

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y
AGROINDUSTRIA**

**ESCALADO DEL TAMAÑO DE PELLET OBTENIDO EN LA
FERMENTACIÓN SUMERGIDA DE SACAROSA CON
ASPERGILLUS NIGER, DESDE UN REACTOR DE 2 L HASTA UNO
DE 14 L, CON EL COEFICIENTE $k_L a$ DE TRANSFERENCIA DE
MASA CONSTANTE**

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
QUÍMICO**

GABRIELA VANESSA PÉREZ GUIRACOCHA
gaby_77v@hotmail.com

DIRECTOR: INGENIERO GASTÓN ABEL VICENTE GUERRA SAN LUCAS
gasteaux@hotmail.com

Quito, noviembre 2013

© Escuela Politécnica Nacional (2013)
Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo, Gabriela Vanessa Pérez Guiracocha, 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.



Gabriela Vanessa Pérez Guiracocha

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por la señorita Gabriela Vanessa Pérez Guiracocha, bajo mi supervisión.



Ing. Gastón Guerra
DIRECTOR DE PROYECTO

AGRADECIMIENTOS

A Dios primeramente que me ha dado la oportunidad de culminar con esta meta y que me da la sabiduría y fortaleza para plantearme muchas más en la vida.

A mi familia que me ha apoyado incansablemente en el desarrollo de este proyecto y sin cuyo sustento hubiera sido imposible terminarlo.

A mi gran amigo Marcelo Cabrera por haberme apoyado incondicionalmente en el desarrollo de este trabajo.

Al Ing. Gastón Guerra, por compartir sus valiosos conocimientos, a fin de que éste proyecto culminara con éxito.

A la Ing. Neyda Espín, por su oportuna ayuda y colaboración.

Al Ing. Mario Aldás, por su apoyo en la revisión de este proyecto.

Y finalmente a todo el personal del Laboratorio de Bioprocesos por su inmensa colaboración.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi Madre que me ha enseñado día a día el valor del esfuerzo y la constancia, virtudes que sin importar donde uno esté o lo que haga, servirán para triunfar en la vida. Por ser mi gran amiga y consejera, por estar siempre a mi lado y por tu constante apoyo, eres uno de los pilares fundamentales en mi vida. Gracias mamita.

A mi Padre, por su inmenso apoyo y comprensión, que con su ejemplo me ha enseñado a no rendirme jamás, y que no hay nada imposible cuando se tiene determinación en la vida. Gracias papito.

A mi querida hermana, compañera y mejor amiga, que con su apoyo, comprensión y esmero ha formado parte importante del desarrollo de este proyecto. Gracias hermanita, sin tu ayuda este proyecto no hubiera culminado. Te amo.

A mi gran amigo Marcelo Cabrera, quien me ha apoyado incansablemente en el desarrollo de este proyecto y me ha enseñado el verdadero valor de la amistad. Tu sustento durante este trayecto ha sido fundamental para su culminación. Gracias querido amigo, eres único.

INDICE DE CONTENIDOS

| | PÁGINA |
|---|-----------|
| ABREVIATURAS | xv |
| RESUMEN | xviii |
| INTRODUCCIÓN | xx |
| | |
| 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 1 |
| 1.1. Formación de pellet en fermentación sumergida | 1 |
| 1.1.1. Fermentación | 1 |
| 1.1.2. Fermentación aeróbica | 6 |
| 1.1.3. Tipos de microorganismos empleados en las fermentaciones | 10 |
| 1.1.4. Características del hongo <i>Aspergillus niger</i> | 12 |
| 1.1.5. Crecimiento de hongos filamentosos | 13 |
| 1.1.6. Fermentación sumergida con formación de pellet | 16 |
| 1.1.7. Modelos matemáticos empleados en la fermentación sumergida con formación de pellet | 22 |
| 1.2. Fundamentos del proceso de escalado | 25 |
| 1.2.1. Definición del proceso de escalado | 25 |
| 1.2.2. Etapas de escalado | 27 |
| 1.2.3. Tipos de escalado | 29 |
| 1.3. Escalado para procesos biotecnológicos | 30 |
| 1.3.1. Criterios de escalado | 30 |
| 1.3.2. Parámetros que influyen en el escalado en los procesos biotecnológicos | 41 |
| 1.3.3. Problemas en el escalado | 42 |
| | |
| 2. PARTE EXPERIMENTAL | 44 |
| 2.1. Determinación del mejor medio de cultivo para el crecimiento del pellet | 44 |
| 2.1.1. El microorganismo | 44 |
| 2.1.2. Esporas empleadas en la determinación del mejor medio de cultivo | 45 |
| 2.1.3. Composición del medio de preparación del pellet | 47 |
| 2.1.4. Diseño del experimento | 47 |
| 2.2. Determinación de las constantes cinéticas para el crecimiento microbiano | 50 |
| 2.2.1. Selección del método de inoculación | 50 |
| 2.2.2. Proceso de generación de biomasa a partir de <i>Aspergillus niger</i> por fermentación sumergida en los reactores de 2 y 14 litros | 52 |
| 2.2.3. Determinación de los parámetros físicos del sustrato | 54 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 2.2.4. | Determinación del rendimiento microbiano en función del azúcar consumida | 55 |
| 2.2.5. | Estimación de la velocidad específica de crecimiento microbiano | 56 |
| 2.3. | Influencia de la agitación en la transferencia de masa y tamaño del flóculo | 57 |
| 2.3.1. | Influencia de la agitación en la transferencia de masa | 57 |
| 2.3.2. | Influencia de la agitación en el tamaño del pellet | 59 |
| 2.4. | Relación entre la velocidad de crecimiento del pellet y la concentración de oxígeno disuelto en la masa del medio de cultivo | 60 |
| 2.5. | Formulación del modelo matemático para representar la relación entre el coeficiente k_{ia} de transferencia de masa de la fermentación, la aireación y la velocidad de agitación en los 2 reactores | 61 |
| 2.5.1. | Estimación de la potencia por unidad de volumen | 61 |
| 2.5.2. | Relación entre el coeficiente volumétrico de transferencia de masa y la velocidad de agitación | 62 |
| 2.5.3. | Relación entre el crecimiento microbiano y la velocidad de agitación | 64 |
| 2.6. | Verificación de la idoneidad de los parámetros de escalado obtenidos del modelo matemático para el crecimiento del pellet en los dos reactores mediante la fermentación sumergida de sacarosa con <i>aspergillus niger</i> | 69 |
| 2.6.1. | Generación del protocolo de escalado | 69 |
| 2.6.2. | Verificación de la idoneidad del protocolo de escalado | 71 |
| 2.6.3. | Determinación de la variación entre los datos experimentales y los obtenidos mediante la simulación digital | 72 |
| 3. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 74 |
| 3.1. | Selección del mejor medio de cultivo para el crecimiento del pellet | 74 |
| 3.2. | Constante cinética del crecimiento microbiano | 82 |
| 3.2.1. | Determinación del procedimiento idóneo para la inoculación en los reactores | 82 |
| 3.2.2. | Determinación de las velocidades de agitación para la fermentación en los reactores de 2 y 14 litros | 86 |
| 3.2.3. | Parámetros físicos del microorganismo en los reactores de 2 y 14 litros | 88 |
| 3.2.4. | Parámetros físicos del sustrato | 95 |
| 3.2.5. | Rendimiento microbiano en función del azúcar consumida | 117 |
| 3.2.6. | Valor experimental de la velocidad específica de crecimiento microbiano para todos los procesos fermentativos | 118 |

| | | |
|-----------|--|------------|
| 3.3. | Influencia de la agitación en la transferencia de masa y tamaño del pellet | 124 |
| 3.3.1. | Influencia de la agitación en la transferencia de masa | 124 |
| 3.3.2. | Influencia de la agitación en el tamaño del pellet | 129 |
| 3.4. | Velocidad de crecimiento del pellet en relación con la concentración de oxígeno disuelto en el medio | 129 |
| 3.5. | Modelo matemático para la representación de la relación entre el coeficiente k_{ga} de transferencia de masa de la fermentación, la aireación y la velocidad de agitación en los 2 reactores | 134 |
| 3.5.1. | Selección de la región de mayor productividad | 137 |
| 3.5.2. | Resultados obtenidos de la simulación digital | 139 |
| 3.6. | Verificación de la idoneidad de los parámetros de escalado obtenidos del modelo matemático para el crecimiento del pellet en los dos reactores mediante la fermentación sumergida de sacarosa con <i>aspergillus niger</i> | 143 |
| 3.6.1. | Evaluación de los parámetros de escalado | 144 |
| 3.6.2. | Análisis de la concentración de biomasa, del diámetro de pellet y del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno obtenidos en el escalado | 145 |
| 4. | CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 147 |
| 4.1. | Conclusiones | 147 |
| 4.2. | Recomendaciones | 149 |
| | BIBLIOGRAFÍA | 150 |
| | ANEXOS | 158 |

INDICE DE TABLAS

| | | PÁGINA |
|--------------------|---|--------|
| Tabla 2.1. | Composición del Medio Czapeck empleado para el cultivo de las esporas de <i>Aspergillus niger</i> | 45 |
| Tabla 2.2. | Composición de los sustratos empleados para la generación del pellet en el proceso de fermentación sumergida con <i>Aspergillus niger</i> | 47 |
| Tabla 3.1. | Resultados del número, diámetro, biomasa, homogeneidad, apariencia y textura de los pellets para la muestra A al emplear el medio 1 para la preparación del pellet | 75 |
| Tabla 3.2. | Resultados del número, diámetro, biomasa, homogeneidad, apariencia y textura de los pellets para la muestra B al emplear el medio 1 para la preparación del pellet | 76 |
| Tabla 3.3. | Resultados del número, diámetro, biomasa, homogeneidad, apariencia y textura de los pellets para la muestra A al emplear el medio 2 para la preparación del pellet | 77 |
| Tabla 3.4. | Resultados del número, diámetro, biomasa, homogeneidad, apariencia y textura de los pellets para la muestra B al emplear el medio 2 para la preparación del pellet | 78 |
| Tabla 3.5. | Resultados del número, diámetro, biomasa, homogeneidad, apariencia y textura de los pellets para la muestra A al emplear el medio 3 para la preparación del pellet | 79 |
| Tabla 3.6. | Resultados del número, diámetro, biomasa, homogeneidad, apariencia y textura de los pellets para la muestra B al emplear el medio 3 para la preparación del pellet | 80 |
| Tabla 3.7. | Combinaciones de pH y número de esporas en cada medio que presentan buenas características cuantitativas y cualitativas del pellet en la muestra y su paralela | 81 |
| Tabla 3.8. | Tiempo de estabilidad, número, diámetro del pellet y biomasa obtenidos al realizar fermentaciones con velocidades de agitación de 60, 100, 120 y 140 rpm en el reactor de 2 litros | 86 |
| Tabla 3.9. | Tiempo de estabilidad, número, diámetro del pellet y biomasa obtenidos al realizar fermentaciones con velocidades de agitación de 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 2 litros | 87 |
| Tabla 3.10. | Número, concentración de biomasa y diámetro del pellet obtenidos en las escalas de 2 y 14 litros a 500, 600, 700 y 800 rpm | 93 |

| | | |
|----------------------|--|-----|
| Tabla 3.11. | Densidad inicial del sustrato para el reactor de 2 litros a 500, 600, 700 y 800 rpm | 95 |
| Tabla 3.12. | Rendimiento microbiano en función del azúcar consumido en la fermentación para los reactores de 2 y 14 litros con velocidades de agitación altas | 118 |
| Tabla 3.13. | Tiempo de generación celular y valor de la constante cinética en el crecimiento exponencial en el reactor de 2 litros a 500, 600, 700 y 800 rpm | 121 |
| Tabla 3.14. | Tiempo de generación celular y valor de la constante cinética en el crecimiento exponencial en el reactor de 14 litros a 500, 600, 700 y 800 rpm | 124 |
| Tabla 3.15. | Potencia, potencia por unidad de volumen, viscosidad aparente máxima y coeficiente volumétrico de transferencia de masa para las fermentaciones realizadas a 500, 600, 700 y 800 rpm en las escalas de 2 y 14 litros, con una tasa de aireación de 0,7 vvm | 134 |
| Tabla 3.16. | Coeficientes de escalado para las dos escalas | 136 |
| Tabla 3.17. | Parámetros del agitador | 137 |
| Tabla 3.18. | Estimador de comparación entre el diámetro y la concentración experimental con el diámetro y la concentración obtenidos de la simulación, respectivamente | 142 |
| Tabla 3.19. | Condiciones para el escalado en el reactor de 14 litros | 143 |
| Tabla 3.20. | Parámetros de escalado obtenidos en el proceso de escalado desde el reactor de 2 litros hasta el reactor de 14 litros | 144 |
| Tabla AIV. 1. | Azúcares totales y reductores al inicio de la fermentación para todas las velocidades de agitación en el reactor de 2 litros y para el término de la fermentación a 500 rpm | 231 |
| Tabla AIV. 2. | Azúcares totales y reductores al término de la fermentación a 600 rpm en el reactor de 2 litros | 232 |
| Tabla AIV. 3. | Azúcares totales y reductores al término de la fermentación a 700 y 800 rpm en el reactor de 2 litros | 234 |
| Tabla AIV. 4. | Azúcares totales y reductores al inicio y término de la fermentación a 500 rpm en el reactor de 14 litros | 235 |
| Tabla AIV. 5. | Azúcares totales y reductores al inicio y término de la fermentación a 600 rpm en el reactor de 14 litros | 236 |

| | |
|--|-----|
| Tabla AIV. 6. Azúcares totales y reductores al inicio y término de la fermentación a 700 rpm en el reactor de 14 litros | 237 |
| Tabla AIV. 7. Azúcares totales y reductores al inicio y término de la fermentación a 800 rpm en el reactor de 14 litros | 238 |
| Tabla AVI.1. Coeficientes de transferencia de masa y viscosidades para todo el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros a velocidades de agitación altas | 241 |
| Tabla AVI.2. Coeficientes de transferencia de masa y viscosidades para todo el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros a velocidades de agitación altas | 242 |

