar de que el volumen de operación aumenta significativamente de una escala a otra, el espesor de la chaqueta no aumenta proporcionalmente al incremento de los respectivos volúmenes. Esto se debe a que este parámetro de diseño influye únicamente en el tiempo de estabilización del sistema después del arranque porque el calor que la fermentación libera es muy pequeño.

**Tabla 3.6.** Dimensiones de las chaquetas de los modelos y del prototipo

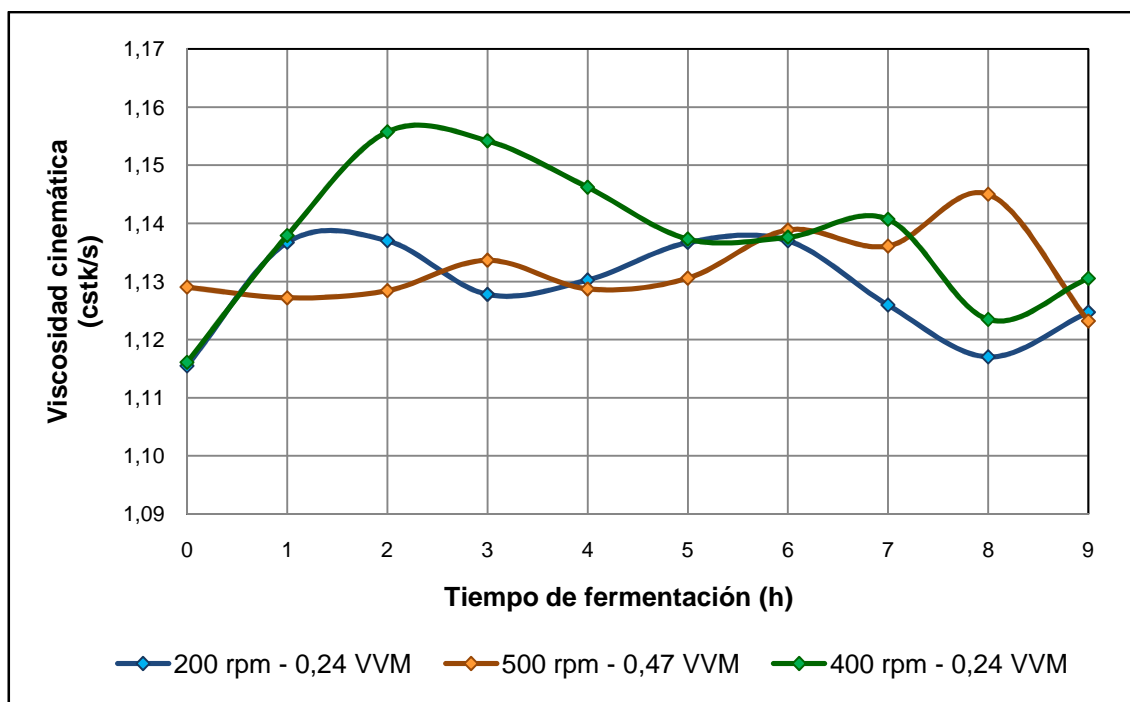
Parámetro	Prototipo	Modelo de 2 L	Modelo de 14 L
Altura de la chaqueta	47,6 cm	17,3 cm	34,0 cm
Espesor de la chaqueta	2,44 cm	1,21 cm	1,42 cm
Espesor de la pared de la chaqueta	-	1,59 mm	1,60 mm
Volumen de la chaqueta	3,0 L	0,8 L	2,6 L

## 3.2 INFLUENCIA DE LA AGITACIÓN, AIREACIÓN Y DE LOS PARÁMETROS DE ESCALADO EN EL $k_{La}$

### 3.2.1 ANÁLISIS DE LA VISCOSIDAD DEL MEDIO DE FERMENTACIÓN

La variación de la viscosidad cinemática del medio con respecto al tiempo durante los procesos fermentativos realizados en el prototipo se presenta en la Figura 3.8. Para la realización de este trabajo se consideraron diferentes combinaciones de velocidad de agitación y tasa de aireación con la finalidad de analizar la influencia de estos parámetros sobre la evolución de los valores de la viscosidad.

Se estudiaron las ocho combinaciones posibles, seleccionándose de entre ellas las combinaciones más baja, la más alta y aquella con la que se alcanzó la mayor productividad de levadura de panificación.



**Figura 3.8.** Variación de la viscosidad del medio para diferentes combinaciones de velocidad de agitación y tasa de aireación en los procesos realizados en el prototipo

El análisis de estos resultados muestra que se obtiene la mayor productividad al aumentar la velocidad de agitación, porque al hacerlo, se incrementa la fuerza de corte, esto aumenta la concentración de oxígeno disuelto y, a la vez, facilita su absorción por parte del microorganismo

Además de lo dicho, se debe indicar que se observa que para la combinación más productiva la viscosidad cinemática es mayor con respecto a las otras combinaciones durante el periodo comprendido entre la segunda y quinta horas del experimento, porque este período coincide con la etapa de crecimiento exponencial a las condiciones de pH, temperatura, y concentración de levadura en el inóculo, y a la composición del sustrato establecidas en este trabajo.

Por otra parte, se encontró que el porcentaje de desviación con respecto al promedio referido a los valores de viscosidad cinemática, durante las nueve horas que duran los procesos fermentativos, fue de 0,69% para la combinación más baja, 0,58% para la más alta y 1,04% para la combinación más productiva. Esto permite confirmar que la viscosidad cinemática se mantiene constante con el tiempo.

Es importante recalcar que, en general, en el caso de los fluidos en estado líquido, la viscosidad cinemática varía solo con la temperatura, y que si ésta se controla y mantiene en un valor de 30 °C, entonces la viscosidad dinámica también se mantendrá constante a lo largo del tiempo. Por esta razón el comportamiento reológico del medio corresponde al de un fluido newtoniano, siempre y se trabaje con una concentración de levadura de 2,5% en el inóculo.

Cabe señalar que en este trabajo se corroboró que, como se conoce, el comportamiento reológico del medio de fermentación es función de la concentración de levadura en el inóculo. Esto se afirma porque al realizar un ensayo de prueba con una concentración de levadura de 5% en el inóculo, la población microbiana creció de forma que la concentración de oxígeno disuelto disminuyó desde 4,5 ppm hasta 1,0 ppm en la segunda hora de ensayo, y la viscosidad cinemática aumentó hasta 0,146 cstk/s, dando como resultado un medio de reología no newtoniana.



### 3.2.2 EVALUACIÓN DE LA POTENCIA POR UNIDAD DE VOLUMEN EN FUNCIÓN DE LA AGITACIÓN Y AIREACIÓN

En la tabla 3.7 se presentan los resultados que relacionan la velocidad de agitación, y la tasa de aireación con la potencia transferida por unidad de volumen.

**Tabla 3.7.** Potencia por unidad de volumen en  $W/m^3$  a diferentes combinaciones de velocidad de agitación y tasa de aireación en los modelos y el prototipo.

<b>Prototipo</b>	<b>0,24 VVM</b>	<b>0,47 VVM</b>
200 rpm	7 196,65	7 152,50
300 rpm	13 914,51	13 157,10
400 rpm	23 526,20	21 505,76
500 rpm	37 726,39	33 544,61
<b>Modelo de 14 L</b>	<b>0,74 VVM</b>	<b>1,24 VVM</b>
400 rpm	28 855,81	28 564,34
500 rpm	40 229,46	37 581,40
600 rpm	51 455,81	50 190,70
700 rpm	63 116,28	60 358,14
<b>Modelo de 2 L</b>	<b>1,47 VVM</b>	<b>2,06 VVM</b>
550 rpm	288 426,47	285 705,88
650 rpm	347 108,82	344 604,90
750 rpm	409 565,69	406 893,14
820 rpm	453 362,75	448 404,90

En todas las escalas se puede observar que la potencia transferida por unidad de volumen aumenta con la velocidad de agitación, esto se debe a que, además de que el incremento en la velocidad de agitación implica un aumento de la potencia

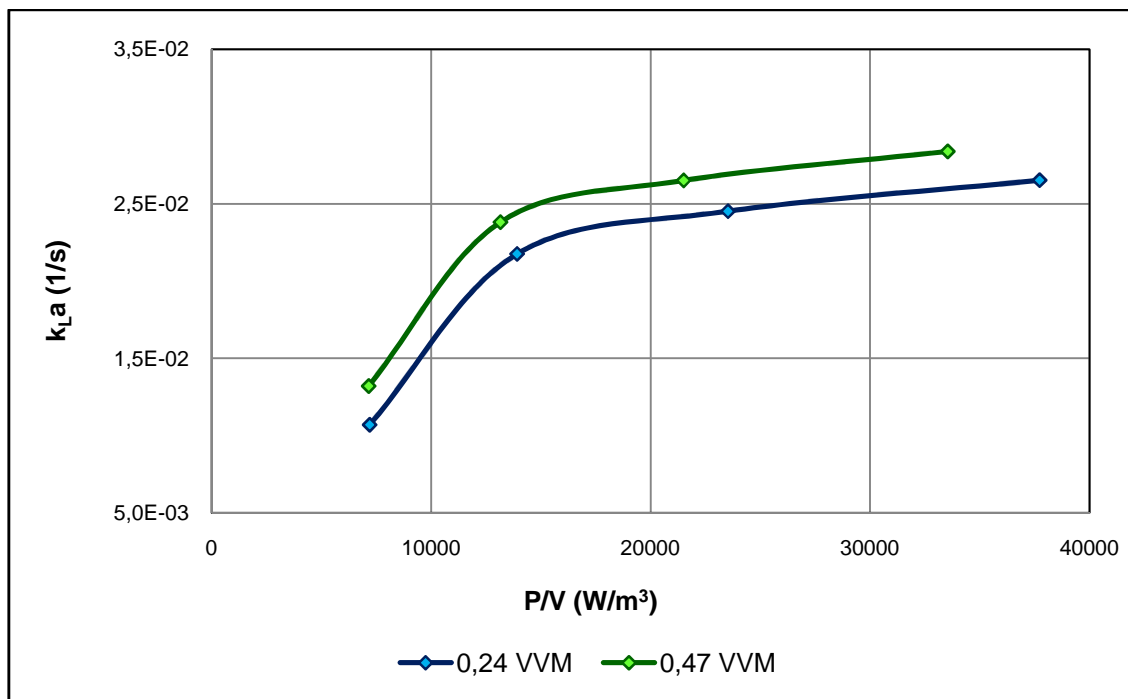
efectiva transferida al eje, también implica un aumento del arrastre de las burbujas de aire desde el disco de la turbina hacia el seno del fluido. Esto ocasiona que la retención de aire en la región del agitador disminuya provocando por consiguiente el aumento de la potencia consumida.