INDICE DE FIGURAS

| | | PÁGINA |
|---------------------|--|--------|
| Figura 1.1. | Curva de crecimiento de los microorganismos | 3 |
| Figura 1.2. | Esquema de las resistencias a la transferencia de oxígeno desde la burbuja hasta el medio de cultivo | 7 |
| Figura 1.3. | (a) Crecimiento en forma de micelio libre, (b) Crecimiento en forma de micelio libre con fragmentación (hifas), (c) Crecimiento en forma de pellet | 16 |
| Figura 1.4. | Etapas de generación del pellet en fermentación sumergida con <i>Aspergillus niger</i> ((a) Etapa de generación de hifas, (b) Etapa de entrelazamiento de hifas, (c) Etapa de generación del pellet) | 20 |
| Figura 1.5. | Dependencia del proceso fermentativo con las variables de operación | 26 |
| Figura 1.6. | Número de potencia versus número de Reynolds para medios de reología Newtoniana | 31 |
| Figura 1.7. | Número de potencia versus Reynolds para fluidos no-Newtonianos | 32 |
| Figura 1.8. | Método dinámico de eliminación del oxígeno. La aireación termina en el punto A y se reinicia en el punto B. | 34 |
| Figura 1.9. | Método de determinación del $k_L a$ en el método dinámico (C_L vs. $dC_L/dt + x \cdot QO_2$) | 34 |
| Figura 1.10. | Limitación del oxígeno durante de la desoxigenación en el método dinámico | 35 |
| Figura 2.1. | Algoritmo de simulación para el proceso de fermentación sumergida con <i>Aspergillus niger</i> | 68 |
| Figura 2.2. | Dimensiones de los reactores de 2 y 14 Litros | 70 |
| Figura 3.1. | Pellet roto y poco compacto a las 24 horas de inoculación a 600 rpm, observado en un microscopio óptico con un aumento 10X | 82 |
| Figura 3.2. | Pellet incrementado ligeramente de tamaño a las 48 horas de inoculación a 600 rpm, observado en un microscopio óptico con un aumento 10X | 83 |
| Figura 3.3. | Pellets amorfos formados por los pellets inoculados al reactor y por las hifas presentes en el medio a los 8 días de inoculación a 600 rpm, observado en un microscopio óptico con un aumento 4X | 84 |

| | | |
|---------------------|--|----|
| Figura 3.4. | Pellet obtenido con el segundo método de inoculación a los 8 días de fermentación a 600 rpm, observado con un aumento 10X en un microscopio óptico | 85 |
| Figura 3.5. | Número de pellets/mL generados en el transcurso del proceso fermentativo a 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 2 litros | 89 |
| Figura 3.6. | Número de pellets/mL generados en el transcurso del proceso fermentativo a 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 14 litros | 89 |
| Figura 3.7. | Número de pellets/mL generados en el transcurso del proceso fermentativo a 500 y 600 rpm en el reactor de 14 litros | 90 |
| Figura 3.8. | Diámetro de pellet obtenido en el transcurso del proceso fermentativo a 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 2 litros | 90 |
| Figura 3.9. | Diámetro de pellet obtenido en el transcurso del proceso fermentativo a 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 14 litros | 91 |
| Figura 3.10. | Concentración de biomasa obtenida en el transcurso del proceso fermentativo a 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 2 litros | 91 |
| Figura 3.11. | Concentración de biomasa obtenida en el transcurso del proceso fermentativo a 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 14 litros | 92 |
| Figura 3.12. | Pellet obtenido a los 8 días de fermentación a 500 rpm, observado con un aumento 4X en un microscopio óptico | 93 |
| Figura 3.13. | Pellet obtenido a los 8 días de fermentación a 600 rpm, observado con un aumento 10X en un microscopio óptico | 93 |
| Figura 3.14. | Pellet obtenido a los 8 días de fermentación a 700 rpm, observado con un aumento 4X en un microscopio óptico | 94 |
| Figura 3.15. | Pellet obtenido a los 8 días de fermentación a 800 rpm, observado con un aumento 10X en un microscopio óptico | 94 |
| Figura 3.16. | Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 500 rpm | 97 |
| Figura 3.17. | Variación de la viscosidad aparente en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 500 rpm | 97 |
| Figura 3.18. | Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 500 rpm | 98 |
| Figura 3.19. | Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 500 rpm | 99 |

| | | |
|---------------------|--|-----|
| Figura 3.20. | Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 600 rpm | 100 |
| Figura 3.21. | Variación de la viscosidad aparente en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 600 rpm | 100 |
| Figura 3.22. | Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 600 rpm | 101 |
| Figura 3.23. | Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 600 rpm | 101 |
| Figura 3.24. | Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 700 rpm | 103 |
| Figura 3.25. | Variación de la viscosidad aparente en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 700 rpm | 103 |
| Figura 3.26. | Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 700 rpm | 104 |
| Figura 3.27. | Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 700 rpm | 104 |
| Figura 3.28. | Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 800 rpm | 105 |
| Figura 3.29. | Variación de la viscosidad en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 800 rpm | 105 |
| Figura 3.30. | Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 800 rpm | 106 |
| Figura 3.31. | Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 800 rpm | 106 |
| Figura 3.32. | Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 500 rpm | 107 |
| Figura 3.33. | Variación de la viscosidad en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 500 rpm | 107 |
| Figura 3.34. | Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 500 rpm | 108 |
| Figura 3.35. | Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 500 rpm | 108 |

| | | |
|---------------------|--|-----|
| Figura 3.36. | Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 600 rpm | 109 |
| Figura 3.37. | Variación de la viscosidad en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 600 rpm | 109 |
| Figura 3.38. | Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 600 rpm | 110 |
| Figura 3.39. | Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 600 rpm | 110 |
| Figura 3.40. | Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 700 rpm | 111 |
| Figura 3.41. | Variación de la viscosidad en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 700 rpm | 111 |
| Figura 3.42. | Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 700 rpm | 112 |
| Figura 3.43. | Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 700 rpm | 112 |
| Figura 3.44. | Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 800 rpm | 113 |
| Figura 3.45. | Variación de la viscosidad en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 800 rpm | 114 |
| Figura 3.46. | Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 800 rpm | 114 |
| Figura 3.47. | Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 800 rpm | 115 |
| Figura 3.48. | Efecto de la concentración de biomasa sobre el esfuerzo cortante en el reactor de 2 litros | 116 |
| Figura 3.49. | Efecto de la concentración de biomasa sobre el esfuerzo cortante en el reactor de 14 litros | 117 |
| Figura 3.50. | Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros con una velocidad de agitación de 500 rpm | 119 |
| Figura 3.51. | Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros con una velocidad de agitación de 600 rpm | 119 |

| | | |
|---------------------|---|-----|
| Figura 3.52. | Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros con una velocidad de agitación de 700 rpm | 120 |
| Figura 3.53. | Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros con una velocidad de agitación de 800 rpm | 120 |
| Figura 3.54. | Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros con una velocidad de agitación de 500 rpm | 122 |
| Figura 3.55. | Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros con una velocidad de agitación de 600 rpm | 122 |
| Figura 3.56. | Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros con una velocidad de agitación de 700 rpm | 123 |
| Figura 3.57. | Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros con una velocidad de agitación de 800 rpm | 123 |
| Figura 3.58. | Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_La durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros a 500 rpm | 125 |
| Figura 3.59. | Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_La durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros a 600 rpm | 125 |
| Figura 3.60. | Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_La durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros a 700 rpm | 126 |
| Figura 3.61. | Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_La durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros a 800 rpm | 126 |
| Figura 3.62. | Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_La durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros a 500 rpm | 127 |
| Figura 3.63. | Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_La durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros a 600 rpm | 127 |
| Figura 3.64. | Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_La durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros a 700 rpm | 128 |
| Figura 3.65. | Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_La durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros a 800 rpm | 128 |

| | | |
|---------------------|---|-----|
| Figura 3.66. | Velocidades de formación del pellet durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros para todas las velocidades de agitación | 130 |
| Figura 3.67. | Valores máximos de la velocidad de formación del pellet a 500, 600 y 700 rpm en los reactores de 2 y 14 litros | 131 |
| Figura 3.68. | Coefficiente de transferencia de masa para todas las velocidades de agitación en el reactor de 2 litros | 131 |
| Figura 3.69. | Velocidades de formación del pellet durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros para todas las velocidades de agitación | 132 |
| Figura 3.70. | Coefficiente de transferencia de masa para todas las velocidades de agitación en el reactor de 14 litros | 133 |
| Figura 3.71. | Tasa de cambio del coeficiente de transferencia de masa k_{LA} durante la fermentación en el reactor de 14 litros a 500, 600, 700 y 800 rpm | 133 |
| Figura 3.72. | Potencia en el reactor de 2 y 14 litros para 500, 600, 700 y 800 rpm | 135 |
| Figura 3.73. | Variación del diámetro del pellet en el reactor de 2 litros para 500, 600 y 700 rpm | 137 |
| Figura 3.74. | Variación del número de pellets en el reactor de 2 litros para 500, 600 y 700 rpm | 138 |
| Figura 3.75. | Variación de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros para 500, 600 y 700 rpm | 138 |
| Figura 3.76. | Velocidad de agitación para el escalado, obtenida de la simulación digital | 139 |
| Figura 3.77. | Velocidad de agitación y concentración de biomasa obtenida de la simulación digital | 140 |
| Figura 3.78. | Velocidad de agitación de la simulación y la empleada en la fermentación | 140 |
| Figura 3.79. | Variación del diámetro del pellet experimental y de la simulación digital | 141 |
| Figura 3.80. | Variación de la concentración de biomasa experimental y de la simulación digital | 142 |
| Figura 3.81. | Incremento del diámetro de pellet a lo largo del proceso fermentativo en el reactor de 2 y 14 litros | 145 |
| Figura 3.82. | Incremento de la concentración de biomasa a lo largo del proceso fermentativo en el reactor de 2 y 14 litros | 146 |

| | | |
|-----------------------|--|-----|
| Figura 3.83. | Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa a lo largo del proceso fermentativo en el reactor de 2 y 14 litros | 146 |
| Figura AI.1. | Curva de productividad del diámetro de pellet en función del coeficiente volumétrico de transferencia de masa | 159 |
| Figura AI.2. | Curva de productividad del número de pellets en función del coeficiente volumétrico de transferencia de masa | 159 |
| Figura AI.3. | Curva de productividad de la biomasa en función del coeficiente volumétrico de transferencia de masa | 160 |
| Figura AIV. 1. | Certificación de resultados | 233 |
| Figura AV.1. | Curva para la obtención del coeficiente volumétrico de transferencia de masa al final del proceso fermentativo a 500 rpm en el reactor de 2 litros | 239 |
| Figura AV.2. | Curva para la obtención del coeficiente volumétrico de transferencia de masa al final del proceso fermentativo a 600 rpm en el reactor de 2 litros | 239 |
| Figura AV.3. | Curva para la obtención del coeficiente volumétrico de transferencia de masa al final del proceso fermentativo a 700 rpm en el reactor de 2 litros | 240 |
| Figura AV.4. | Curva para la obtención del coeficiente volumétrico de transferencia de masa al final del proceso fermentativo a 800 rpm en el reactor de 2 litros | 240 |

INDICE DE ANEXOS

| | PÁGINA |
|--|---------------|
| ANEXO I Curvas de productividad con una desviación a la velocidad de agitación de 800 rpm para el reactor de 2 litros | 159 |
| ANEXO II Resultados de la reología del medio a lo largo del proceso fermentativo a 500, 600, 700 y 800 rpm, en las 2 escalas | 161 |
| ANEXO III Curvas para la obtención del índice de comportamiento del fluido para el reactor de 2 litros a 600 rpm | 226 |
| ANEXO IV Azúcares totales y reductores para cada velocidad de agitación y escala | 231 |
| ANEXO V Curvas para la obtención del coeficiente de transferencia de masa k_{La} | 239 |
| ANEXO VI Coeficientes de transferencia de masa k_{La} y viscosidad aparente | 241 |

ABREVIATURAS

| | |
|-------------------|---|
| Az_r | Azúcares reducibles, kg Azúcares reducibles |
| Az_{red} | Azúcares reductores, kg Azúcares reductores |
| Az_{rf} | Azúcares reducibles finales, kg Azúcares reductores |
| Az_{r_0} | Azúcares reducibles iniciales, kg Azúcares reducibles |
| Az_t | Azúcares totales, kg Azúcares totales |
| a | Área interfacial entre el líquido y el gas por unidad de volumen, m^2/m^3 |
| b,c,e,f | Constantes propias de cada sistema |
| C_g^* | Concentración de oxígeno disuelto en la interfase, $mmoles O_2 / m^3$ |
| C_L | Concentración de oxígeno disuelto, $mmoles O_2 / m^3$ |
| C_{L_0} | Concentración de oxígeno disuelto con que se inicia la segunda etapa del método, $mmoles O_2 / m^3$ |
| C_1 | Concentración de oxígeno disuelto que se da al inicio de la apertura del suministro de aire (t_1), $mmoles O_2 / m^3$ |
| C_2 | Concentración de oxígeno disuelto que se da a un tiempo t_2 , $mmoles O_2 / m^3$ |
| d | Diámetro del agitador, m |
| D_{Exp} : | Diámetro de pellet obtenido mediante la experimentación, mm |
| D_s : | Diámetro de pellet obtenido mediante simulación digital, mm |
| D_{2L} | Diámetro del fermentador de 2 litros, m |
| D_{14L} | Diámetro del fermentador de 14 litros, m |
| $\frac{dC_L}{dt}$ | Velocidad total de transferencia de oxígeno por unidad de volumen, $mmoles O_2 / m^3 \cdot s$ |
| $\frac{dM}{dt}$ | Tasa de incremento de biomasa en el tiempo, kg biomasa/s |
| $\frac{dS}{dt}$ | Variación del consumo del sustrato en un corto intervalo de tiempo, kg sustrato/s |
| $\frac{du}{dt}$ | Variación del coeficiente de crecimiento microbiano en un corto intervalo de tiempo, s^{-1}/s |
| g | Gravedad, m/s^2 |
| I | Corriente generada en el motor, A |
| K | Índice de consistencia ($Pa \cdot s^n$) |

| | |
|-------------------|---|
| k_d | Constante de limitación de difusión del oxígeno hacia el pellet, $\text{kg}^{1/3}/\text{s}$ |
| k_L | Coefficiente de transferencia de oxígeno, m/s |
| $k_L a$ | Coefficiente volumétrico de transferencia de masa, s^{-1} |
| k_s | Constante biológica del microorganismo, $\text{kg sustrato}/\text{m}^3$ |
| M | Biomasa, kg de biomasa seca |
| M_f | Biomasa final, kg biomasa seca |
| M_L | Masa del medio de cultivo, kg de medio |
| M_o | Biomasa inicial, kg biomasa seca |
| M_m | Masa de la mezcla biomasa –medio de cultivo, Kg |
| M_1 | Biomasa generada a t_1 , kg biomasa seca |
| M_2 | Biomasa generada a t_2 , kg biomasa seca |
| N | Velocidad de agitación, rpm |
| n | Índice de comportamiento del fluido |
| N_a | Velocidad total de transferencia de oxígeno por unidad de volumen, $\text{mmoles O}_2 / \text{m}^3 \cdot \text{s}$ |
| n_g | Número de generaciones |
| n_p | Número de pellets |
| P | Potencia sin aireación, kW |
| P_g | Potencia entregada al sistema por el motor mientras se suministra aireación al medio, kW |
| $\frac{P}{V}$ | Potencia de agitación por unidad de volumen, kW/m^3 |
| $\frac{P_g}{V_m}$ | Potencia por unidad de volumen en un sistema aireado, kW/m^3 |
| Q | Flujo volumétrico del aire, m^3/s |
| Q_{O_2} | Tasa específica de respiración microbiana, $\text{mmoles O}_2 \text{ consumido} \cdot \text{m}^3 \text{ de medio}/\text{s} \cdot \text{kg}$ de biomasa seca |
| Q_{2L} | Flujo de aireación en el fermentador de 2 litros, m^3/s |
| Q_{14L} | Flujo de aireación en el fermentador de 14 litros, m^3/s |
| r | Radio del pellet, m |
| S | Concentración de sustrato, $\text{kg sustrato}/\text{m}^3$ |
| t_d | Tiempo de duplicación celular, s |
| t_g | Tiempo de generación celular, s |

| | |
|------------------|--|
| u | Velocidad específica de crecimiento microbiano, s^{-1} |
| u_{\max} | Constante cinética de crecimiento microbiano, s^{-1} |
| V | Volumen operativo del fermentador, m^3 |
| V_m | Volumen de la mezcla biomasa – medio de cultivo, m^3 |
| V_n | Volumen de la esfera multiplicado por el número de esferas, m^3 |
| V_o | Voltaje generado en el motor, V |
| V_p | Volumen del pellet, m^3 |
| V_s | Velocidad superficial, m/s |
| X | Concentración final de biomasa, kg de biomasa seca/ m^3 de medio |
| X_{Exp} | Concentración de biomasa obtenida mediante la experimentación, kg de biomasa seca/ m^3 de medio |
| X_o | Concentración inicial de biomasa, kg de biomasa seca/ m^3 de medio |
| X_s | Concentración de biomasa obtenida mediante simulación digital, kg de biomasa seca/ m^3 de medio |
| $Y_{(m/o)/S}$ | Rendimiento del microorganismo en función a los azúcares consumidos, kg biomasa seca/kg sustrato consumido |
| w | Capa periférica que rodea al pellet, m |
| w/w | Concentración en peso de la biomasa en el medio de cultivo, kg biomasa/kg de mezcla |
| W | Ancho de la paleta del agitador, m |

Letras griegas

| | |
|----------------|--|
| ρ | Densidad del sustrato, kg de sustrato/ m^3 de mezcla |
| ρ_m | Densidad de la mezcla biomasa – medio de cultivo, kg mezcla/ m^3 |
| ρ_s | Densidad de la biomasa, kg de biomasa seca/ m^3 de mezcla |
| σ^2 | Estimador chi cuadrado |
| μ_a | Viscosidad aparente del medio, Pa*s |
| τ | Esfuerzo cortante, Pa |
| $\dot{\gamma}$ | Velocidad de corte, s^{-1} |

RESUMEN

Hoy en día la fermentación sumergida con *Aspergillus niger*, que se basa en la formación de pellets, constituye uno de los métodos más importantes para obtener ácido cítrico.

En el presente trabajo se comprobó que la morfología de los pellets, que puede controlarse optimizando la composición del medio, el pH, el tamaño del inóculo, y la velocidad de agitación, es determinante en la productividad de la fermentación. Por esto se abordó el estudio de la influencia de estas variables, en dos partes.

La primera parte de la investigación, realizada en Erlenmeyers de 500 ml, comprobó que el medio para obtener el mayor número de pellets de menor diámetro correspondió a la siguiente composición: Sacarosa, 150g/L; NH_4NO_3 , 2,40 g/L; KH_2PO_4 , 0,919 g/L; pH de 6,5; inóculo de $(4,20 \pm 0,55) \cdot 10^6$ esporas.

La segunda parte de la investigación consistió en un análisis de la influencia de la velocidad de agitación sobre la estabilidad, compactación, número y diámetro de pellets, que se llevó a cabo en un biorreactor modelo MAP-002 Brunswick de 2 litros, donde se determinó que la velocidad óptima para llevar a cabo el escalado a partir del reactor de 2 litros fue de 600 rpm.

Con las variables de operación así establecidas, se obtuvo un protocolo para el escalado del diámetro del pellet desde la escala de 2 hasta 14 litros, en base de los resultados experimentales obtenidos en el reactor de 2 litros, a una tasa de aireación de 0,7 vvm.

Para estimar la velocidad de agitación en la escala superior se formuló un modelo matemático, y se realizó la simulación digital respectiva, manteniendo constante el valor del coeficiente volumétrico de transferencia de masa de la escala menor, que correspondió a $1,95 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$. Los resultados de la simulación digital indicaron que la velocidad de agitación en la escala mayor debía ser una función continua del tiempo, lo que habría necesitado de un esquema de control de velocidad a

set-point variable, del que no se disponía, por lo que se debió recurrir a un esquema manual de control por valores constantes escalonados.

Las variables de operación así estimadas permitieron escalar el tamaño del pellet obtenido en la escala de 2 litros al agitar en la escala de 14 litros en un rango de entre 420 hasta 380 rpm con lo que se obtuvo un proceso exitoso de escalado.

INTRODUCCIÓN

La fermentación cítrica mediante *Aspergillus niger* en medio sumergido es una de las fermentaciones más importantes porque es el método que se usa para satisfacer el 80 % de la demanda mundial de ácido cítrico, que se emplea en la industria alimenticia, farmacéutica, de plásticos, y cosméticos, entre otras. (Femi-Ola, Oluyege, y Gbadebo, 2009, p. 1; López, Zuluaga, Herrera, y Medina, 2006, p. 40; Prescott, Harley y Klein, 2004, pp. 1091-1092)

Por este motivo, esta fermentación se ha convertido en objeto de muchas investigaciones, y porque, si bien es cierto que se han desarrollado metodologías que permiten obtener mayores rendimientos de ácido cítrico con *Aspergillus niger* en medio sumergido, existen muy poca información sobre la influencia de la velocidad de agitación y la transferencia de oxígeno en el crecimiento del pellet, que es donde se produce dicho ácido (Kirimura, Yusa, y Rugsaseel, 1999, p. 422)

La escases de publicaciones respecto de la fermentación sumergida se debe a que el proceso de formación del pellet resulta en un aumento de la viscosidad del medio, y en una transformación de su comportamiento reológico de newtoniano a no newtoniano; y a que este cambio afecta el valor del coeficiente volumétrico de transferencia de masa, que al ser el criterio de escalado debe mantenerse constante durante el proceso. (Tought y Prosser, 1996, p. 639)

Para controlar el proceso fermentativo es necesario conocer los mecanismos de formación y del mantenimiento de la morfología del pellet, que pueden controlarse por medio del ajuste de diversos factores como son la agitación, el pH, la composición del medio de cultivo y el inóculo (Chávez, *et al.*, 2005, p. 685; Ikram-ul-Haq, Qadeer, y Iqbal, 2003, p. 817)

A pesar de que el ácido cítrico se usa extensamente en el país, éste no lo produce, viéndose obligado a importarlo de aproximadamente 17 países, entre los que se pueden contar Alemania, Brasil, Colombia, China, Estados Unidos y Uruguay.

Desde el año 2008 hasta el 2011, Ecuador ha importado 11 641,87 Ton de ácido con un costo total de 13 422 608 dólares, observándose un incremento del 13,46% en la masa importada, entre los años 2009 y 2010 se produjo correspondiente a un aumento del 37,32% en valor. (BANCO CENTRAL DEL ECUADOR, 2012)

Por esta razón se considera pertinente realizar un estudio que permita obtener las mejores condiciones para escalar el tamaño del pellet entre dos bioreactores de 2 y 14 L, esperándose que el estudio sirva para el diseño de reactores de mayores escalas, ya que el escalado que aquí se presenta constituye una de las mayores limitantes para la producción de ácido cítrico en medio sumergido.

Es importante recalcar que la obtención del ácido cítrico en Ecuador constituiría una vía para la creación de otras industrias, y para el cambio de la Matriz Productiva del país. También debe remarcarse que estos emprendimientos necesariamente requieren del desarrollo de procedimientos que permitan llevar de forma rápida y directa el proceso obtenido en el laboratorio a la escala industrial.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. FORMACIÓN DE PELLET EN FERMENTACIÓN SUMERGIDA

1.1.1. FERMENTACIÓN

La fermentación es un proceso de transformación de una sustancia que generalmente es un carbohidrato en otra, que puede ser biomasa y/o metabolito, a través del metabolismo de un microorganismo. (Carrillo y Alfredo, 2009, p. 7; Dionisio, 2008, p. 677)

Entre los principales factores que afectan el crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo, se encuentran la fuente de carbono y de nitrógeno empleada, el pH del medio de cultivo, la temperatura, la posible presencia de microorganismos competidores, la velocidad de agitación, y el flujo de aireación, que determina la cantidad de oxígeno que se suministra al medio de cultivo. (Fellows, 2000, p. 202; Quintero, 1981, p. 16)

La generación de biomasa, y metabolitos, está directamente relacionada con la capacidad metabólica del microorganismo empleado. Esta capacidad se refiere a la facilidad relativa que el microorganismo tiene para transformar los nutrientes del medio en productos. Por esto algunos procesos microbiológicos industriales emplean microorganismo con pequeñas manipulaciones, que maximizan su capacidad metabólica y por ende incrementan el rendimiento. (Brown, Campbell, y Priest, 1989, p. 12; Prescott, Harley y Klein, 2004, p.119)

1.1.1.1.Crecimiento microbiano

El concepto de crecimiento microbiano se refiere al aumento del número de células microbianas, o de biomasa, en el medio de cultivo. Cuando se analiza este

crecimiento referido a la unidad de tiempo se habla de la velocidad de crecimiento microbiano. (Kavanagh, 2011, p. 30)

Por otro lado, el número de generaciones (n), representa el número de veces que el microorganismo se duplica durante el crecimiento, y permite conocer la masa resultante que se puede obtener a partir de la masa inicial, como se puede apreciar en la ecuación 1.1. (Kavanagh, 2011, p. 30).

$$X = X_0 \cdot 2^{n_g} \quad [1.1]$$

Donde:

- X: Concentración final de biomasa, kg de biomasa seca/m³ de medio
 X₀: Concentración inicial de biomasa, kg de biomasa seca/m³ de medio
 n_g: número de generaciones

Otro parámetro que caracteriza el crecimiento celular es el tiempo de generación celular (t_g), que es el tiempo necesario para que una masa dada de microorganismo se duplique. Este parámetro también se conoce como tiempo de duplicación celular (t_d) y se define por medio de la ecuación 1.2. (Madigan, Martinko, y Parker, 2003, p.142)

$$t_d = \frac{\ln 2}{u_{\max}} \quad [1.2]$$

Este tiempo de duplicación puede variar, según el microorganismo que se utilice, desde minutos hasta días. También depende del medio de cultivo, y de las condiciones de la fermentación. (Trevan, Boffey, Goulding, y Stanbury, 1990, p. 70)

En la Figura 1.1, se puede observar la curva de crecimiento microbiano, que según Madigan, *et al.*, (2003) se divide en seis fases, y representa el fenómeno de una población, y no de células individuales. (pp. 174-175)

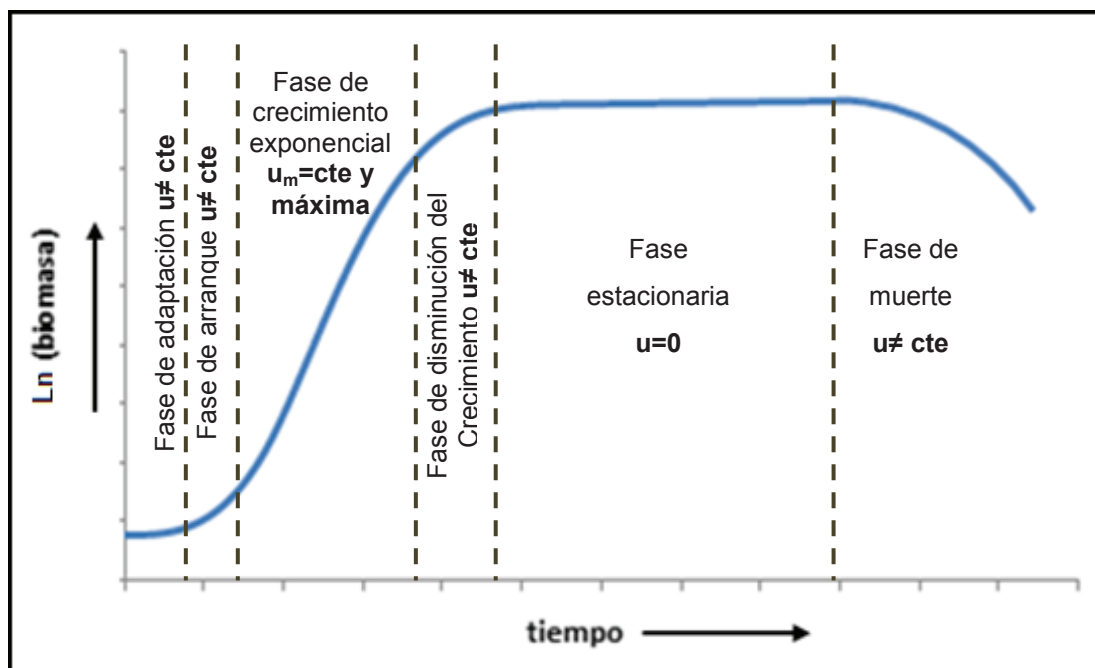


Figura 1.1. Curva de crecimiento de los microorganismos
(Madigan, *et al.*, 2003, p. 174-175)

➤ **Fase de adaptación o latencia**

Esta fase corresponde al período que el microorganismo emplea para adaptarse al medio en el cual se desarrolla, y puede ser corta o larga, según el tipo de microorganismo, y del manejo de las condiciones del medio de cultivo. En esta etapa, el microorganismo genera las enzimas necesarias para acondicionar los nutrientes del medio a fin de utilizarlos en su desarrollo, y no se observa un crecimiento apreciable. (Prescott, Harley y Klein, 2004, p.119)

➤ **Fase de crecimiento**

Esta etapa se divide en tres fases:

- Fase de arranque
- Fase de crecimiento exponencial
- Fase de disminución de la velocidad de crecimiento

➤ **Fase de arranque**

En esta fase se inicia el crecimiento microbiano y su velocidad específica (u) se define por la ecuación 1.3. (Baltz, Davies, y Demain, 2010, p. 140)

$$v = \frac{dM}{dt} = u * M \quad [1.3]$$

➤ **Fase de crecimiento exponencial**

Esta etapa se representa por la ecuación 1.4 y como se puede observar en la Figura 1.1 corresponde a la máxima velocidad de crecimiento microbiano, y por ende, dicha velocidad es constante. (Prescott, *et al.*, 2004, p.119; Trevan, *et al.*, 1990, p. 70)

$$v = \frac{dM}{dt} = u_{\max} * M \quad [1.4]$$

Donde:

u_{\max} : Velocidad máxima de crecimiento microbiano, (t^{-1})