Al contrario de lo indicado anteriormente, la potencia por unidad de volumen disminuye con el aumento de la tasa de aireación. Esto se debe a que la mejor aspersión de burbujas de aire reduce la densidad del medio y da lugar, además, a la formación de cavidades de aire, producto de la acumulación y coalescencia de las burbujas que se encuentran en la región cercana a las paletas del agitador.

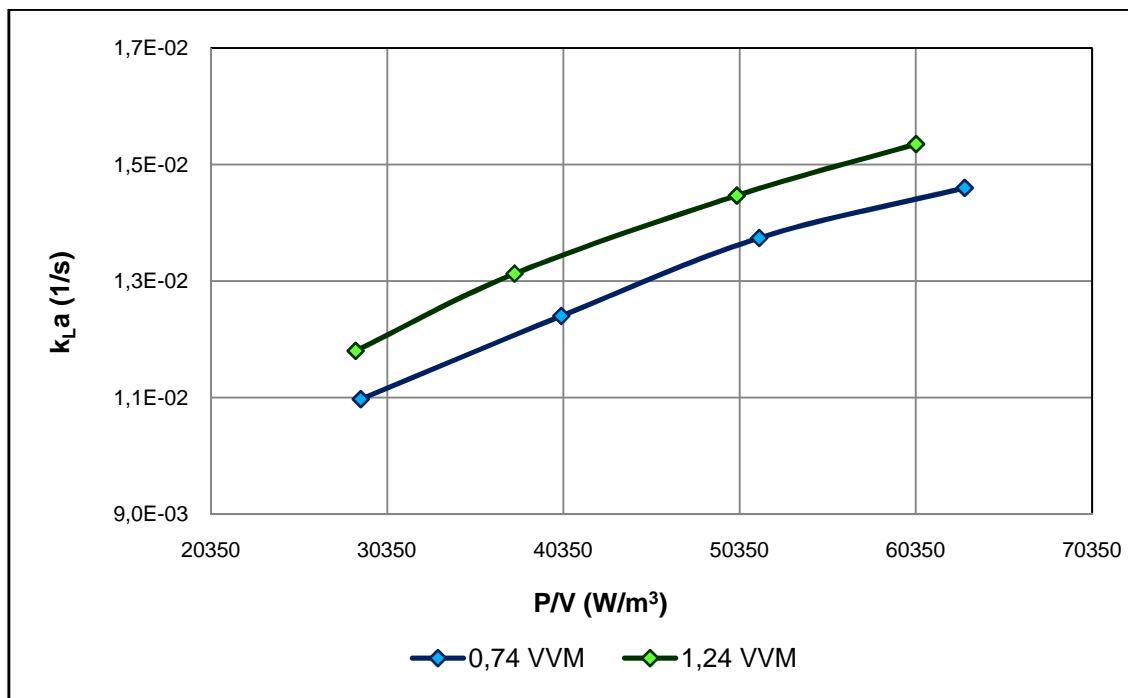
Además, si se considera que en el prototipo se trabajó con tasas de aireación cuya diferencia es tan solo de 0,2 VVM, y con velocidades de agitación apartadas de la velocidad mínima de operación en régimen turbulento que es 75 rpm, mientras que en los reactores modelo las tasas de aireación difieren entre sí en 0,5 VVM y las velocidades de agitación son cercanas a la velocidad mínima de operación en régimen turbulento. Esto provoca que al evaluar la potencia por unidad de volumen en el prototipo, a una velocidad de agitación constante y tasa de aireación variable, la diferencia entre los valores de potencia sea menor que en los reactores modelo, ya que el efecto de la agitación es mucho más elevado en flujos de aire altos que en flujos bajos. (Shukla *et al.*, 2001)

### **3.2.3 EFECTO DE LA POTENCIA POR UNIDAD DE VOLUMEN EN EL $k_La$**

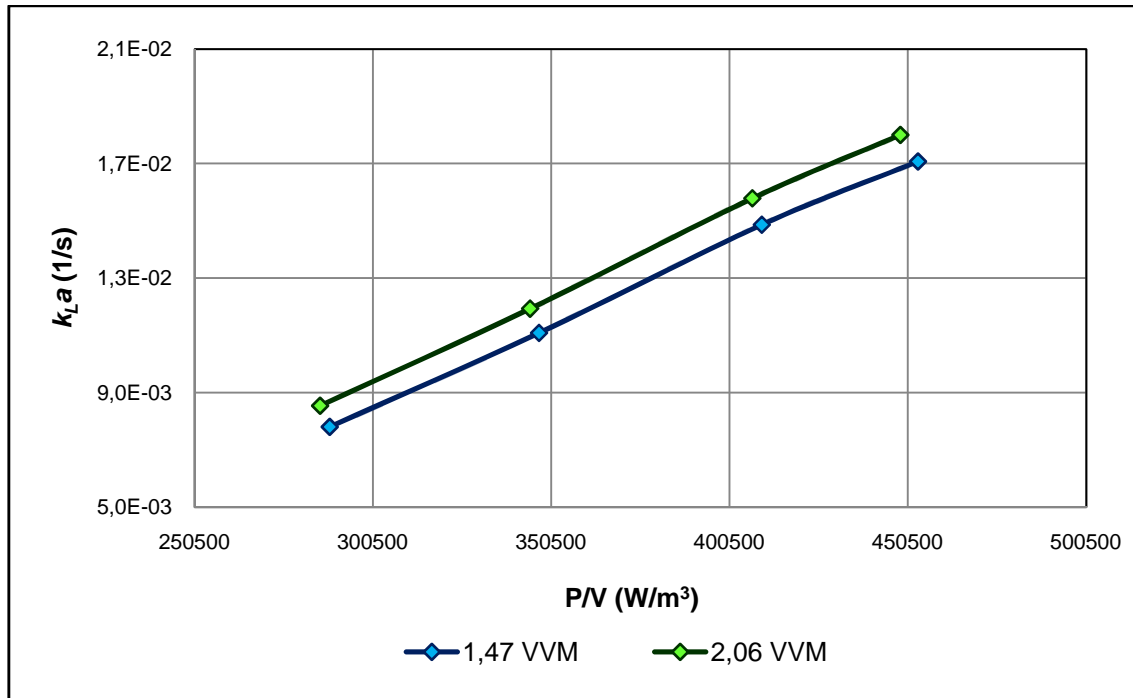
El estudio de la influencia de la transferencia de potencia por unidad de volumen sobre el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno se presenta en las Figuras 3.9, 3.10, y 3.11, que corresponden respectivamente, al prototipo y a los modelos.



**Figura 3.9.** Variación del  $k_{La}$  versus la potencia por unidad de volumen dos tasas de aireación en el prototipo



**Figura 3.10.** Variación del  $k_{La}$  versus la potencia por unidad de volumen a dos tasas de aireación en el modelo de 14 L