Al integrar la ecuación 1.4, se obtiene la ecuación 1.5, que permite estimar el tiempo de duración del crecimiento exponencial, por medio de un gráfico semilogarítmico.

$$\ln(M) = u_{\max} * t + \ln(M_0) \quad [1.5]$$

Si se conoce que en el tiempo de duplicación celular la masa final es el doble de la inicial; es decir, que $M = 2M_0$ y esto se reemplaza en la ecuación 1.5, se obtiene la expresión que permite determinar el tiempo de duplicación celular, mencionado anteriormente y que se muestra en la ecuación 1.2. (Trevan, *et al.*, 1990, p. 70)

➤ **Fase de disminución de la velocidad de crecimiento**

Esta fase corresponde, como su nombre lo indica, a la mengua del crecimiento microbiano, que se produce por limitación de los nutrientes, y/o por generación de metabolitos tóxicos, y en ella la velocidad de crecimiento vuelve a ser variable y es decreciente. (Madigan, *et al.*, 2003, p. 175)

➤ **Fase estacionaria**

En esta etapa, la velocidad de crecimiento es muy cercana a cero. En ella no se observa ni aumento, ni disminución de la biomasa. Esto puede deberse a la existencia de un crecimiento microbiano lento de unas células, coexistente con la muerte de otras, lo que da a lugar un equilibrio en la concentración alcanzada, y se conoce como *crecimiento críptico*. (Prescott, *et al.*, 2004, p.119)

➤ **Fase de muerte**

En esta fase se observa un franco decrecimiento de la población microbiana, como se puede observar en la Figura 1.1. Por obvias razones nunca se debe dejar que un proceso fermentativo llegue a esta etapa. (Trevan, *et al.*, 1990, p. 70)

➤ **Generación de metabolitos**

Durante la fase de crecimiento del microorganismo, y de la estacionara, se generan una serie de productos conocidos como metabolitos, que pueden ser ácidos orgánicos, proteínas, enzimas, entre otros. (Madigan, *et al.*, 2003, p. 960). Los metabolitos generalmente se dividen en primarios y secundarios. Los metabolitos primarios son aquellos que se generan durante la fase de crecimiento exponencial como es el caso del etanol, por ejemplo. (Prescott, Harley y Klein, 2004, p.1087)

Los metabolitos secundarios son los que se generan durante la fase estacionaria, como algunos antibióticos, y dependen fundamentalmente de la composición del sustrato que se emplee. (Trevan, *et al.*, 1990, p. 71)

1.1.1.2. Rendimiento de la fermentación

Existen varias maneras de expresar el rendimiento de una fermentación. El rendimiento más comúnmente empleado se expresa en gbiomasa/gsustrato empleado y se representa por medio de la expresión $Y_{(m/o)s}$. Este rendimiento se determina experimentalmente, y según Quintero (1981), depende tanto del microorganismo, como de las condiciones de la fermentación. (p. 223)

1.1.2. FERMENTACIÓN AERÓBICA

Este tipo de fermentación requiere que se suministre el oxígeno necesario y que se proporcione de la agitación adecuada al medio de cultivo, para que se lleve a cabo el crecimiento microbiano. (Quintero, 1981, p. 37).

Cuando esta fermentación se realiza en medio sumergido con mohos filamentosos, se puede dar el crecimiento del microorganismo en forma de pellet. Según Stanbury (1995), en éstos procesos la recepción del oxígeno por parte del pellet, se puede explicar mediante las siguientes etapas: (p.247)

1. Tránsito del oxígeno desde la burbuja de aire hasta el medio de cultivo.
2. Tránsito del oxígeno disuelto en el medio hacia el pellet a través de la capa periférica que lo rodea.
3. Difusión del oxígeno en el microorganismo.

Tanto la transferencia de la segunda etapa como la difusión de la tercera etapa son significativas únicamente cuando el tamaño del pellet es grande, por involucrar largas y tortuosas trayectorias de difusión. (Levenspiel, 2004, p. 370)

En algunos estudios se ha demostrado que la etapa limitante para la transferencia de oxígeno es la que se da desde la burbuja de aire hacia el medio. Esta transferencia de se puede observar en la Figura 1.2. (Almudena y Ochoa, 1999, p. 3; Paul, Atiemo-Obeng. y Kresta, 2004, p. 626)

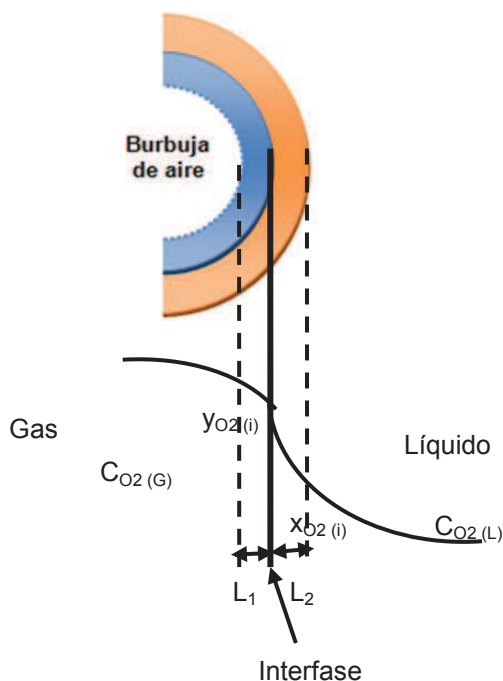


Figura 1.2. Esquema de las resistencias a la transferencia de oxígeno desde la burbuja de aire hasta el medio de cultivo (Doran, 1998, p. 206)

Por lo dicho, generalmente en fermentaciones sumergidas con formación de pellet se considera que la transferencia limitante concierne a la transferencia de masa correspondiente a la primera etapa, que se describe mediante la ecuación 1.6. (Aguado, 1999, p. 189; Paul, *et al.*, 2004, p. 626; Stanbury, 1995, p. 247)

$$N_a = \frac{dC_L}{dt} = k_L a^* (C_g^* - C_L) \quad [1.6]$$

Donde:

$\frac{dC_L}{dt}$: Velocidad total de transferencia de oxígeno por unidad de volumen, mmoles $O_2 / m^3 \cdot h$

- k_L : Coeficiente de transferencia de oxígeno, m/h
 a : Área interfacial entre el líquido y el gas por unidad de volumen m^2/m^3
 C_g^* : Concentración de oxígeno disuelto en la interfase, $mmoles O_2 / m^3$
 C_L : Concentración de oxígeno disuelto, $mmoles O_2 / m^3$

La concentración de oxígeno en la interfase se desconoce, porque es imposible de medir. Por esto, se asume que la concentración es igual a la concentración de saturación de oxígeno en el medio. (Stanbury, 1995, p. 247)

Debido a la dificultad de medir por separado el coeficiente k_L y el área interfacial, estos factores se combina en uno solo, que se denomina coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$. (Stanbury, 1995, p. 247)

El inverso de este coeficiente representa la resistencia a la transferencia de oxígeno en la fase controlante, que en este caso es la fase líquida, debido a esto el coeficiente $k_L a$ se toma como el coeficiente global de transferencia y se usa como tal en la ecuación 1.6. (Paul, *et al.*, 2004, p. 626)

Por estas razones, se considera que la magnitud de éste coeficiente es un indicador de la aireación que debe suministrarse al fermentador. (Stanbury, 1995, p. 247; Treybal, 1988, pp. 119-123)

El coeficiente $k_L a$ es fuertemente dependiente de las variables de diseño y de las condiciones de operación. Por tanto, es afectado por la tasa de aireación, la velocidad de agitación y el diseño de los agitadores, ya que de estos dependen las resistencias a la transferencia, el tamaño, y tiempo de residencia de las burbujas de aire en el medio. (Stanbury, 1995, p. 247)

El método de cálculo del coeficiente volumétrico de transferencia de masa se describe en la sección 1.3.1.2.

En los procesos microbianos aerobios hay que considerar la velocidad de demanda de oxígeno (Q_{O_2}), que depende del microorganismo. Como es obvio, la

velocidad total de transferencia de oxígeno por unidad de volumen debe ser igual o mayor que la velocidad de demanda de oxígeno para evitar una aireación deficitaria. (Quintero, 1981, p. 83; Stanbury, 1995, p. 244)

La demanda total de oxígeno de una población microbiana, puede representarse por tanto, por la ecuación 1.7. (Paul, *et al.*, 2004, p. 1087)

$$\text{Demanda de oxígeno} = Q_{O_2} * X \quad [1.7]$$

Donde:

X: Concentración final de biomasa, kg de biomasa seca/m³ de medio

En las fermentaciones aerobias los reactores deben estar diseñados de tal forma que garanticen una correcta mezcla, lo que implica una distribución adecuada de los nutrientes en el medio de cultivo y que la concentración de oxígeno disuelto sea en lo posible la misma en todos los puntos del reactor. Esto garantiza la efectividad del protocolo de escalado y la productividad tanto en el reactor modelo como en el prototipo. (Quintero, 1981, p. 83)

1.1.2.1. Fermentación sumergida

Los procesos de fermentación sumergida son aquellos que se dan en medio líquido, en un reactor tanque agitado y lo general son aerobios. Por esto, para realizarlos el reactor debe permitir una adecuada aireación y agitación. (Ola Gomaa y Heba El Bialy, 2009, p. 75)

Muchos productos de interés industrial se obtienen mediante este tipo de fermentación, con hongos filamentosos, que crecen en forma de micelio libre, micelio fragmentado o de pellets. Esta última forma de crecimiento es preferida, debido a su mayor facilidad de manejo. (Linden, *et al.*, 2002, pp. 4-5; Ola Gomaa, *et al.*, 2009, p. 75)

Entre los principales metabolitos que se obtienen mediante este tipo de fermentación, se pueden mencionar medicinas como la penicilina, y ácidos orgánicos, como el cítrico que se obtiene con *Aspergillus niger*. (Ola Gomaa, *et al.*, 2009, p. 75)

1.1.3. TIPOS DE MICROORGANISMOS EMPLEADOS EN LAS FERMENTACIONES

Los microorganismos empleados en la industria deben ser genéticamente estables a través de las diferentes escalas en las cuales se lleve a cabo el proceso. (Quintero, 1981, p. 27)

Para lograr esta estabilidad, las cepas microbianas industriales son frecuentemente sometidas a manipulaciones genéticas, que implican mutación o recombinación, lo que incrementa el rendimiento de los procesos. (Madigan, *et al.*, 2003, pp. 958-959)

Según Quintero (1981), para conseguir un buen crecimiento microbiano, se debe contar con células que se reproduzcan fácilmente, por lo que, es recomendable que las cepas almacenadas en los laboratorios sean transferidas a nuevos medios de cultivo cada 3 o 4 meses. (p. 27).

Es importante recalcar que cuando no se tiene un adecuado manejo de las cepas microbianas, estas se alteran genéticamente y no producen los metabolitos de interés. (Madigan, *et al.*, 2003, pp. 958-959)

1.1.3.1. Levaduras

Las levaduras son hongos unicelulares que se emplean particularmente en la producción de bebidas alcohólicas y pan, no obstante, también son empleadas

para la producción de proteínas y vitaminas tanto humanas como animales. (Leveau y Bouix, 2000, p. 3)

En la producción industrial no es recomendable emplear levaduras en estado natural sino que preferiblemente se las debe aislar y potencializar para maximizar el rendimiento y por ende minimizar los costos. (Leveau y Bouix, 2000, pp. 10-19; Quintero, 1981, p. 35)

1.1.3.2.Mohos

Los mohos son conocidos también como hongos filamentosos o sólo hongos y tienen gran importancia económica, porque se emplean ampliamente en los procesos fermentativos, y porque sintetizan enzimas, ácidos orgánicos, antibióticos, entre otras sustancias de gran importancia industrial. (Leveau y Bouix, 2000, pp. 109-110)

La mayoría de los mohos se desarrollan muy bien en un pH entre 3 y 8. Uno de los microorganismos más empleados para la producción de ácidos orgánicos es el *Aspergillus niger*, que se cultiva en medios que contengan glucosa, sacarosa o melaza (Leveau, *et al.*, 2000, pp. 109-110)

Para la fermentación con este microorganismo, debe emplearse únicamente una concentración de azúcar de entre 10 % y 22%, porque concentraciones superiores pueden ser tóxicas para el microorganismo. (Byung-Hwan y Hanley, 2008, p. 1095; Kavanagh, 2011, p. 163)

1.1.3.3.Bacterias

Las bacterias se desarrollan según su género con fuentes de carbono como la glucosa, lactosa y sacarosa y pueden resistir según su tipo a amplios rangos de temperatura. Las bacterias que más se emplean en la industria de la fermentación

son las bacterias lácticas, que según el medio de cultivo y sus características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas, pueden producir ácido láctico, acético, etanol, entre otros. (Casaus, 2005, p. 17-22)

1.1.4. CARACTERÍSTICAS DEL HONGO *ASPERGILLUS NIGER*

1.1.4.1. Características generales

El *Aspergillus niger* es conocido como hongo filamentoso ya que antes de la generación de esporas crece en forma de filamentos que se unen entre sí. (Khachatourians. y Arora, 2001, p. 14)

La morfología de este hongo juega un papel importante en la productividad del proceso fermentativo. Por esta razón, las condiciones de la operación de la fermentación deben controlarse cuidadosamente. (Baltz, Davies, y Demain, 2010, p. 154)

1.1.4.2. Riesgos en el manejo del *Aspergillus niger*

Las esporas del hongo *Aspergillus niger* pueden suspenderse fácilmente en el aire, por su tamaño (2-3 μm), por lo que se debe tener especial cuidado en su manipulación para evitar inhalarlas. (Yahumila, 2006, p. 4). Por lo general estas esporas son retenidas a nivel alveolar. Sin embargo, en los casos de personas inmuno-deprimidas, las esporas ingresan al pulmón sin ningún impedimento, donde forman hifas que atraviesan la membrana alveolo-capilar, viajan a través del torrente sanguíneo, y pueden migrar a cualquier órgano, como el cerebro, que es el órgano de elección. (Kavanagh, 2011, p. 271)

Según Kavanagh (2011), en los casos de inhalación de las esporas de *Aspergillus niger* por personas inmuno deprimidas, el porcentaje de mortalidad por aspergilosis es muy alto y va desde un 50% hasta un 100%. (p. 272)

La inhalación de las esporas puede provocar una alergia que presenta síntomas similares a los del asma, que se debe a las toxinas producidas por el *Aspergillus* sobre las paredes de las ramificaciones alveolares. (Yahumila, 2006, p. 4)