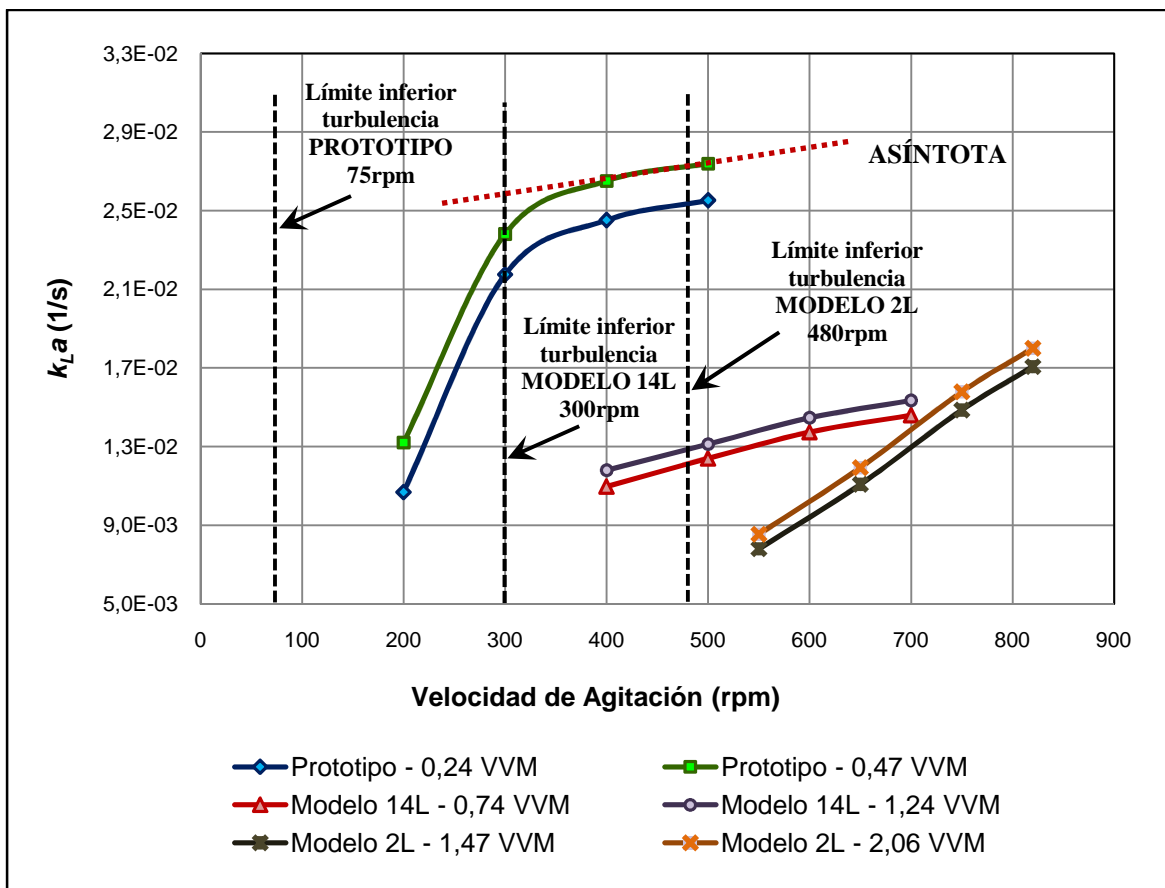


**Figura 3.11.** Variación del  $k_{La}$  versus la potencia por unidad de volumen a dos tasas de aireación en el modelo de 2 L

En todas las escalas se puede observar que el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno aumenta a medida que la potencia por unidad de volumen y la tasa de aireación aumentan.

Esto se debe a que al trabajarse con un sistema de agitación conformado por tres agitadores tipo disco-turbina, la corriente de aire se desplaza desde el aspersor hacia la punta del agitador, donde probabilidad de ruptura de las burbujas de aire es mayor. Esta característica es inherente al disco-turbina y se fundamenta en que la interacción entre las burbujas de aire y el disco del agitador, hace que éstas se trasladen hacia las paletas, rompiéndose, provocando sin embargo que, a cualquier tiempo, exista una mínima cantidad de burbujas que se dispersan por los costados del reactor, sin romperse.

Con este tipo de agitador la ruptura es mayor y la concentración de oxígeno disuelto aumenta a medida que aumentan la velocidad de agitación y la tasa de aireación, produciendo que la tasa de transferencia de oxígeno sea mayor que con otros agitadores.



**Figura 3.12.** Variación del  $k_{La}$  en función de la velocidad de agitación en el prototipo y en los modelos a dos tasas de aireación.

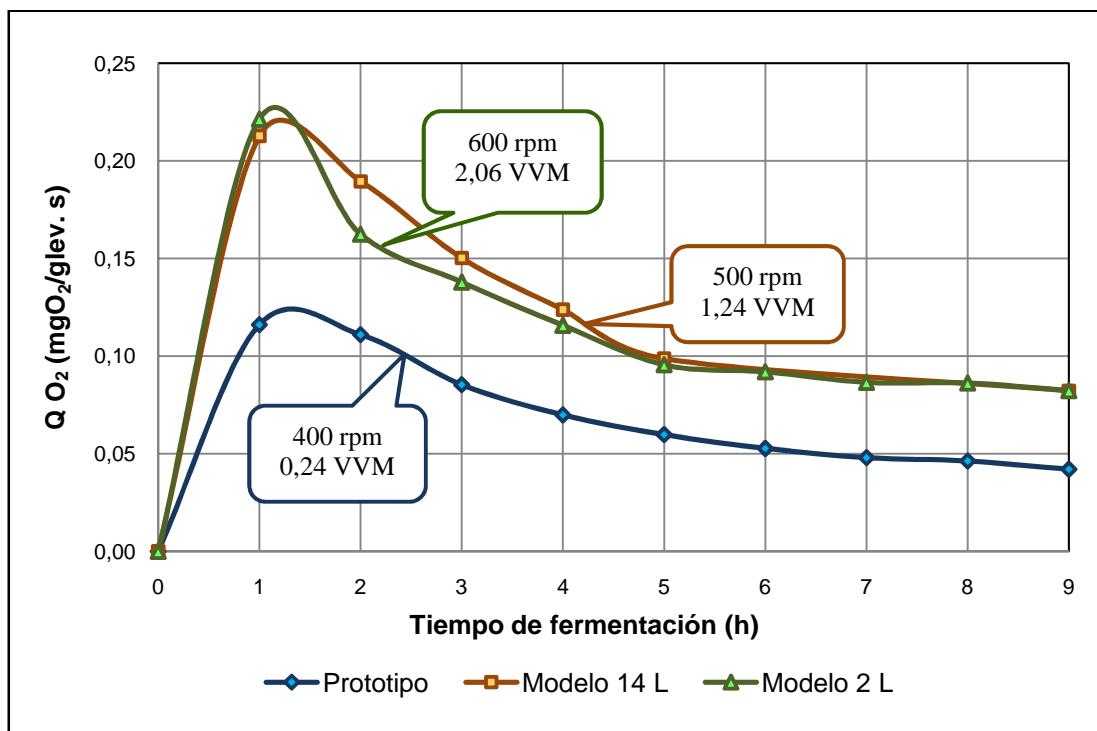
Por otra parte, como se puede apreciar en la figura 3.12, la tendencia general de la variación de  $k_{La}$  en función de la velocidad de agitación es logarítmica en el prototipo, y en el caso de los modelos también, aunque cuasi lineal.

Esto se explica porque, como se ha mencionado anteriormente, en el prototipo se trabajó con velocidades de agitación superiores al límite mínimo para régimen turbulento (75 rpm) en esa escala, provocando que los incrementos del  $k_{La}$  sean cada vez más pequeños (asintóticos). En los modelos, por el contrario, al trabajarse con velocidades de agitación cercanas a la velocidad mínima de operación en régimen turbulento, 480 rpm y 300 rpm para el reactor de 14 y 2 L respectivamente, los incrementos en el  $k_{La}$  son elevados respecto de la velocidad de agitación y por consiguiente con respecto a la potencia por unidad de volumen.

### 3.2.4 CINÉTICA DE CONSUMO DE OXÍGENO POR PARTE DE LA POBLACIÓN MICROBIANA

La cinética de consumo de oxígeno es la variación de la tasa específica de consumo de oxígeno de la población microbiana durante el proceso de fermentación. Esto se muestra en la Figura 3.13, en donde se puede apreciar la influencia del crecimiento de la levadura en el consumo de oxígeno, en el prototipo y en los modelos.

La tasa específica de consumo de oxígeno se evalúa para la combinación de velocidad de agitación y tasa de aireación que genera la mayor productividad del proceso. En el caso del prototipo es 400 rpm y 0,24 VVM, para el modelo de 14 L es 500 rpm y 1,24 VVM y para el modelo de 2 L es 600 rpm y 2,06 VVM.



**Figura 3.13.** Tasa específica de consumo de oxígeno por parte de la población microbiana en los modelos y el prototipo.

En la figura se puede apreciar que, en todos los casos, la tasa específica de consumo de oxígeno exhibe un máximo más cercano a la primera hora de proceso que a la segunda, que corresponde al comienzo de la fase de crecimiento exponencial.

También puede constatar que, a partir de este punto, la tasa de consumo de oxígeno disminuye hasta que, hacia la quinta hora de fermentación, cuando la fase de crecimiento exponencial ha terminado, se podría considerar que adquiere un valor cuasi constante, que corresponde a una fase estacionaria en la que la velocidad de propagación de levadura disminuye en forma notable respecto de la anterior.

Además, en la figura puede observarse que la tasa específica de consumo de oxígeno en el prototipo es siempre menor que en los modelos. Esto sucede porque si bien la tasa específica de consumo aumenta cuando la productividad disminuye, lo que es comparable únicamente cuando en escalas diferentes se trabaja con la misma tasa de aireación.

En este trabajo, en el prototipo se opera con una tasa de aireación de 0,24 VVM donde la productividad es 0,315 glev/mL y en los modelos de 2 y 14 L se operan con 2,06 y 1,24 VVM obteniéndose una productividad de 0,389 glev/mL y 0,408 glev/mL respectivamente. Los resultados demuestran que aún cuando la productividad sea mayor, la influencia de la tasa de aireación ocasiona que la tasa específica de consumo de oxígeno se incremente.

### **3.2.5 OBTENCIÓN DEL MODELO MATEMÁTICO DE ESCALADO**

Este modelo matemático se basa en la relación entre los parámetros de escalado, que son: (1) Potencia por unidad de volumen; (2) La velocidad superficial de aire, y (3) El coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno.

Estos parámetros están relacionados mediante la ecuación [3.1], que constituye la expresión más empleada en los casos de sistemas de fermentación con comportamiento reológico newtoniano (Cooper *et al.*, 1944).

$$k_L a = C * \left( \frac{P}{V} \right)^\alpha * (Vs)^\beta \quad [3.1]$$

Donde:

$k_L a$ : coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno

$P/V$ : potencia de agitación con aireación por unidad de volumen

$V_s$ : velocidad superficial de aire

$C$ : constante de correlación

$\alpha$  y  $\beta$ : exponentes de correlación

Los valores de la constante y los exponentes de la expresión correspondientes tanto al prototipo como a los reactores modelo se presentan en la Tabla 3.8, estos parámetros se estimaron por ajuste funcional de los datos experimentales obtenidos durante el transcurso de este trabajo mediante el programa PASW Statistics versión 18.0 que, además, permite realizar un análisis estadístico ANOVA que se muestra en el Anexo V.

**Tabla 3.8.** Constantes y coeficientes de la relación entre los parámetros de escalado y el  $k_L a$  en los modelos y el prototipo.

Parámetro	Prototipo	Modelo de 14 L	Modelo de 2 L
Constante C	$1,061 \times 10^{-3}$	$5,784 \times 10^{-4}$	$7,819 \times 10^{-11}$
Exponente $\alpha$	0,411	0,358	1,569
Exponente $\beta$	0,177	0,133	0,228
Coefficiente de regresión $R^2$	0,832	0,997	0,993



Los coeficientes de regresión para los modelos son mayores a 0,99, lo que demuestra que en el caso de los modelos se satisface la relación de Cooper.

En el caso del prototipo el coeficiente de regresión es bajo. Por esta razón fue necesario modificar la expresión mediante la adición de una constante adicional, como se indica en la ecuación siguiente:

$$k_{La} = 0,015 * \left( \frac{P}{V} + 7\,076,71 \right)^{0,144} * (Vs)^{0,157} \quad [3.2]$$

Este ajuste a la ecuación de Cooper, que aquí se propone, hace que el coeficiente de regresión aumente a 0,991. La justificación de este ajuste, obedece a que, a diferencia de lo que sucede en los modelos, el aspersor de aire del prototipo gira *conjuntamente con el sistema de agitación*, provocando el by-pass de una fracción de las burbujas a través de la periferia del reactor, sin que pasen hacia través de la zona de agitada, que es donde se produce la ruptura de las mismas.

La constante propuesta es 7 076,71 W/m<sup>3</sup>, y representa la potencia adicional por unidad de volumen que se requeriría para romper las burbujas que circunvalan la zona de agitación en el prototipo, que es el factor que afecta su coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno.

En todos los casos se observa que los exponentes de la correlación de Cooper, que permiten establecer el grado de influencia de la agitación y la aireación sobre el  $k_{La}$  están dentro de los rangos establecidos por García y Gómez, 2009 (0,4 a 1,7 para  $\alpha$  y 0,3 a 0,7 para  $\beta$ ).

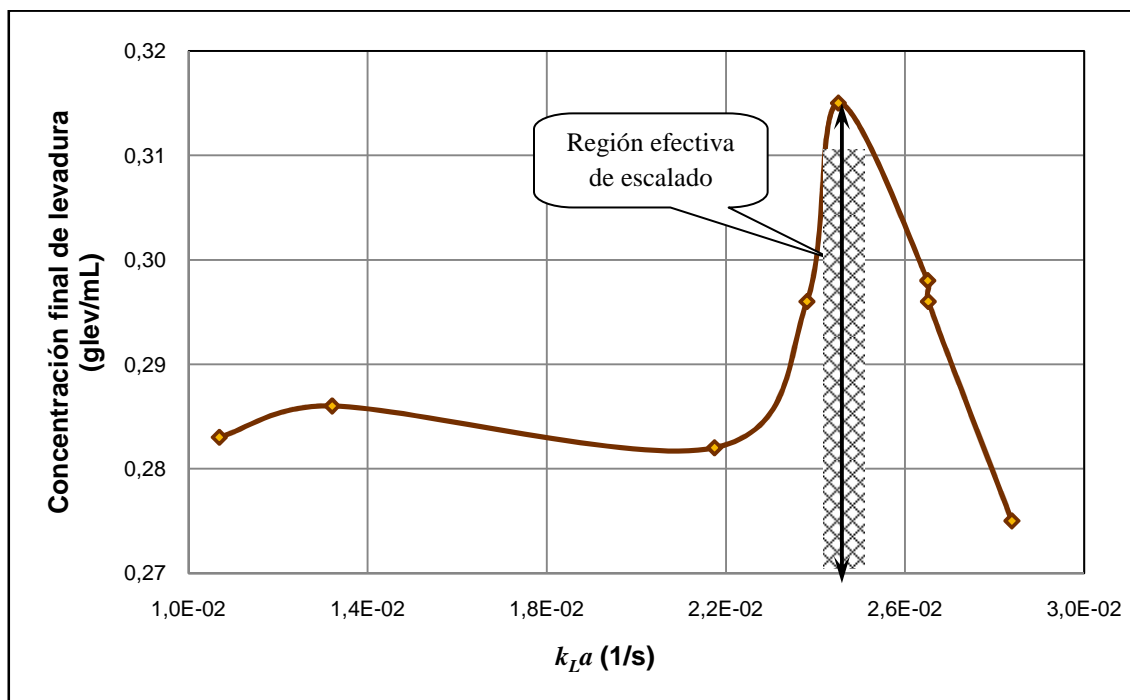
En el caso del prototipo, el modelo de escalado evidencia que la aireación tiene mayor influencia sobre el  $k_{La}$  y que, en los modelos,- por el contrario- el  $k_{La}$  es influenciado en mayor magnitud por la velocidad de agitación.

Por otra parte, a pesar de que los valores de la constante C varían de manera significativa entre los modelos, esto no constituye un problema ya que si bien este parámetro depende de la geometría del agitador, es también función del tamaño del reactor y de las unidades con el que se analiza el modelo de escalado.

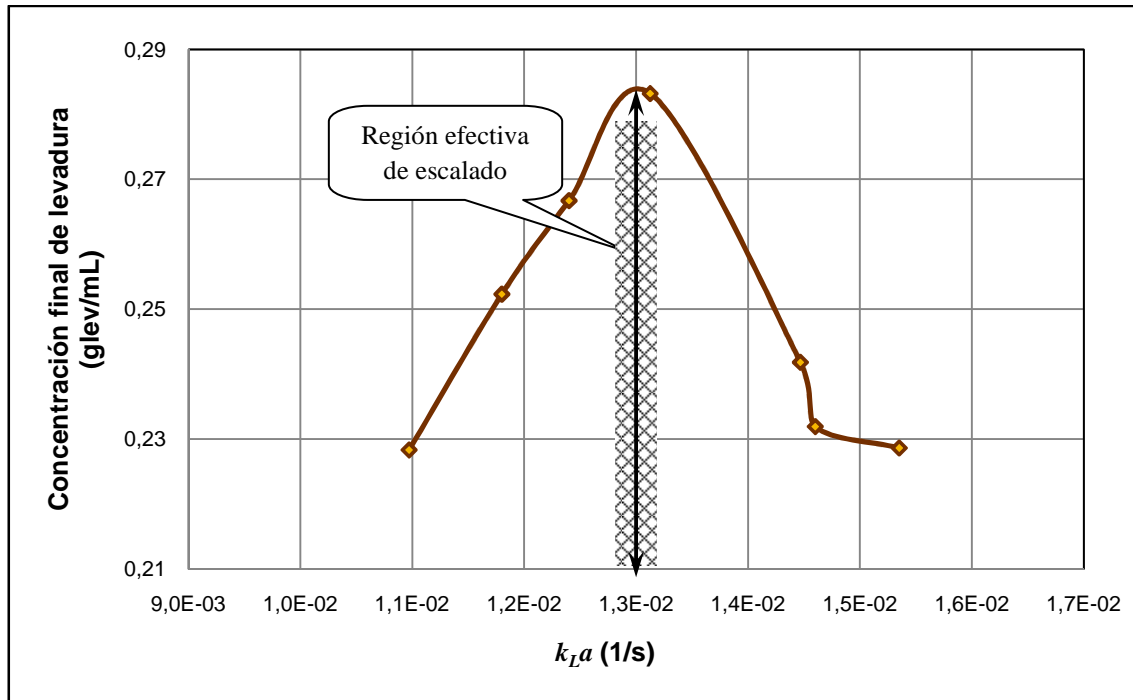
### 3.2.6 EVALUACIÓN DE LA REGIÓN EFECTIVA DE ESCALADO

Para determinar la región efectiva de escalado se analiza la variación de la concentración final del producto de interés del proceso con respecto al valor de  $k_La$ . La variación se presenta en las Figuras 3.14, 3.15 y 3.16, para todas las combinaciones de velocidad de agitación y tasa de aireación con las que se ejecutaron los experimentos en el prototipo y en los modelos.

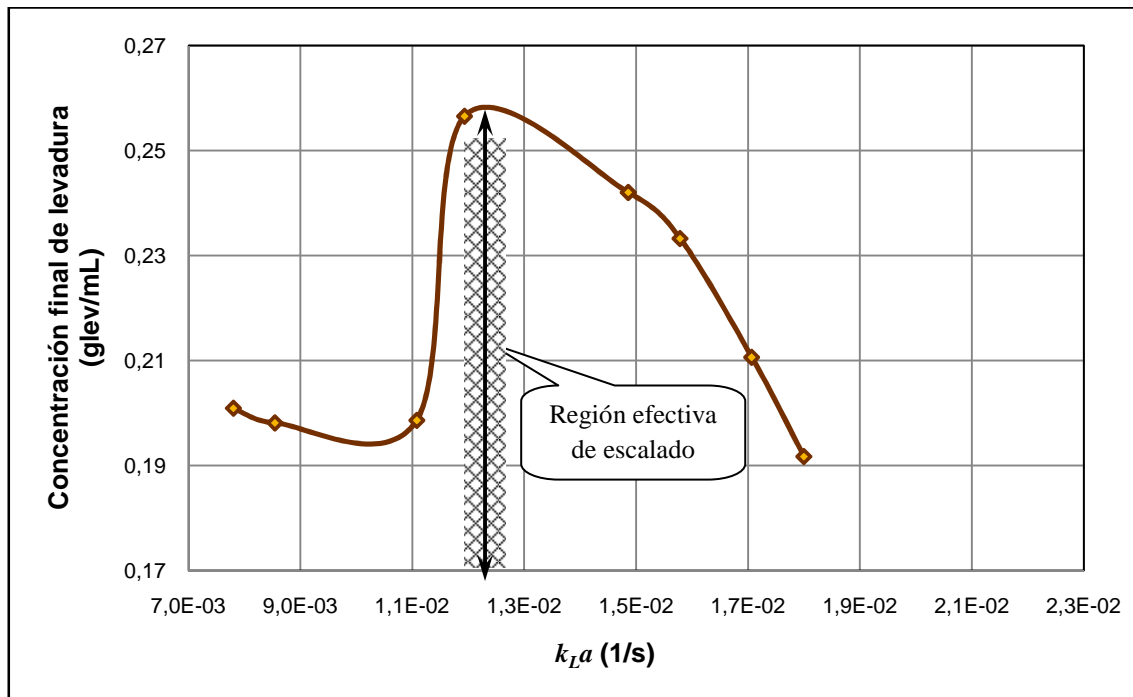
Del análisis de las figuras mencionadas se puede concluir que la región efectiva de escalado está constituida por una banda que abarca un  $\pm 5\%$  a ambos lados del valor máximo de  $k_La$  que en todos los casos genera la mayor concentración final de levadura en el proceso.