Por lo mencionado, es muy importante que para los trabajos que se realicen con este microorganismo se utilice una protección respiratoria adecuada, y se limpie exhaustivamente el área de trabajo antes y después de la manipulación de este microorganismo. (Kavanagh, 2011, pág. 272)

1.1.5. CRECIMIENTO DE HONGOS FILAMENTOSOS

Cuando se usan hongos filamentosos en fermentación sumergida, estos pueden crecer de las tres formas que se señalan a continuación:

1. Crecimiento en forma de micelio libre o por extensión lineal de las hifas solamente. (Tought, *et al*, 1996, p. 639)
2. Crecimiento en forma de micelio libre con fragmentación o por extensión ramificada de las hifas de longitud variable, con entrelazamiento. (Tought, *et al*, 1996, p. 639)
3. Crecimiento en forma de pellets o por entretejimiento de las hifas, con formación de pellets. (Baron, *et al.*, 1988, p. 171; Tought, *et al*, 1996, p. 639)

1.1.5.1.Crecimiento en forma de micelio libre

Este crecimiento es rápido y ocurre durante la generación de esporas, en donde el número de derivaciones de las hifas se incrementa exponencialmente, sin fragmentación y con entrelace. (Tought, *et al.*, 1996, p. 639)

Según Lim, *et al.*, (2002), si se considera constante el diámetro de las hifas, el crecimiento puede estimarse mediante el modelamiento de la velocidad de

crecimiento y del número de ramificaciones de *una* hifa, al multiplicar su largo por el número de ramificaciones. (p. 12)

Este método debe considerarse sólo como una aproximación, porque en la realidad ni las hifas son iguales, ni su número de ramificaciones. (Baron, *et al.*, 1988, p. 170)

1.1.5.2.Crecimiento en forma de micelio libre con fragmentación

Este crecimiento es similar al anterior, con la diferencia de que en este caso el micelio se rompe, y da lugar a la formación de hifas libres, pequeñas. Cuando esto ocurre, el análisis del crecimiento no puede realizarse como si se tratase de una ramificación total, sino que, para estos propósitos, se debe considerar el crecimiento individual de cada una de ellas, y de las derivaciones que estas pueden formar. (Baron, *et al.*, 1988, p. 175; Linden, *et al.*, 2002, p. 72)

En este caso, el crecimiento de cada nueva unidad se da por medio de fragmentación. Esto quiere decir que, para crecer, cada hifa debe fragmentarse, dividiéndose en 2, que se conocen como nuevos tipos. Cuando esta fragmentación es muy intensa el largo de cada hifa es correspondientemente más pequeño, por lo que este se desprecia, y cobra importancia solamente la duplicación. (Tought, *et al.*, 1996, p. 641)

La intensidad de la fragmentación es proporcional a la velocidad de agitación, y a la configuración del agitador y del reactor, y a la viscosidad del medio. (Baron, *et al.*, 1988, pp. 175, 177; Linden, *et al.*, 2002, p. 72)

1.1.5.3.Crecimiento en forma de pellets

La formación y el tamaño de los pellets dependen del grado de agregación de las partículas que los conforman. El grado de agregación está dado, a su vez, por la

energía de colisión que estas poseen, que debe ser considerable, para que puedan coalescer. Por estas razones, es imprescindible manejar adecuadamente tanto el flujo de aireación, como la velocidad de agitación. (Ola Gomaa, *et al.*, 2009, p. 82)

Existen muy pocos estudios que describen el crecimiento y la distribución del tamaño del pellet en un medio de cultivo batch. Sin embargo, se conoce que el pellet puede fragmentarse como consecuencia de la agitación, por lo que se debe conocer la estabilidad del pellet bajo diversos esfuerzos de corte. (Doran, 1998, p. 154)

Los pellets se forman con base en la aglomeración de esporas. Cuando esto ocurre, el diámetro se incrementa a una velocidad constante al comienzo del proceso. A medida que el pellet crece, su diámetro se incrementa hasta un valor óptimo, establecido por la disponibilidad de nutrientes y de oxígeno que debe difundir hacia su interior. (Baron, *et al.*, 1988, pp. 173-175)

Cuando el tamaño de pellet ha superado el diámetro óptimo, el pellet crece exponencialmente y forma una capa periférica, que le resta homogeneidad y resistencia mecánica, lo que causa su fragmentación. (Baron, *et al.*, 1988, pp. 173-175)

La fragmentación produce una disminución del diámetro del pellet y un consecuente aumento en su número, y la generación de hifas sueltas, que pueden generar nuevos pellets según las condiciones de operación de la fermentación. (Baron, *et al.*, 1988, pp. 173-175) (Paul, *et al.*, 2004, p. 1125)

En la Figura 1.3 se puede apreciar las diferencias entre los tres tipos de crecimientos mencionados.

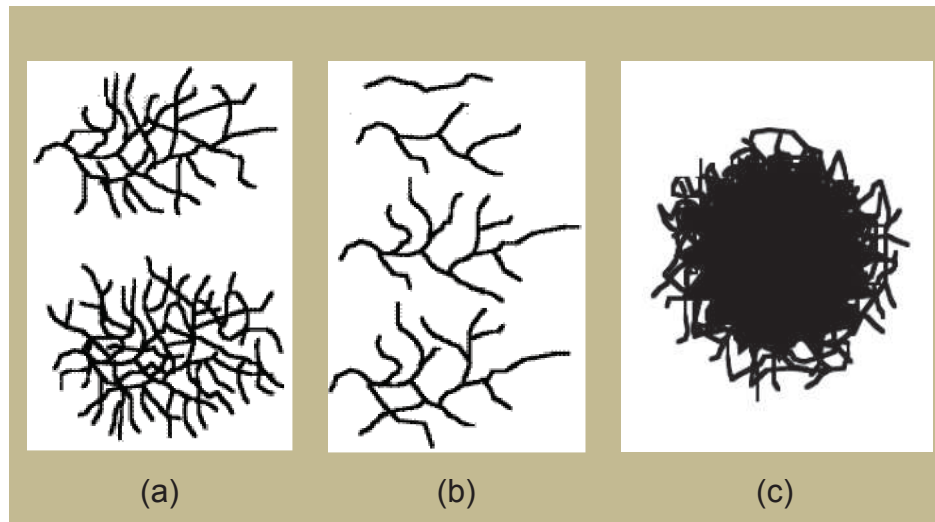


Figura 1.3. (a) Crecimiento en forma de micelio libre, (b) Crecimiento en forma de micelio libre con fragmentación (hifas), (c) Crecimiento en forma de pellet (Paul, *et al.*, 2004, p. 1125)

1.1.6. FERMENTACIÓN SUMERGIDA CON FORMACIÓN DE PELLET

En la fermentación sumergida, la primera etapa de crecimiento del pellet es crítica, por lo cual, generalmente no se siembran las esporas directamente en el reactor, sino que se tiene un medio donde se prepara el pellet para facilitar y maximizar la formación del mismo. En esta etapa, así como en la fermentación se debe mantener la temperatura a 28°C. (Linden, *et al.*, 2002, p. 60)

No necesariamente un mejor pellet produce un mayor rendimiento, sin embargo muestra un manejo adecuado de las condiciones de operación como son el pH, la temperatura, la agitación y la aireación. (Linden, *et al.*, 2002, p. 60)

Sin bien es cierto que el rendimiento no siempre es influenciado por la forma del pellet, esta sí afecta el gasto energético del compresor, ya que si se presenta un cambio en su morfología, el oxígeno disuelto puede decaer hasta un 50% en comparación con el oxígeno disuelto que se tiene en medios con pellets que poseen la morfología adecuada, lo que significa un mayor requerimiento energético para abastecer con mayor cantidad de oxígeno al medio. (Linden, *et al.*, 2002, p. 60)

1.1.6.1. Parámetros que influyen en la formación del pellet

Los parámetros de la operación tales como el pH, la composición del medio de cultivo, las condiciones de siembra, el número de esporas, los factores genéticos de la cepa, la velocidad de agitación, y la tasa de aireación, determinan las características morfológicas del pellet. (Linden, *et al.*, 2002, p. 69; Paul, *et al.*, 2004, p. 1126). Los parámetros que, entre los citados, según Tought (1996), son mayormente determinantes son: (p. 640)

➤ Medio de cultivo

Cuando el medio no contiene todos los nutrientes necesarios, el pellet no crecerá en forma esférica, y no se obtendrá suficiente biomasa. (Godínez y Calderon, 2002, p. 52)

➤ Velocidad de agitación y aireación

Se ha demostrado en muchos trabajos de investigación, que la velocidad de agitación y la aireación son los factores que más incidencia tienen sobre la forma esférica del pellet, su uniformidad de tamaño, textura y su compactación. (Godínez y Calderon, 2002, p. 52; Lim, *et al.*, 2002, p. 13; Ola Gomaa y Heba El Bialy, 2009, p. 75)

➤ Características del inóculo

La edad del inóculo afecta directamente en el crecimiento y la morfología del pellet. Por esto, no es aconsejable almacenar las esporas con las que se va a inocular por un período mayor a 1 mes. (Ola Gomaa y Heba El Bialy, 2009, p. 77)
Las hifas son el material con el que se forman los pellets. Cuando el medio de cultivo, la velocidad de agitación, la aireación y las características del inóculo no

son adecuados, se obtienen hifas demasiado pequeñas, aplastadas, y con un exceso de ramificaciones, que no permiten obtener pellets esféricos, uniformes y compactos. (Linden, *et al.*, 2002, p. 69)

Estas variables son especialmente importantes en el caso de cultivos que utilicen un hongo filamentosos, porque influyen en su crecimiento, que puede ser en forma de micelio libre, como se muestra en la Figura 1.3 (a), con entrelace de las hifas; en forma fragmentada, como se muestra en la Figura 1.3 (b), y en forma de pellet, como puede observarse en la Figura 1.3 (c), e influye directamente en las aplicaciones industriales. (Lim, *et al.*, 2002, p. 13; Ola Gomaa y Heba El Bialy, 2009, p. 75)

1.1.6.2.Morfología del pellet

Cuando se realizan fermentaciones sumergidas con generación de pellet, es imprescindible obtener un pellet compacto, uniforme, homogéneo, con pocas hifas en su contorno y esférico. Esto se debe a que las características apropiadas del pellet reducen la viscosidad del medio y permiten una mejor difusión del oxígeno en él, lo que, a su vez, disminuye el costo de operación. (Linden, *et al.*, 2002, pp. 69, 74)

Además de lo dicho, es importante lograr la formación de un pellet cuya superficie esté libre de hifas, para que el medio de cultivo pueda llegar hasta su superficie, y la humedezca adecuadamente, ya que esto mejora sustancialmente la transferencia tanto de oxígeno como de nutrientes al pellet y por ende mejora el proceso fermentativo. (Linden, *et al.*, 2002, pp. 69, 74)

También es importante recalcar que, si el tamaño del pellet es muy grande, tanto los nutrientes del sustrato, como el oxígeno disuelto en el medio, no llegarán hasta el centro del mismo, lo que provoca una heterogeneidad en su estructura y complica el análisis cuantitativo de la constante cinética. (Linden, *et al.*, 2002, p. 60)

1.1.6.3. Estudio de la reología en un medio con presencia de pellets

El incremento de la biomasa en un medio que contiene pellets, genera un cambio en la viscosidad del mismo, lo que da a lugar a una reología no Newtoniana del medio, que demanda más potencia de agitación que un medio Newtoniano. (Petersen, Stocks y Gernaey, 2007, p. 3)

Sin embargo, se tiene un comportamiento newtoniano siempre y cuando no se supere una concentración de biomasa de 28 g/L, y una vez que se ha superado este valor se presenta un comportamiento altamente pseudoplástico ($n < 1$), donde la viscosidad disminuye a medida que el esfuerzo cortante se incrementa. (Kim, *et al.*, 1983, p. 11; Ola Gomaa, *et al.*, 2009, p. 82)

Según Petersen (2007), este incremento de viscosidad se explica debido al cambio de la morfología del moho a través del proceso fermentativo, como se puede observar en la Figura 1.4. (p. 3)

Por las razones antedichas, es de mucha importancia conocer el modelo reológico del medio que se utilice para las fermentaciones en que se emplee hongos filamentosos, a fin de estimar la influencia que estos puedan tener sobre la transferencia de masa en el sistema, y evitar que la agitación se vuelva deficitaria cuando la viscosidad se incremente. (Byung-Hwan y Hanley, 2008, p. 1094; Ola Gomaa y Heba El Bialy, 2009, pp. 75-80)

En un medio pseudoplástico, la reología del sistema se puede representar por medio de la ecuación 1.8, que representa la Ley de la Potencia. (Lim, *et al.*, 2002, p. 13)

$$\tau = K * \dot{\gamma}^n \quad [1.8]$$

Donde:

T: Esfuerzo cortante (Pa)

K: Índice de consistencia ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$)

$\dot{\gamma}$: Velocidad de corte ($1/\text{s}$)

n: Índice de comportamiento del fluido

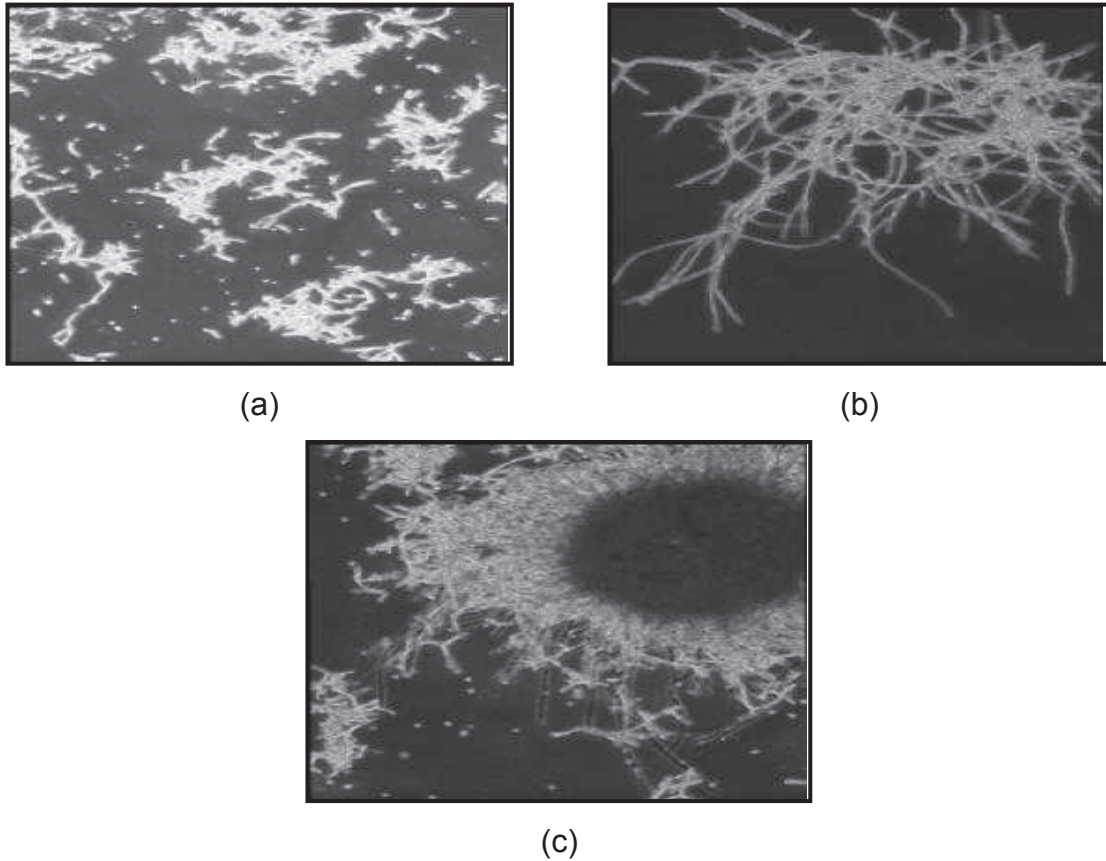


Figura 1.4. Etapas de generación del pellet en fermentación sumergida con *Aspergillus niger* ((a) Etapa de generación de hifas, (b) Etapa de entrelazamiento de hifas, (c) Etapa de generación del pellet)
(Petersen, *et al.* , 2007, p. 3)

Para estimar los índices de la ecuación 1.8, se utiliza el concepto de la viscosidad aparente μ_a , como se muestra en la ecuación 1.9, y se reemplaza en esta la ecuación 1.8, con lo que se obtiene la ecuación 1.10. (Lim, J. S., Kim, J. H., Kim, C. y Kim S. W., 2002, pág. 13)

$$\mu_a = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \quad [1.9]$$

$$\mu_a = K^*(\dot{\gamma})^{n-1} \quad [1.10]$$

En los estudios realizados por Ola Gomaa y Heba El Bialy, (2009), se tiene que la viscosidad aparente, el índice de consistencia (K), y la producción fueron máximas a las mayores condiciones de operación, mientras que la deformación al esfuerzo, el tamaño y el número de pellets, y el índice de comportamiento del flujo (n) decrecieron. (p. 82)

A pesar de las complicaciones que se presentan en la reología del sistema de la fermentación sumergida con formación de pellet, este tipo de fermentación es una de las preferidas a nivel industrial, ya que se puede controlar el tamaño de pellet, lo que significa tener una mejor transferencia de masa con menor requerimiento energético comparado con el requerido en una con formación de micelio. (Ola Gomaa, *et al.*, 2009, pp. 75-80)

Además, la alta viscosidad del medio puede ser un factor favorable para la fermentación debido a la reducción de las colisiones entre pellets, lo cual disminuye la probabilidad de tener pellets vinculados entre sí, que dificultan la transferencia de masa del oxígeno y nutrientes. (Ola Gomaa, *et al.*, 2009, pp. 75-80).

Los equipos que más comúnmente se utilizan tanto para la agitación de medios no Newtonianos, como para el estudio reológico del medio, se detallan a continuación:

➤ **Turbinas para la agitación**

El agitador más empleado en la industria es la turbina de disco con paletas planas (Rushton), ya que permite mantener constante el número de potencia cuando se trabaja en régimen turbulento ($Re \geq 2 \times 10^4$), lo que representa una de las mayores ventajas. (García y Jáuregui-Haza, 2006, pp. 99-102)

Los microorganismos empleados en la industria biotecnológica, generalmente presentan sensibilidad al esfuerzo de cizallamiento, por lo cual es necesario

trabajar con agitadores de múltiples turbinas, que permitan trabajar con velocidades de agitación altas, pero con valores inferiores al cizallamiento máximo. (García, *et al.*, 2006, p. 100)

➤ **Equipos para la determinación de la reología del medio**

Existen diversos equipos para determinar la viscosidad de un sistema no newtoniano, entre los cuales se tienen los viscosímetros rotacionales. Dentro de estos viscosímetros rotacionales, uno de los más empleados es el de discos paralelos, donde el medio se coloca entre los dos discos y el disco superior gira mientras el inferior permanece inmóvil, con lo que se tiene la curva de la viscosidad a diferentes velocidades de corte. (García, *et al.*, 2006, p. 100)

Una de las mayores ventajas que presenta este viscosímetro es que requiere una pequeña cantidad de muestra y se puede fijar el espesor de la capa, lo que es favorable para los medios con presencia de pellets. (García, *et al.*, 2006, p. 100)

1.1.7. MODELOS MATEMÁTICOS EMPLEADOS EN LA FERMENTACIÓN SUMERGIDA CON FORMACIÓN DE PELLET

El crecimiento de los hongos filamentosos en medio sumergido ha sido poco estudiado, sin embargo se pueden considerar dos tipos de modelos para representar el proceso. Estos son: el cinético de la raíz cúbica y el exponencial. (Tought, *et al.*, 1996, p. 640)

No obstante existen modelos mucho más complejos que inclusive pueden llegar a representar el desarrollo del pellet en 3 dimensiones, y que permiten conocer la influencia de las condiciones de operación sobre el ángulo de orientación con el que se enlazarán las hifas y la frecuencia con que lo harán. Estos modelos deben ser empleados cuando el crecimiento microbiano no responda adecuadamente con ninguno de los modelos más simples. (Baron, *et al.*, 1996, pp. 139-140)

Para realizar la simulación matemática, es recomendable partir de una condición inicial para el diámetro del pellet de 15 μm , que permite un acercamiento a los valores reales. (Baron, *et al.*, 1996, p. 139)

Cabe recalcar que el modelamiento de los distintos tipos de crecimiento es totalmente diferente, ya que el modelo debe responder tanto a la morfología microscópica como a la macroscópica del microorganismo. (Baron, *et al.*, 1996, pp. 139-140; Tought, *et al.*, 1996, p. 639)

1.1.7.1. Modelo cinético de la raíz cúbica

En este modelo se considera el incremento del tamaño del pellet a través del cubo de su radio, como se puede observar en la ecuación 1.11. (Tought, *et al.*, 1996, p. 644)

$$r^3 = \frac{3 \cdot M}{4 \cdot \rho_s \cdot \pi} \quad [1.11]$$

Además, la generación de biomasa puede estar representada por dos ecuaciones. La primera se refiere al incremento de biomasa en función de la velocidad de crecimiento microbiano, como se puede observar en la ecuación 1.12, donde se supone la inexistencia de limitación por difusión.

$$\frac{dM}{dt} = u \cdot M \quad [1.12]$$

La segunda considera la generación de una capa periférica (w) que limita el crecimiento homogéneo del pellet, como se puede observar en las ecuaciones 1.13 y 1.14. (Tought, *et al.*, 1996, p. 640)

$$M^{1/3} = M_0^{1/3} + k_d t \quad [1.13]$$

Según Tought, *et al.*, (1996), se ha demostrado que un medio de cultivo que contiene (n_p) cantidad de pellets esféricos, la constante (k_d) está definida por la interacción entre la densidad (ρ_s), una capa periférica que rodea al pellet (w) y la velocidad de crecimiento del microorganismo (u), como se muestra en la ecuación 1.14. (p. 640)

$$k_d = \left(\frac{4}{3} \pi \rho_s n_p \right)^{1/3} u w \quad [1.14]$$

La constante (k_d) se debe a la resistencia a la difusión del sustrato y por ende del oxígeno disuelto en el mismo hacia el centro del pellet a causa de la capa periférica que lo rodea; es decir, que existe una “zona muerta”. No obstante, según Tought, *et al.*, (1996), esta limitación por difusión existe únicamente en aquellos casos en los cuales el pellet es grande, ya que cuando el pellet es pequeño, se puede considerar una difusión total. (p.640)

La formación de la capa periférica, describe un incremento lineal del tamaño del pellet dentro de la misma, como se puede observar en la ecuación 1.15. (Quintero, 1981, p. 45)

$$\frac{dr}{dt} = u w \quad [1.15]$$

Para la formulación de un modelo matemático que permita determinar la variación de la biomasa durante el proceso fermentativo, generalmente se emplea la ecuación 1.12. No obstante, en aquellos procesos en los que el crecimiento microbiano no se adapta a este modelo, se debe emplear las ecuaciones 1.13, 1.14 y 1.15.

Este modelo cinético de la raíz cúbica se puede emplear con hongos filamentosos que presentan crecimiento en forma de pellet siempre y cuando el espesor de la capa periférica que lo rodea sea despreciable o el diámetro del pellet sea mucho mayor a dicha capa, caso contrario se debe emplear el modelo exponencial. (Pirt, 1966, p. 372)

1.1.7.2. Modelo exponencial

En este modelo se considera que el crecimiento microbiano se da a través de la duplicación celular, por lo que, se puede emplear la ecuación 1.16. (Tought, *et al.*, 1996, p. 640)

$$M = M_0 * e^{u*t} \quad [1.16]$$

Sin embargo, para emplear este modelo en el crecimiento de hongos filamentosos, se debe considerar un factor de corrección, que defina la formación de hifas. (Marshall y Alexander, 1960, p. 413)

1.2. FUNDAMENTOS DEL PROCESO DE ESCALADO

1.2.1. DEFINICIÓN DEL PROCESO DE ESCALADO

El término escalado se refiere a la transferencia del proceso obtenido en el laboratorio o pequeña escala, a una planta piloto, y posteriormente a la producción industrial o viceversa. Este proceso se realiza mediante una modelización matemática y una simulación digital. (Gonzales, 2000, p. 11; Quintero, 1981, p. 97)

El escalado se emplea para resolver diversos problemas que se presentan en la industria, como son:

- La implementación de un proceso nuevo y una planta nueva.
- La implementación de un proceso nuevo en un equipo ya existente.
- La modificación de un equipo existente a fin de mejorar el proceso.

Es imprescindible que se mantengan las condiciones óptimas del proceso al pasar de una escala a otra y que a su vez de ser posible se maximice la productividad o se incremente la concentración del producto. (Quintero, 1981, p. 98)

En un proceso de escalado biotecnológico se deben considerar las variables físicas como son: La geometría del equipo, el número de impulsores, el número de orificios en el anillo de aireación, etc., y procurar que se mantenga una de las siguientes condiciones: mezclado, agitación o aireación - según el proceso- para cada una de las escalas, para mantener constante el criterio de escalado. (Quintero, 1981, p. 99)

Sin importar el criterio de escalado que se emplee, siempre existe una relación de dependencia entre la concentración de biomasa o metabolito obtenido y las variables de operación P/V o $k_L a$, que puede representarse por medio de una hipérbola que por lo general es independiente del microorganismo que se emplee, sea este bacteria, levadura, o moho. (Quintero, 1981, p. 99). La hipérbola se muestra en la Figura 1.5.

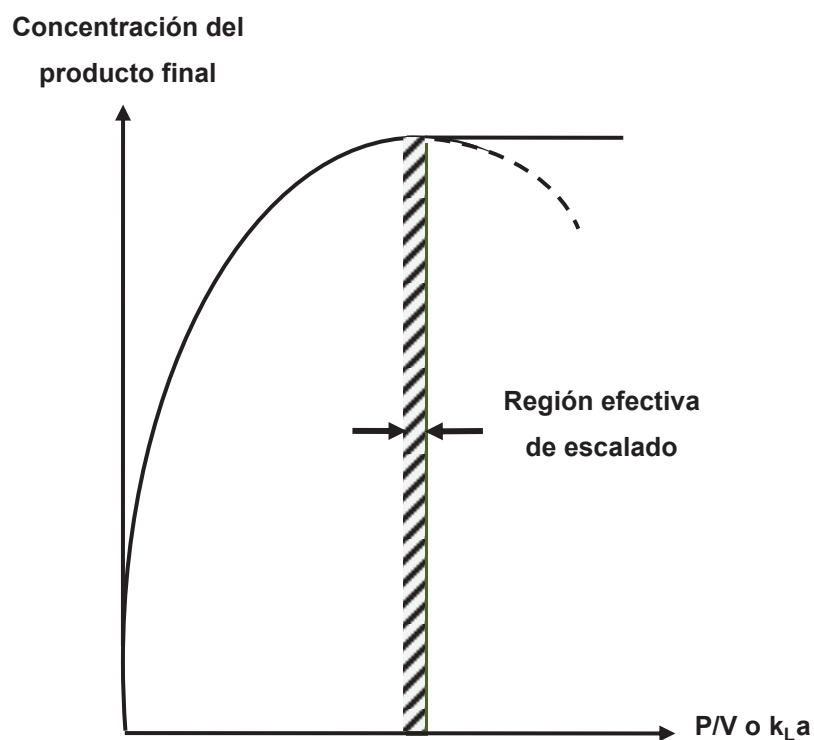


Figura 1.5. Dependencia del proceso fermentativo con las variables de operación (Quintero, 1981, p. 99).

Para llevar a cabo un adecuado proceso de escalado se debe tomar en cuenta la región efectiva de escalado, que se muestra en la Figura 1.5, que es la región que

corresponde a un rango de concentraciones de producto máximas. (Quintero, 1981, p. 99)

Esta región efectiva de escalado permite determinar la variable potencia por unidad de volumen (P/V) o el coeficiente volumétrico de transferencia de masa ($k_L a$), variable con la que se debe realizar el proceso de escalamiento. (Quintero, 1981, p. 99)

1.2.2. ETAPAS DE ESCALADO

El proceso de escalado puede dividirse en cinco escalas:

1. Escala de Laboratorio
2. Escala de Banco (Bench)
3. Escala Piloto
4. Escala Semi-Industrial
5. Escala Industrial

Esta división es convencional solamente, porque los límites de magnitud de cada escala no están definidos cuantitativamente, y, porque también, existen ciertos procesos que no requieren de un estudio en todas las escalas mencionadas, y en los que, por tanto, se suprime la escala que no se considere necesaria. (Gonzales, 2000, p. 10)

1.2.2.1. Escala de laboratorio

Esta escala constituye el paso inicial para el desarrollo de un nuevo proceso, porque permite identificar las variables más importantes de operación. En esta escala los objetivos en los casos biotecnológicos son: selección de la cepa de trabajo, optimización del medio de cultivo, con vistas, esto último a minimizar los costos. (Gonzales, 2000, p. 14)

1.2.2.2.Escala de banco

Los experimentos que se desarrollan a esta escala permiten que el analista del proceso obtenga una orientación “más tecnológica”, si se compara con la que se obtiene a escala de laboratorio. Del tamaño que se escoja como escala banco, dependerá el procedimiento de desarrollo del inóculo. (Gonzales, 2000, pp. 14-15)

En esta escala se determinan las condiciones óptimas de aireación y agitación, se establecen los mecanismos controlantes de transferencia de masa que se utilizan en el modelo matemático. Además, según Gonzales, (2000), la escala de banco permite identificar y estipular las particularidades que se detallan a continuación. (pp. 14-15)

- Geometría y operación de los equipos similares a los equipos a mayor escala, que se empleen en las escalas mencionadas anteriormente.
- Tipo y nivel de instrumentación a utilizarse en las escalas mayores.
- Estimación de costos de operación en la escala industrial.