**Figura 3.14.** Variación de la concentración final de levadura en función del  $k_La$  evaluada a diferentes parámetros de operación en el prototipo



**Figura 3.15.** Variación de la concentración final de levadura en función del  $k_L a$  evaluada a diferentes parámetros de operación en el modelo de 14 L.



**Figura 3.16.** Variación de la concentración final de levadura en función del  $k_L a$  evaluada a diferentes parámetros de operación en el modelo de 2 L.

En todos los casos se observa una tendencia “parabólica” con un máximo a determinadas condiciones de operación, que constituye una tendencia general independiente de la especie microbiana ya sea bacteria, levadura o moho. (Quintero, 1981)

En esta investigación el proceso de escalado se realiza desde la escala más baja de 2 litros hacia escalas superiores de 14 L y 100 L.

Por esta razón, si la región efectiva de  $\pm 5\%$  en la escala más baja, cuyo valor máximo de  $k_L a$  es  $1,235 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$  con una concentración final de levadura de 0,256 g-lev/mL a una velocidad de agitación de 680 rpm y una tasa de aireación de 1,47 VVM. Este valor para el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno se mantendrá constante en las escalas superiores durante el proceso de escalado.

La región efectiva permitirá establecer las condiciones de operación, velocidad de agitación y tasa de aireación, con las que se obtiene la mayor productividad y el valor del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, que se deberá mantener constante en escalas superiores, con el objetivo de llevar a cabo un proceso de escalado satisfactorio.

De esta manera, si se requiere escalar a un volumen de operación mayor a 150 L, se deberá considerar que en ese caso la región efectiva de escalado está definida como el  $\pm 5\%$  a partir del valor de  $k_L a$  igual a  $2,451 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$  con una concentración final de levadura de 0,315 glev/mL operando con una velocidad de agitación de 400 rpm y una tasa de aireación de 0,24 VVM.

### 3.3 VERIFICACIÓN DEL MODELO MATEMÁTICO DE ESCALADO

#### 3.3.1 CONDICIONES DE OPERACIÓN OBTENIDAS EN EL PROTOCOLO DE ESCALADO

La lógica de escalado, explicada en forma detallada, permite la evaluación de las condiciones de operación obtenidas al aplicar el protocolo de escalado.

Para aplicar el protocolo de escalado que se muestra en la Figura 2.11, se requiere identificar la región efectiva de escalado a partir de la cual se elige el coeficiente de transferencia de oxígeno que haya obtenido la mayor productividad en la escala base, que en este trabajo donde se realiza un *scale-up*, es la escala de 2 L. De los experimentos se puede establecer que este valor es igual a  $1,235 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ , y que debe mantenerse constante durante todo el proceso de escalado, en todas las escalas.

Para ejecutar el escalado se selecciona o la potencia por unidad de volumen, o la tasa de aireación. Esto se debe realizar así porque la tercera variable en el modelo de escalado es el  $k_L a$ , que se obtuvo en la escala de 2 L, como queda dicho.

De esta manera, y con lo fines consiguientes, se eligió en la escala de 14 L, una tasa de aireación de 3,5 L/min. Este valor se eligió debido a que el rotámetro del equipo sólo permitía el manejo de flujos con una aproximación de  $\pm 0,5$  mL/min. Con estos dos valores es posible despejar el valor de la potencia por unidad de volumen del modelo de escalado, lo que permite establecer una velocidad de agitación de 440 rpm.

En el caso del prototipo, se fijó la velocidad de agitación en 200 rpm, debido a que es la condición de operación más difícil de manejar en el módulo de control de este equipo. Luego de aplicar el modelo de escalado de la forma antes indicada se determinó la tasa de aireación debía ser 27,25 L/min.

Una vez determinadas las condiciones de operación en las escalas de 14 y 150 L, como se ha descrito, se llevaron a cabo experimentos de fermentación, durante 8 h, para verificar que, usando las velocidades de agitación y flujos de aire que se han indicado se podía obtener la misma productividad en las tres escalas.

Los resultados de de esta verificación se presentan y discuten en las secciones siguientes.

### 3.3.2 EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS Y FACTORES DE ESCALADO

Los parámetros y factores de escalado que se establecieron de la manera que se indica en la sección anterior se presentan en la tabla a continuación:

**Tabla 3.9.** Parámetros y factores obtenidos en el proceso de escalado desde el reactor modelo de 2 L hacia los reactores modelo de 14 litros y prototipo de 150 L.

Parámetro de escalado	Modelo de 2 L	Modelo de 14 L		Prototipo	
	Valor	Valor	Factor	Valor	Factor
Velocidad de agitación [rpm]	680	440	0,65	200	0,29
Velocidad de punta [m/min]	25,3	32,2	1,27	30,0	1,18
Potencia por unidad de volumen [kW/m <sup>3</sup> ]	353,36	39,63	0,11	6,93	0,02
Coficiente volumétrico de transferencia de oxígeno [s <sup>-1</sup> ]	<b>1,235 x 10<sup>-2</sup></b>	<b>1,236 x 10<sup>-2</sup></b>	<b>1,00</b>	<b>1,241 x 10<sup>-2</sup></b>	<b>1,00</b>
Flujo de aire [L/min]	3,50	9,50	2,71	27,25	7,79
Velocidad superficial de aire [m/min]	0,358	0,251	0,70	0,176	0,49

En la Tabla 3.9, se puede observar que en el proceso de escalado, al mantener el  $k_{La}$  constante, la velocidad de agitación disminuye y el flujo de aire aumenta a medida que la escala es mayor.

Esta tendencia afecta la velocidad de punta del agitador, la potencia por unidad de volumen y la velocidad superficial de aire que constituyen los parámetros de escalado que describen la cinemática y dinámica del proceso de agitación, y en consecuencia la ruptura de burbujas de aire que influye directamente en el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno.

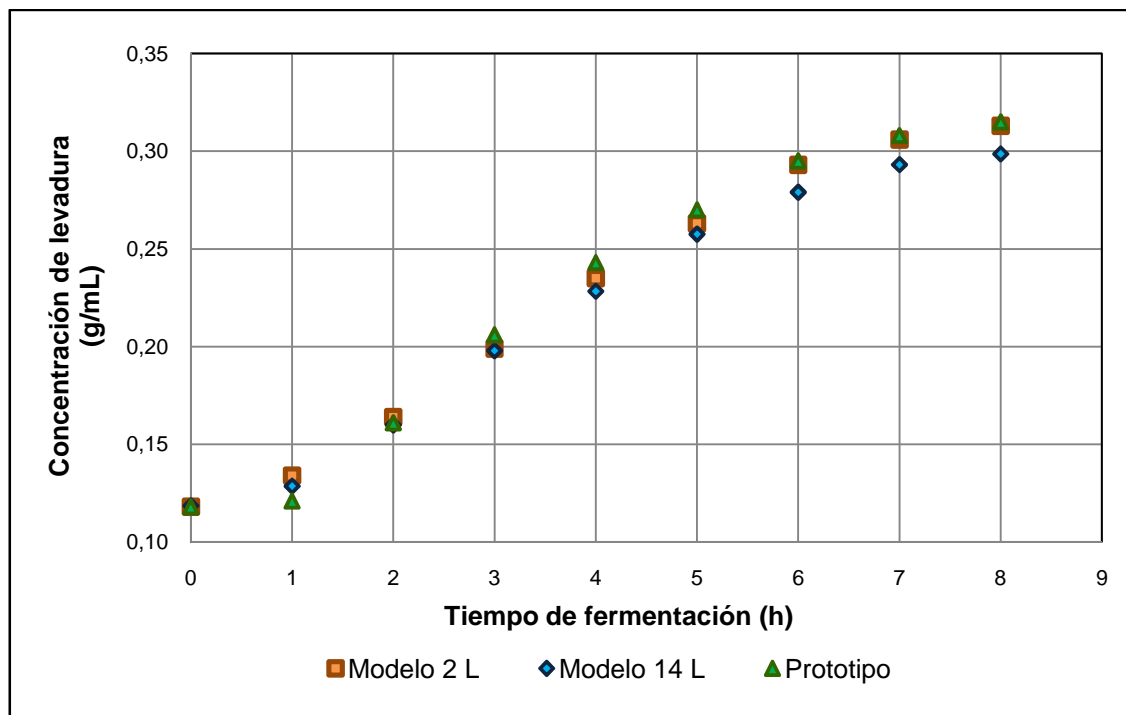
Además de los parámetros de escalado y los valores de operación, se pueden apreciar los *factores de escalado*. Estos factores no son más que el cociente entre el parámetro de escalado de la escala mayor, y el de la escala base, en cada caso.

Durante el escalado del proceso de levadura de panificación se observa que el factor de escalado correspondiente al coeficiente de transferencia de oxígeno disuelto es igual a la unidad.