1.2.2.3.Escala piloto

En esta escala se implementa el proceso que se ha ensayado a nivel de banco y se hacen los ajustes que sean necesarios en el manejo y operación del proceso que deban implementarse en la escala inmediata superior. Sin embargo, no es siempre esencial y por su elevado costo solo se implementa en aquellas partes del proceso que involucren incertidumbre. (Gonzales, 2000, p. 15)

1.2.2.4.Escala semi-industrial

Esta etapa es costosa, y no siempre es necesaria. Solo se emplea en aquellos casos en los cuales el proceso es demasiado sensible al cambio a escala industrial. (Gonzales, 2000, pp. 15-16)

1.2.2.5.Escala industrial

La escala industrial es el resultado del proceso de escalado, que si se ha realizado correctamente obtendrá una planta que produzca en la calidad, cantidad y costos proyectados. (Gonzales, 2000, pp. 15-16)

1.2.3. TIPOS DE ESCALADO

1.2.3.1.Scale up

Los procesos de Scale-up, involucran, por lo general, una reducción en el rendimiento de la fermentación obtenida en el laboratorio. Para minimizar este efecto, se recomienda que se mida, determine y monitoree los parámetros críticos del proceso y se diseñe un equipo de operación que permita llevar estos parámetros a la mayor escala con la menor pérdida. (Baltz, Dabies y Demain, 2010, p. 170)

Los parámetros de escalado más comunes en las fermentaciones microbianas son la velocidad de agitación y el suministro de aire al sistema. (Baltz, *et al.*, 2010, pp. 170-171)

1.2.3.2.Scale down

El scale down es el inverso del scale up. Se usa para reproducir en el laboratorio las condiciones de los equipos de producción industrial y también para validar las condiciones de operación de los procesos industriales. (Baltz, *et al.*, 2010, p. 171;Gonzales, 2000, p. 10)

Los procesos de scale-down, se usan para optimizar los procesos, porque permiten comprender los efectos de las condiciones de operación sobre la actividad microbiana. (Paul, *et al.*, 2004, p. 1073)

1.3. ESCALADO PARA PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS

El desarrollo de los procesos biotecnológicos implica el paso del proceso de una escala pequeña a una escala industrial. Este es el caso de los desarrollos encaminados a producir diversos metabolitos y enzimas de interés comercial. (Madigan *et al.*, 2003, p. 963)

Como a escala comercial se obtiene siempre menor superficie específica de transferencia, se debe trabajar con las variables de operación - como es la velocidad de agitación y la tasa de aireación - a fin de contrarrestar este efecto. (Madigan *et al.*, 2003, p. 963; Gonzales, 2000, p. 9; Quintero, 1981, p. 97). Para realizar el escalado, se deben emplear ciertos criterios, que se detallan a continuación:

1.3.1. CRITERIOS DE ESCALADO

1.3.1.1. Criterio del coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$

La transferencia de oxígeno es un indicador de la aireación que puede suministrarse a un fermentador. Por esto, es el criterio de escalado más ampliamente empleado en los casos de fermentaciones aeróbicas. (Gonzales, 2000, p. 57; Stanbury, 1995, p. 247)

La ecuación 1.17, que está dada en Linden, et al., (2002), es la base de este criterio de escalado, porque permite estimar el valor del coeficiente $k_L a$, que, como se puede observar en la ecuación 1.6, es el que determina la velocidad de transferencia de oxígeno. (Linden, *et al.*, 2002, p. 170; Paul, et al., 2004, pp. 627,1086; Quintero, 1981, p. 102)

Por las razones expuestas, el coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$ debe mantenerse constante a través de las escalas que se estudien. (Quintero, 1981, p. 102)

$$k_L a = b * \left(\frac{P_g}{V} \right)^c * (V_s)^e * (\mu_a)^f \quad [1.17]$$

Donde:

- P_g : Potencia entregada al sistema por el motor mientras se suministra aireación al medio (kW/m³)
- V : Volumen operativo del fermentador (m³)
- V_s : Velocidad superficial (m/s)
- μ_a : Viscosidad aparente del medio (Pa*s)
- b,c,e,f: Constantes propias de cada sistema

Es necesario indicar que en los casos de fermentaciones de medios de reología Newtoniana, no existirá un cambio de la viscosidad en función del esfuerzo cortante. Si adicionalmente a lo mencionado, la fermentación se mantiene en régimen turbulento, y si se utiliza la turbina Rushton, el número de potencia no deberá cambiar, a no ser que la fermentación se aproxime al régimen laminar, como se puede observar en la Figura 1.6. (Doran, 1998, p. 156)

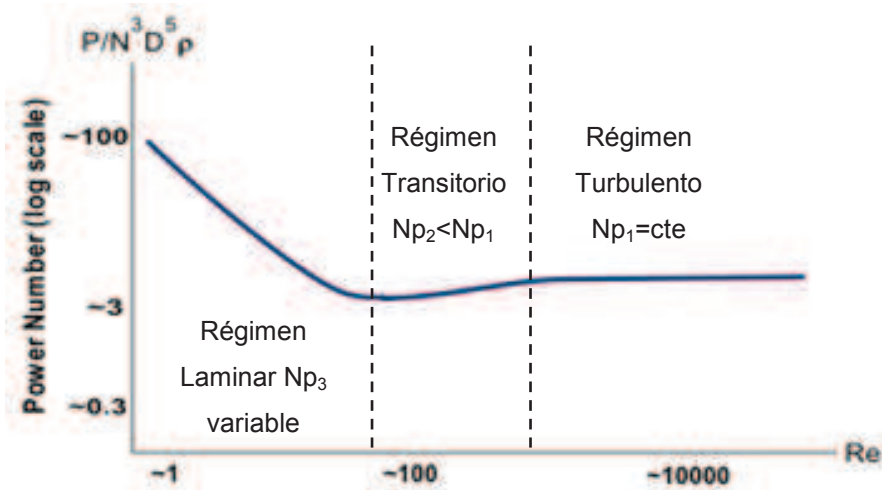


Figura 1.6. Número de potencia versus número de Reynolds para medios de reología Newtoniana

Por el contrario, en una fermentación de reología no-Newtoniana la viscosidad cambiará significativamente, porque con el aumento de la concentración de

biomasa, ocurren dos fenómenos: El esfuerzo cortante se incrementa, y el gradiente de velocidad disminuye. (Doran, 1998, p. 159)

Este aumento de la viscosidad implica una disminución del número de Reynolds, y de acuerdo a Wang, *et al.*, (1979), el número de potencia no cambia significativamente para números de Reynolds mayores a $8 \cdot 10^2$, como se puede observar en la Figura 1.7. (Wang, *et al.*, 1979, pág. 123)

Las constantes de la ecuación 1.17 cambian al variar la escala, el proceso y también debido a la adición de antiespumantes, por lo que son propias de cada sistema y escala. Por este motivo, no se puede extrapolar los procesos de escalado de un sistema Newtoniano a uno no Newtoniano o emplear las constantes obtenidas para un proceso de escalado en otro. (Paul, *et al.*, 2004, p. 1086)

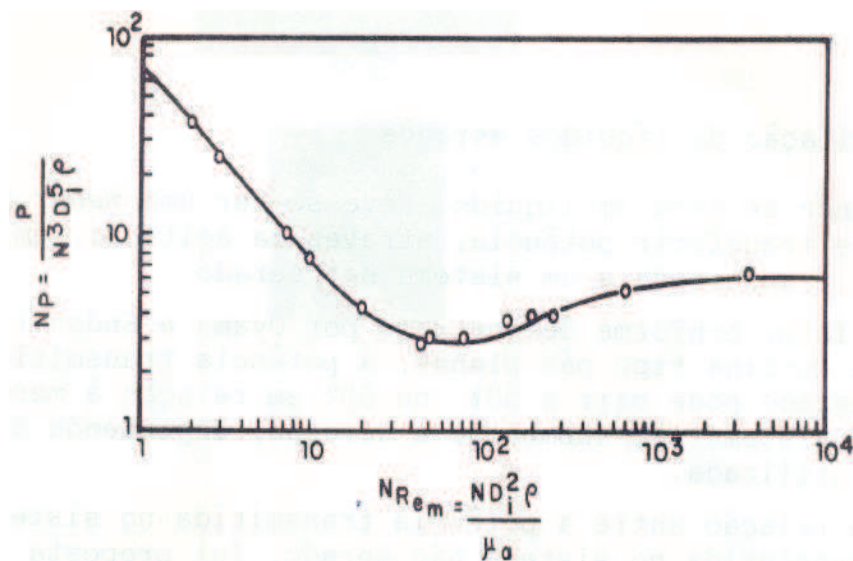


Figura 1.7. Número de potencia versus Reynolds para fluidos no-Newtonianos (Doran, P. M., 1998, pág. 159)

1.3.1.2. Determinación experimental del coeficiente de transferencia de masa $k_L a$

Se puede determinar el coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$ mediante dos métodos: el de medición directa y el de medición indirecta. La

aplicación de cada uno de estos métodos, depende de lo que sea más viable para el proceso que se lleva a cabo. (Quintero, 1981, pp. 281-282)

Los dos métodos se basan en el criterio de la conservación de masa del oxígeno, que estipula que la variación de concentración de oxígeno disuelto en el medio es igual a la velocidad con que se transfiere el oxígeno al medio, menos la velocidad con la que se usa, como se puede apreciar de la ecuación 1.18. (Almudena, *et al.*, 1999, p. 69)

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a^* (C_g^* - C_L) - Q_{O_2}^* x \quad [1.18]$$

Donde:

$\frac{dC_L}{dt}$: Variación de la concentración de oxígeno disuelto, mmoles O₂ / m³*s

➤ **Método de medición directa**

Este método emplea dos técnicas:

1. La de eliminación dinámica del oxígeno del medio.
2. La de balance de oxígeno en el sistema.

En ambas técnicas se obtienen valores mucho más certeros, que los obtenidos por el método indirecto. Esto se debe a que cuando se emplean estas técnicas, se utiliza el mismo medio de fermentación en el que interviene el factor de la respiración microbiana, mientras que esto no ocurre en las determinaciones del método indirecto. (Stanbury, 1995, p. 249)

Sin embargo, la técnica de balance de oxígeno en el sistema no es tan empleada como la técnica de eliminación dinámica del oxígeno del medio, debido a que esta última es más factible de llevar a cabo, por lo que se la detalla a continuación:

➤ **Técnica dinámica de eliminación del oxígeno**

En esta técnica se elimina el suministro de oxígeno al medio de cultivo y se mide, a través de un electrodo de oxígeno disuelto, el descenso en su concentración, debido a la respiración microbiana (Q_{O_2}). (Stanbury, 1995, p. 249).

Esta disminución en la concentración es lineal, como se puede observar en el tramo A-B de la Figura 1.8.

Antes que la concentración de oxígeno disuelto alcance un valor crítico que podrían afectar la viabilidad y el metabolismo del microorganismo, se debe reiniciar la aireación del proceso. Tanto el primer tramo A-B, como el segundo B-C, se monitorizan a través de la adquisición de datos en tiempo real. (Stanbury, 1995, p. 249) (Almudena, *et al.*, 1999, p. 4)

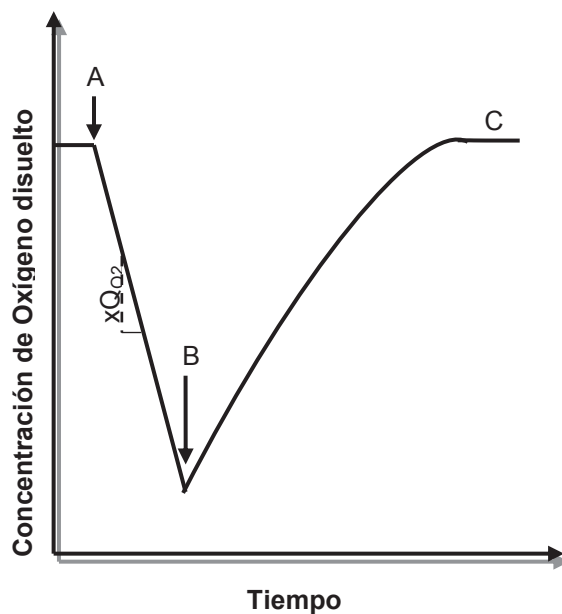


Figura 1.8. Método dinámico de eliminación del oxígeno. La aireación termina en el punto A y se reinicia en el punto B.
(Stanbury, 1995, p. 250)

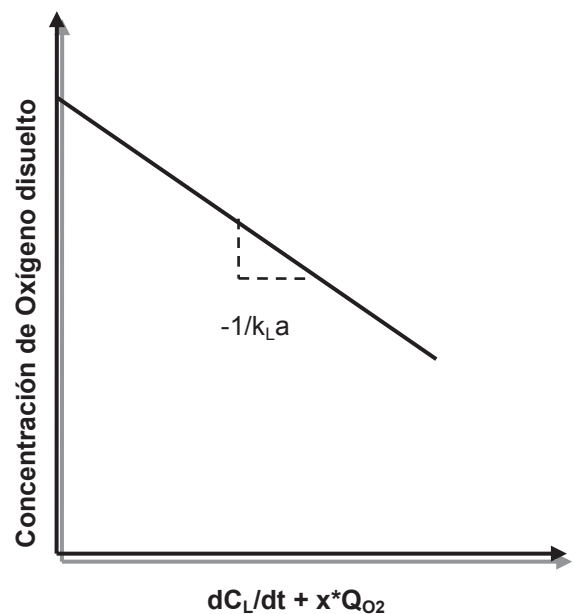


Figura 1.9. Método de determinación del $k_L a$ en el método dinámico (C_L vs. $(dC_L/dt + x*Q_{O_2})$)
(Stanbury, 1995, p. 250)

El valor crítico del oxígeno antes mencionado, debe determinarse experimentalmente antes de implementar el método dinámico, porque depende de

cada tipo de microorganismo, y puede considerarse como el valor de la concentración de oxígeno a partir del cual se empieza a observar una desviación entre en la curva del oxígeno disuelto vs. tiempo y la línea recta, como se ilustra en la Figura 1.10. (Stanbury, 1995, p. 250)

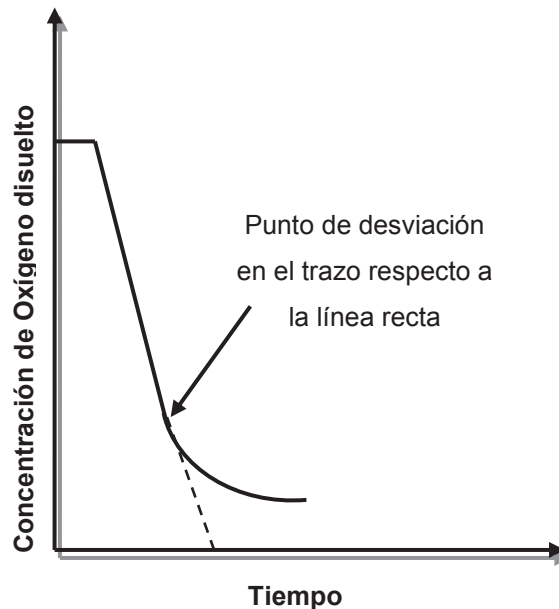


Figura 1.10. Limitación del oxígeno durante de la desoxigenación en el método dinámico

En este sentido, cabe recalcar que en general, en un sistema aireado en ningún caso se debe permitir que la concentración de oxígeno disuelto C_L sea inferior al 20 % del valor de concentración de saturación, ya que concentraciones inferiores ocasionarán disminuciones en la velocidad de consumo de oxígeno (Q_{O_2}) y en la velocidad de consumo del sustrato, que alterarían el metabolismo del microorganismo, y, también alterarían los datos para la determinación del $k_L a$. (Garrido, Gómez y Schnabel, 1988, p.29)

Para establecer el nivel crítico del oxígeno, Garrido, (1988) recomienda que cuando se trabaje con *Aspergillus niger* en fermentación sumergida, el valor de C_L nunca sea inferior al 40% de la concentración de saturación. (pp. 26-27).