Esto permite confirmar, que en este trabajo, se cumple el criterio de escalado que establece que el valor de  $k_{La}$  se debe mantener constante en todas las escalas, y además permite verificar que mediante el modelo matemático de escalado es posible estimar un valor de  $k_{La}$  que es prácticamente igual al valor experimental.

### **3.3.3 ANÁLISIS DE LA PRODUCTIVIDAD EN EL PROCESO DE ESCALADO**

Para analizar la productividad en las tres escalas, se procedió a evaluar la cinética de crecimiento microbiano, y se obtienen los resultados de la manera que se muestran en la Figura 3.17, bajo las condiciones de operación que se determinaron al aplicar el protocolo de escalado.



**Figura 3.17.** Crecimiento de levadura de panificación durante el proceso de escalado para el prototipo y los modelos de 2 y 14 L.

De la figura anterior se puede apreciar que, al comparar el perfil de crecimiento microbiano en las tres escalas, la concentración de levadura difiere ligeramente sólo durante las fases de adaptación y de disminución de la velocidad de propagación, que se refieren a la primera hora y al periodo comprendido entre la sexta y octava hora respectivamente.

Esto se debe a dos factores: (1) El origen de la levadura de panificación, que aunque fue de igual procedencia, las condiciones del empaque comercial no fueron las mismas, porque se trató de diferentes lotes; y (2) La adición de antiespumante, que hubo de incrementarse durante la sexta y séptima horas, lo que afectó la medición de la absorbancia, que fue la manera en que se determinó la concentración de levadura.

A pesar de estas pequeñas discrepancias los resultados de la verificación pueden considerarse satisfactorios. Adicionalmente, en la Tabla 3.10 se presentan los parámetros que describen la cinética de crecimiento de la levadura.



**Tabla 3.10.** Parámetros de cinética de crecimiento microbiano en el proceso de escalado para el prototipo y los modelos de 2 y 14 L

<b>Parámetro</b>	<b>Modelo de 2 L</b>	<b>Modelo de 14 L</b>	<b>Prototipo</b>
Concentración inicial de levadura [g/mL]	0,118	0,118	0,118
Tasa de crecimiento microbiano [hr <sup>-1</sup> ]	0,158	0,157	0,161
Concentración final de levadura [g/mL]	0,263	0,258	0,267

La desviación promedio de los parámetros cinéticos referidos a la tasa de crecimiento microbiano y a la concentración de levadura al finalizar de la fase de crecimiento exponencial es 2% con respecto los valores correspondientes al modelo de 2 L que constituye la escala base.

Esta dispersión baja permite establecer que luego de realizar el proceso de escalado se alcanza la misma productividad en las tres escalas cuando se mantiene constante el coeficiente de transferencia de oxígeno.

## **4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **4.1 CONCLUSIONES**

1. El diseño del sistema de agitación y de aspersión de aire, permite que los modelos guarden similitud geométrica y dinámica con el prototipo, ya que fueron diseñados de tal manera que se alcance un tamaño de burbuja que asegure un coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno óptimo.
2. El coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno está influenciado mayormente por la agitación en el caso de los modelos, y en el caso del prototipo por la aireación. Esto se debe a la diferencia que existe entre el proceso de dispersión y ruptura de las burbujas de aire por parte del sistema de agitación.
3. Este trabajo demuestra que el protocolo de escalado desarrollado es idóneo, y sirve para escalar el proceso de producción de levadura de panificación de la escala de 2 L a las escalas de 14 y 150 L.

### **4.2 RECOMENDACIONES**

1. Experimentar la metodología desarrollada en el presente trabajo con diferentes microorganismos, utilizando los modelos y el prototipo que se diseñaron y construyeron para este trabajo.
2. Estudiar la influencia de diferentes tipos de agitador, que sean principalmente de flujo axial donde no hay suficientes datos de investigaciones anteriores, en el proceso de dispersión y ruptura de las burbujas de aire que afecta directamente el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno.

3. Analizar la influencia de la viscosidad en el coeficiente de transferencia de oxígeno mediante el desarrollo de procesos fermentativos con sistemas cuyo comportamiento sea marcadamente diferente al newtoniano.

4. Escalar el proceso de fermentación para producir levadura de panificación, desde la escala piloto de 150 L hacia una escala industrial, con base en la evaluación de la región efectiva y modelo matemático de escalado obtenidos durante el desarrollo de esta investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brodkey, R., 1988, "Transport Phenomena: A Unified Approach", Editorial Mc. Graw Hill, Nueva York, Estados Unidos, pp. 383, 385.

Calderón, F. y Navascués E., 2002, "Aplicación de la ingeniería del frío a la industria enológica", Tecnología del Vino, 21(2), 23.

Chen, W. y Tan, R., 2002, "Theoretical Analysis of Bubble Formation in a Co-Flowing Liquid", Journal of Chemical Engineering of Japan, 35 (10), 952.

Choudhury, S., Utiger, L. y Riesen, R., 2007, "Heat transport in agitated vessels: scale-up methods", Mettler Toledo Publications, 24(4), 18.

Chuang, S. y Goldschmidt, V., 1990, "Bubble formation due to a submerged capillary tube in quiescent and co-flowing streams", Journal of Basic Engineering, 92 (1), 705.

Cooper, C., Fernstrom, G. y Miller S., 1944, "Performance of agitated gas-liquid contactors", Industrial Engineering Chemistry Journal, 36 (2), 504.

Doran, P., 1995, "Principios de Ingeniería de los Bioprocesos", Editorial Acribia, Zaragoza, España, pp. 146-161, 207-222.

García, F. y Gomez, E., 2009, "Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview", Journal of Biotechnology Advances, 27 (2), 153.

Gill, N., Appleton, M., Baganz, F. y Lye, G., 2008, "Quantification of Power Consumption and Oxygen Transfer Characteristics of a Stirred Miniature Bioreactor for Predictive Fermentation Scale-up", Biotechnology and Bioengineering Journal, 100 (6), 1144.

González, R., 2000, "Principios Básicos de Escalado", Editorial Universitaria, La Habana, Cuba, pp. 11-36, 70-87.

Gutiérrez, H. y De la Vara, R., 2008, "Análisis y Diseño de Experimentos", Segunda edición, Editorial Mc. Graw Hill, México D.F, México, pp. 128, 133.

Harris, I. y Tan, R., 1986, "A model for non-spherical bubble growth at a single orifice", Chemical Engineering Science, 41(12), 3 175.

Hensirisak, P., 1997, "Scale-up the use of a microbubble dispersion to increase oxygen transfer in aerobic fermentation of baker's yeast", Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Master en Biología, Virginia Polythecnic Institute, Virginia, Estados Unidos, p. 98.

Hishman, N. y Alam, Z., 2005, "Scale-up of Stirred and Aerated Bioengineering Bioreactor base on constant Mass Transfer Coefficient", Teknologi Malaysia Journal, 43 (2), 95.

Holman, J., 1998, "Transferencia de Calor", 8va. Edición, Editorial Mc Graw Hill, Madrid, España, p. 206.

Incropera, F. y De Witt, D., 1999, "Fundamentos de Transferencia de Calor y Masa", 4ta. Edición, Editorial John Willey, New York, Estados Unidos, p. 370.

Kossen, N. y Oosterhuis, M., 1985, "Power input measurements in a production scale bioreactor", Biotechnology Journal, 30 (2), 645.

Kudrewizki, R. y Rabe, P., 2001, "Model of the dissipation of mechanical energy in gassed stirred tanks", Chemical Engineering Science, 41 (9), 2247.

Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J., 2004, "Biología de los microorganismos", Décima edición, Editorial Pearson Prentice Hall, Madrid, España, p. 148.

Manovacia, N., Moreno, A., Mayorga, O. y Barahona, R., 2008, "Evaluación del contenido de nutrientes de biomasa en cepas de levadura colombianas y comerciales", Revista Facultad Nacional de Agronomía de Medellín, 61 (2), 85.

McCabe, W., Smith, J. y Harriott, P., 2002, 6ta. Edición, Editorial Mc Graw Hill, México D.F., México, p. 476.

Megyesy, E., 1992, "Manual de recipientes a presión. Diseño y cálculo", 7ma. Edición, Editorial Limusa, México D.F, México, pp. 18 y 22.

Moreno, F., 2008, "100 Empresas más rentables del Ecuador", <http://www.empreendedor.com/portal/content/view/549/116/>, (Enero, 2010)

Nienow, A., Hunt, G. y Buckland, B., 1994, "A fluid dynamic study of the retrofitting of large agitated bioreactors: Turbulent flow", Biotechnology and Bioengineering Journal, 44 (3), 1177.

Quintero, R., 1981, "Ingeniería Bioquímica teoría y aplicaciones", 1ra. Edición, Editorial Alhambra, México D.F, México, pp. 91, 99.

Shukla, V., Parasu, U., Kulkarni, P. y Pandit, A., 2001, "Scale-up of biotransformation process in stirred tank reactor using dual impeller bioreactor", Biochemical Engineering Journal, 8 (1), 19.

Stanbury, P., Whitaker, A. y Hall, S., 1995, "Principles of fermentation technology", 2da. Edición, Editorial Butterwoth-Heinemann, Londres, Reino Unido, pp. 245-259.

Taguchi, H. y Humprey, A., 1966, "Dynamic measurement of volumetric oxygen transfer coefficient in fermentation system", Fermentation Technology, 44 (3), 881.

Van't Riet, K. y Tramper, J., 1991, "Basic Bioreactor Design", Editorial Marcel Dekker, Nueva York, Estados Unidos, pp. 167-177.

Wernersson, E. y Tragardh, C., 1999, "Scale-up of Rushton turbine-agitated tanks", *Chemical Engineering Science*, 54 (19), 4245.

Wong, I., García, M., Rodríguez, I., Ramos, L. y Olivera, V., 2003, "Fermentation scale-up for production of antigen K88 expressed in *Escharichia coli*", *Process Biochemistry*, 38 (9), 1295.

## **ANEXOS**



**ANEXO I****PLANOS DE CONSTRUCCIÓN DE LOS REACTORES MODELO DE  
2 Y 14 L**



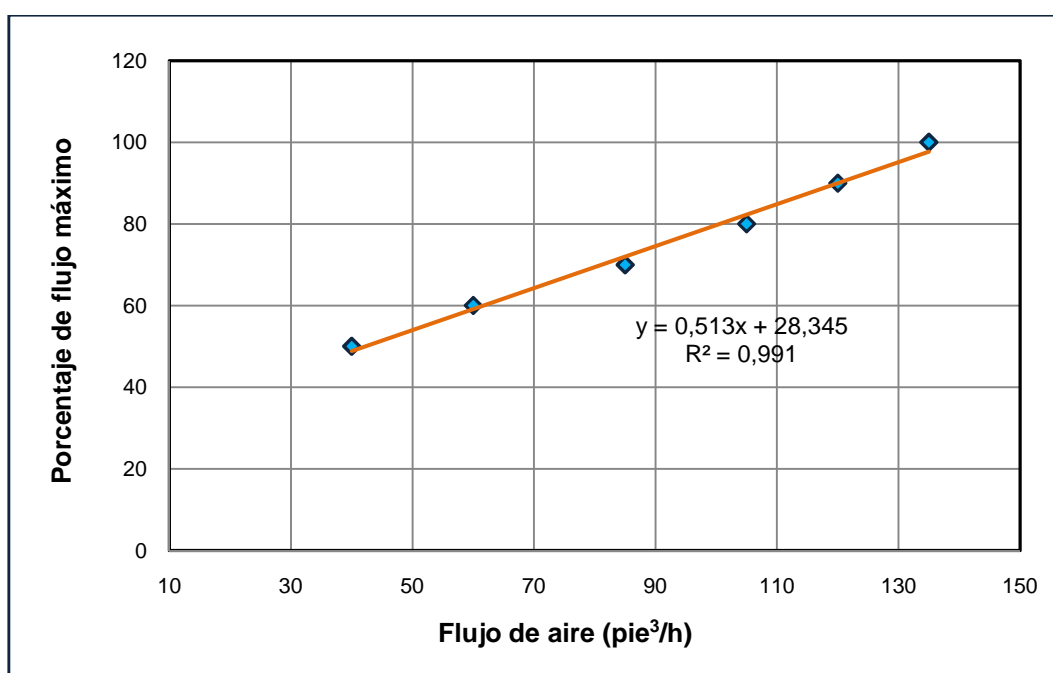


## ANEXO II

## CALIBRACIÓN DEL ROTÁMETRO CORRESPONDIENTE AL PROTOTIPO BIOLAFITTE

**Tabla A.1.** Flujo de aire en función del porcentaje de flujo máximo para el rotámetro perteneciente al prototipo BIOLAFITTE

Porcentaje de flujo máximo	Flujo de aire		Tasa de aireación [VVM]
	[pie <sup>3</sup> /h]	[L/min]	
100	135	63,71	0,64
90	120	56,63	0,57
80	105	49,55	0,50
70	85	40,12	0,40
60	60	28,32	0,28
50	40	18,88	0,19



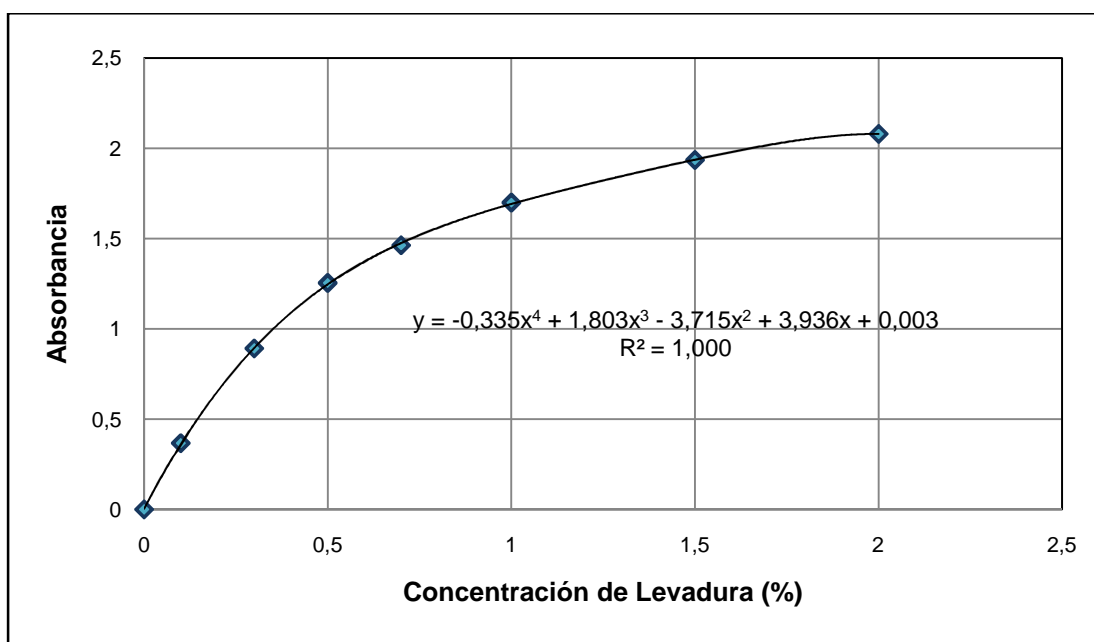
**Figura A.1.** Recta de calibración del rotámetro perteneciente al prototipo BIOLAFITTE

## ANEXO III

## CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE LEVADURA

**Tabla A.2.** Absorbancia para diferentes concentraciones de levadura

Concentración de levadura [%]	Absorbancia
0,0	0,000
0,1	0,367
0,3	0,892
0,5	1,255
0,7	1,464
1,0	1,700
1,5	1,936
2,0	2,081

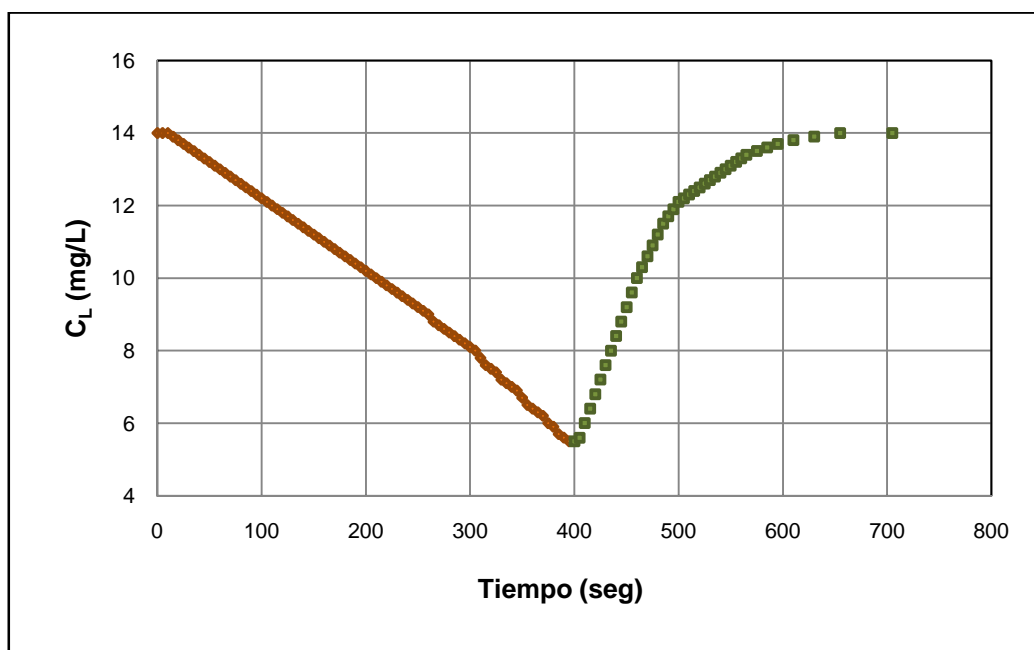


**Figura A.2.** Curva de calibración de absorbancia en función de la concentración de levadura

## ANEXO IV

EJEMPLO DE CÁLCULO PARA LA ESTIMACIÓN DEL  $k_{La}$ 

El ejemplo de cálculo se evalúa para la primera hora del proceso fermentativo realizado en el reactor modelo de 2 L, bajo las condiciones de operación de 820 rpm y 2 500 mL/min.

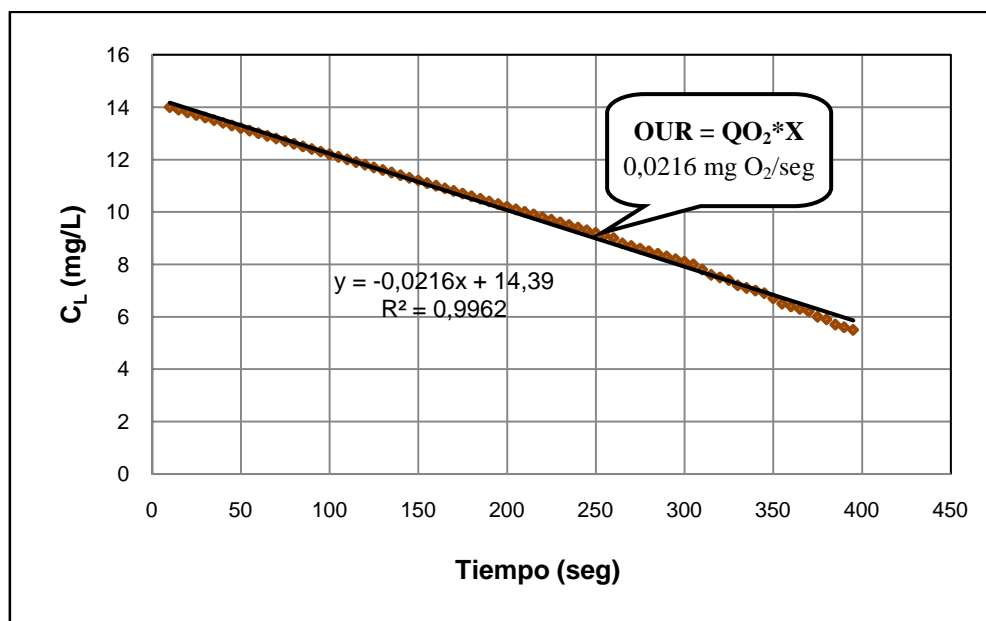


**Figura A.3.** Variación de la concentración de oxígeno disuelto al aplicar el método dinámico en dos etapas para la determinación del  $k_{La}$ .

En este caso la concentración de saturación de oxígeno disuelto es 14 ppm, y durante la primera etapa de suspensión de la aireación esta concentración disminuye hasta 5,5 ppm obteniéndose alrededor de 80 datos con los que se determinará la tasa de respiración microbiana. Posteriormente en la segunda etapa se reinicia la aireación donde se alcanza el estado estacionario en 305 segundos.

**Tabla A.3.** Concentración de oxígeno disuelto en función del tiempo durante la etapa de suspensión de la aireación.

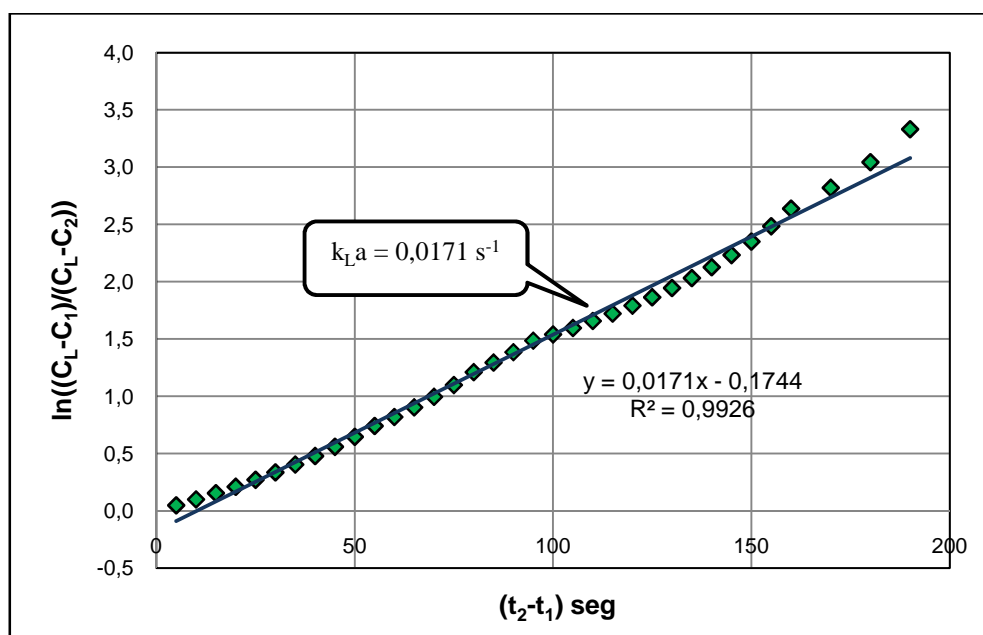
Tiempo [seg]	C <sub>L</sub> [mg/L]	Tiempo [seg]	C <sub>L</sub> [mg/L]	Tiempo [seg]	C <sub>L</sub> [mg/L]	Tiempo [seg]	C <sub>L</sub> [mg/L]
0	14,0	100	12,2	200	10,2	300	8,1
5	14,0	105	12,1	205	10,1	305	8,0
10	14,0	110	12,0	210	10,0	310	7,8
15	13,9	115	11,9	215	9,9	315	7,6
20	13,8	120	11,8	220	9,8	320	7,5
25	13,7	125	11,7	225	9,7	325	7,4
30	13,6	130	11,6	230	9,6	330	7,2
35	13,5	135	11,5	235	9,5	335	7,1
40	13,4	140	11,4	240	9,4	340	7,0
45	13,3	145	11,3	245	9,3	345	6,9
50	13,2	150	11,2	250	9,2	350	6,7
55	13,1	155	11,1	255	9,1	355	6,5
60	13,0	160	11,0	260	9,0	360	6,4
65	12,9	165	10,9	265	8,8	365	6,3
70	12,8	170	10,8	270	8,7	370	6,2
75	12,7	175	10,7	275	8,6	375	6,0
80	12,6	180	10,6	280	8,5	380	5,9
85	12,5	185	10,5	285	8,4	385	5,7
90	12,4	190	10,4	290	8,3	390	5,6
95	12,3	195	10,3	295	8,2	395	5,5



**Figura A.4.** Variación de la concentración de oxígeno disuelto durante la primera etapa de la determinación del  $k_{LA}$

**Tabla A.4.** Concentración de oxígeno disuelto en función del tiempo durante la etapa de reiniciación de la aireación.

Tiempo [seg]	$C_L$ [mg/L]	$\ln \frac{C_L - C_1}{C_L - C_2}$	$t_2 - t_1$	Tiempo [seg]	$C_L$ [mg/L]	$\ln \frac{C_L - C_1}{C_L - C_2}$	$t_2 - t_1$
405	5,6	-	-	495	11,9	1,38629	90
410	6,0	0,04879	5	500	12,1	1,48638	95
415	6,4	0,10008	10	505	12,2	1,54045	100
420	6,8	0,15415	15	510	12,3	1,59760	105
425	7,2	0,21131	20	515	12,4	1,65823	110
430	7,6	0,27193	25	520	12,5	1,72277	115
435	8,0	0,33647	30	525	12,6	1,79176	120
440	8,4	0,40547	35	530	12,7	1,86587	125
445	8,8	0,47957	40	535	12,8	1,94591	130
450	9,2	0,55962	45	540	12,9	2,03292	135
455	9,6	0,64663	50	545	13,0	2,12823	140
460	10,0	0,74194	55	550	13,1	2,23359	145
465	10,3	0,81990	60	555	13,2	2,35138	150
470	10,6	0,90446	65	560	13,3	2,48491	155
475	10,9	0,99683	70	565	13,4	2,63906	160
480	11,2	1,09861	75	575	13,5	2,82138	170
485	11,5	1,21194	80	585	13,6	3,04452	180
490	11,7	1,29532	85	595	13,7	3,33220	190



**Figura A.5.** Determinación del  $k_L a$  en la etapa de reiniciación de la aireación.



## ANEXO V

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO ANOVA DE LOS MODELOS DE ESCALADO EN LOS REACTORES MODELO Y PROTOTIPO

- Análisis de regresión no lineal en el prototipo BIOLAFITTE

Modelo de Escalado:  $k_L a = a * \left(\frac{P}{V} + r\right)^b * (Vs)^c$

**Estimaciones de los parámetros**

Parámetro	Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
a	.015	.005	.003	.028
b	.144	.022	.084	.204
c	.157	.037	.053	.260
r	-7076.699	75.438	-7286.148	-6867.251

**Correlaciones de las estimaciones de los parámetros**

	a	b	c	r
a	1.000	-.708	.709	-.664
b	-.708	1.000	-.006	.908
c	.709	-.006	1.000	-.026
r	-.664	.908	-.026	1.000

**ANOVA<sup>a</sup>**

Origen	Suma de cuadrados	gl	Medias cuadráticas
Regresión	.004	4	.001
Residual	.000	4	.000
Total sin corrección	.004	8	
Total corregido	.000	7	

Variable dependiente:  $k_L a$

a. R cuadrado = 1 - (Suma de cuadrados residual) / (Suma corregida de cuadrados) = ,991.

- Análisis de regresión no lineal en el modelo de 2 litros

Modelo de Escalado:  $k_L a = a * \left(\frac{P}{V}\right)^b * (Vs)^c$

**Estimaciones de los parámetros**

Parámetro	Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
a	7.819E-11	.000	-1.140E-10	2.704E-10
b	1.569	.067	1.398	1.741
c	.228	.058	.080	.376

**Correlaciones de las estimaciones de los parámetros**

	a	b	c
a	1.000	-.942	.306
b	-.942	1.000	.032
c	.306	.032	1.000

**ANOVA<sup>a</sup>**

Origen	Suma de cuadrados	gl	Medias cuadráticas
Regresión	.001	3	.000
Residual	.000	5	.000
Total sin corrección	.001	8	
Total corregido	.000	7	

Variable dependiente:  $k_L a$

a. R cuadrado = 1 - (Suma de cuadrados residual) / (Suma corregida de cuadrados) = ,993.

- Análisis de regresión no lineal en el modelo de 14 litros

Modelo de Escalado:  $k_L a = a * \left(\frac{P}{V}\right)^b * (Vs)^c$

**Estimaciones de los parámetros**

Parámetro	Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
a	.001	.000	.000	.001
b	.358	.009	.334	.383
c	.133	.010	.108	.159

**Correlaciones de las estimaciones de los parámetros**

	a	b	c
a	1.000	-.882	.407
b	-.882	1.000	.071
c	.407	.071	1.000

**ANOVA<sup>a</sup>**

Origen	Suma de cuadrados	gl	Medias cuadráticas
Regresión	.001	3	.000
Residual	.000	5	.000
Total sin corrección	.001	8	
Total corregido	.000	7	

Variable dependiente:  $k_L a$

a. R cuadrado =  $1 - (\text{Suma de cuadrados residual}) / (\text{Suma corregida de cuadrados}) = ,997$ .