Una vez determinado el valor crítico del oxígeno para el proceso, se puede calcular el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, para lo cual, se reordena la ecuación 1.18, y se obtiene la ecuación 1.19:

$$C_L = \frac{-1}{k_L a} * \left(\frac{dC_L}{dt} + x^* Q_{O_2} \right) + C_g^* \quad [1.19]$$

Cuando se grafica C_L vs. $(dC_L/dt + x^* Q_{O_2})$, se obtiene una línea recta, cuya pendiente es $-1/k_L a$, como se puede apreciar en la Figura 1.9. Por otro lado, si se integra la ecuación 1.18, se obtiene la expresión 1.20, que permite una estimación más precisa del $k_L a$, que la que se obtendría al emplear el método anteriormente descrito. (Stanbury, 1995, p. 250)

$$\ln \left[\frac{C_g^* - C_1}{C_g^* - C_2} \right] = k_L a^* (t_2 - t_1) \quad [1.20]$$

Donde:

C_1 : Concentración de oxígeno disuelto que se da al inicio de la apertura del suministro de aire (t_1), mmoles O_2 / m^3

C_2 : Concentración de oxígeno disuelto a un tiempo t_2 , mmoles O_2 / m^3

Esta técnica de eliminación dinámica del oxígeno representa mucho mejor el proceso, porque se ejecuta durante la fermentación y permite calcular el valor de $k_L a$ a diferentes etapas del proceso. (Stanbury, 1995, p. 250)

Sin embargo, no puede ser aplicada cuando la demanda de oxígeno es demasiado alta, porque, cuando esto sucede, tanto la pendiente de la curva de eliminación de aireación, cuanto la de restitución tiene valores absolutos altos, lo que en la mayoría de los casos conduce a la obtención de solo 2 puntos para el cálculo del $k_L a$. (Stanbury, 1995, p. 250)

➤ **Método de medición indirecta**

Este método se lleva a cabo en ausencia del microorganismo, lo que implica que no se considere el consumo de oxígeno por parte del mismo. Por esta razón, los

valores que se obtienen cuando se aplica este método, sólo pueden emplearse para comparar diferentes reactores que operan en condiciones similares. (Quintero, 1981, p. 282) (Almudena, *et al.*, 1999, p. 68)

1.3.1.3. Factores que influyen en el valor estimado del coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$

Según Stanbury, (1995), los factores que afectan el valor estimado del coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$ son: (p. 254)

1. El flujo de aireación.
2. La velocidad de punta de agitación.
3. La reología del medio de cultivo.
4. La presencia de agentes antiespumantes.

➤ Efectos del flujo de aireación

Una correcta distribución de las burbujas en el medio está influenciada tanto por el flujo de aireación, como por la velocidad de agitación.

Esto quiere decir, por ejemplo, que si la velocidad de punta del agitador es baja para el flujo de aire que se suministra al sistema, se dará el fenómeno conocido como inundación, que se caracteriza por el predominio del flujo de aireación sobre la agitación. (Stanbury, 1995, p. 255)

Esto se debe a que la energía de disipación del flujo es mayor que la energía de disipación de la agitación. (Stanbury, 1995, p. 255)

Cuando se da la inundación, las burbujas pueden envolver el agitador sin dispersarse. La zona que rodea al rodete no está en contacto con el líquido correctamente, por lo que en este caso, se disminuye la dispersión del oxígeno en

el medio. (Doran, 1998, p. 213). Para evitar estos problemas, algunos investigadores han sugerido que la velocidad mínima de punta del agitador deba encontrarse entre 1,5 y 2,5 m/s. (Doran, 1998, p. 213; Mosier, y Ladisch, 2009, p. 373; Stanbury, 1995, p. 255)

Cabe recalcar, que no se debe trabajar con una velocidad de agitación excesiva, ya que se genera una sobre-recirculación de las burbujas, lo que provoca un pequeño incremento del coeficiente k_{La} y un gran consumo de potencia. (Doran, 1998, p. 213)

➤ **Efecto de la velocidad de punta del agitador**

Si se observa la ecuación 1.17, y se tiene en cuenta que la potencia transferida al medio es función de la velocidad de punta del agitador, se podrá comprender fácilmente que este parámetro tiene una gran influencia sobre la transferencia de oxígeno al medio. Esto significa que la generación de turbulencia en el medio por agitación incrementa el área de transferencia de las burbujas porque disminuye su tamaño, previene su coalescencia y disminuye el espesor de la película líquida que las rodea. (Stanbury, 1995, p. 257)

Se debe enfatizar que, a pesar de lo dicho, se debe considerar que la ruptura de las burbujas de aire se produce mayormente en la punta del agitador y en menor cuantía en las paredes del reactor. (Paul, *et al.*, 2004, pp. 633, 1080)

Por estas razones, la velocidad de agitación debe ser tal que favorezca el fenómeno descrito en el párrafo anterior, y evite el daño celular aquí mencionado, debido a los esfuerzos de corte. (Almudena, *et al.*, 1999, p. 46; Paul, *et al.*, 2004, pp. 633, 1080)

Según Stanbury, (1995), la velocidad de agitación puede estimarse al observar el consumo de potencia de la agitación, y la relación entre el k_{La} y la potencia por unidad de volumen está representada por la ecuación 1.17. (p.257)

➤ **Efecto de la reología del medio**

La reología del medio de cultivo cambia debido al crecimiento microbiano y a su morfología, al igual que debido a las propiedades reológicas mismas del producto. (Stanbury, 1995, p. 261)

En su mayoría, las fermentaciones miceliales presentan altos valores de viscosidad y cambian de comportamientos newtonianos a pseudoplásticos a lo largo de la fermentación, lo que afecta la transferencia de oxígeno en el sistema.

Por esta razón, es indispensable mantener una velocidad de agitación que permita contrarrestar este cambio. (Paul, *et al.*, 2004, p. 1080; Stanbury, 1995, p. 261)

➤ **Efecto de la presencia de agentes antiespumantes**

Cuando se tiene un alto grado de aireación y agitación en la fermentación, generalmente se forma espuma. Esto es perjudicial porque en algunos casos la espuma inunda el reactor, lo que produce el arrastre y la consecuente pérdida de medio de cultivo, biomasa y la posible contaminación. (Stanbury, 1995, p. 267)

La formación de espuma puede, además, afectar la transferencia de oxígeno, debido al atrapamiento de las burbujas, que recirculan con la espuma. Esto produce además dificultades en la medición del oxígeno disuelto. (Baltz, *et al.*, 2010, p. 721; Stanbury, 1995, p. 267)

Sin embargo de que para eliminar la espuma se pueden emplear métodos mecánicos, o químicos, se prefiere estos últimos porque no consumen energía. (Baltz, *et al.*, 2010, p. 721; Stanbury, 1995, p. 267).

Los antiespumantes disminuyen fuertemente la tensión superficial y permiten la coalescencia de las burbujas. (Doran, 1998, p. 215)

Como el valor del coeficiente volumétrico de transferencia de masa (k_{La}) es inversamente proporcional al tamaño de las burbujas, este disminuye por la acción de los antiespumantes, lo que produce una disminución en la transferencia de masa. Por esta razón, siempre que se deban usar antiespumantes se debe hacer un cuidadoso balance entre su efecto y la disminución de la transferencia de masa. (Stanbury, 1995, p. 267)

1.3.1.4. Criterio de la velocidad de punta del agitador

Este criterio de escalado es útil en los casos en que el microorganismo es sensible al esfuerzo de corte que genera el agitador. (Paul, *et al.*, 2004, p. 1086)

Sin embargo, el mantenimiento de la velocidad de punta entre diferentes escalas, disminuye significativamente la potencia por unidad de volumen que se transfiere al medio a medida que se aumenta la escala. (Quintero, 1981, p. 100)

Por esta razón, cuando se mantiene constante la velocidad de punta, la potencia de agitación por unidad de volumen disminuye y aumenta el tiempo de residencia medio de las burbujas dentro del reactor. Esto implica que cuando se aplica este criterio disminuya el coeficiente volumétrico de transferencia de masa. (Paul, *et al.*, 2004, p. 1086; Quintero, 1981, p. 100).

Cabe recalcar, que el mantenimiento de la constancia de la velocidad de punta no implica que se deba mantener la similitud geométrica en el escalado. (Gonzales, 2000, p. 57)

1.3.1.5. Criterio del tiempo de mezcla

Este criterio se utiliza en sistemas de geometría similar, pero implica un consumo muy elevado de potencia, lo que disminuye la competitividad del proceso. (Paul, *et al.*, 2004, p. 1086; Quintero, 1981, pp. 99-100)

1.3.1.6. Criterio de la potencia por unidad de volumen

No es posible emplear este criterio cuando existen sólidos en suspensión, sino que sólo puede aplicarse para la micromezcla de dos líquidos. (Zlokarnik, 2006, pp. 47-48)

1.3.2. PARÁMETROS QUE INFLUYEN EN EL ESCALADO EN LOS PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS

1.3.2.1. Influencia de la agitación

La agitación implica la transferencia al fluido de la energía cinética suministrada por el agitador. La potencia consumida depende del tipo de agitador empleado, de la velocidad de agitación, de las características físicas del medio de cultivo, y de la ubicación y número de paletas que se empleen en la agitación. (Byung-Hwan, *et al.*, 2008, p. 99; Quintero, 1981, p. 269)

Como ya se mencionó en la sección 1.1.6.1 y 1.1.6.3., la agitación es uno de los parámetros que más afecta el desarrollo del pellet. Esto se debe a que, a mayor esfuerzo cortante, mayor será el daño del pellet. Por esta razón, el esfuerzo cortante es un factor que limita la velocidad de agitación, lo que a su vez limita la transferencia de oxígeno. (Paul, *et al.*, 2004, p. 1124)

También, se debe anotar que el nivel de agitación que se emplee debe permitir la formación de pellets a partir de hifas, como se observa en la Figura 1.4. Acerca de esto, se debe indicar que la formación de pellets implica una coalescencia de hifas, y que no debe obtener medios de alta viscosidad. (Linden, *et al.*, 2002, p. 69)

Además, de los estudios de la velocidad de agitación en fermentaciones aeróbicas, se conoce que existen límites pasados los cuales, el pellet se rompe y la velocidad de su crecimiento disminuye. (Linden, *et al.*, 2002, p. 73)

1.3.2.2. Influencia de la aireación

Una aireación excesiva puede tener un efecto negativo sobre la morfología microbiana y sobre el incremento del tamaño del pellet, e inclusive puede llegar a romper el pellet cuando es demasiado violenta. (Ola Gomaa, *et al.*, 2009, p. 77; Paul, *et al.*, p. 1144)

De lo dicho anteriormente, se puede afirmar que la agitación y la aireación, deben ser adecuadas, para obtener un pellet de tamaño apropiado, que sea esférico, y no amorfo.

1.3.3. PROBLEMAS EN EL ESCALADO

Cuando en el proceso de escalado se emplea el criterio de mantener constante el coeficiente volumétrico de transferencia de masa es imprescindible su determinación. (Ola Gomaa, *et al.*, 2009, p. 80)

Como para obtener el valor experimental del mencionado coeficiente se debe medir la concentración de oxígeno disuelto mediante un electrodo polarográfico, es indispensable evitar la acumulación de biomasa sobre este, ya que distorsiona la medición.

Además, debe asegurarse la correcta ubicación del electrodo en el biorreactor. Estos cuidados en el electrodo se describen a continuación. (Quintero, 1981, p. 107)

➤ **Acumulación de biomasa**

La biomasa se acumula en las paredes del reactor, en los baffles, en las paletas de agitación, e inclusive sobre el electrodo que se emplea para la medición del oxígeno disuelto. Por esto, a pesar de que existen diseños estándar de

biorreactores, a veces es necesario quitar los baffles o disminuir su número y hacer otras alteraciones para prevenir este problema. (Ola Gomaa, *et al.*, 2009, p. 80)

➤ **Ubicación del electrodo**

Como se indicó anteriormente, la ubicación del electrodo debe estudiarse cuidadosamente, para evitar las zonas turbulentas. (Quintero, 1981, p. 107)

Con el fin de asegurar que el electrodo no se recubra de biomasa, con la consiguiente disminución de la señal de medición, es recomendable, que el experimentador preste suma atención a cualquier disminución abrupta en la señal medida de oxígeno disuelto.

2. PARTE EXPERIMENTAL

El objetivo de esta investigación fue escalar el proceso de obtención del pellet en la fermentación sumergida de sacarosa con *Aspergillus niger*, desde un reactor modelo de 2 L hasta uno de 14 L, manteniendo el menor tamaño del pellet para garantizar que la transferencia esté controlada exclusivamente por el k_{La} y que la resistencia por la difusión sea despreciable.

Con base en lo expuesto se consideró como criterio exclusivo de escalado la constancia del valor del coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_{La} entre las dos escalas, entendiéndose que para obtener los resultados mencionados debió optimizarse las condiciones de operación a fin de conseguir un pellet del tamaño más pequeño posible.

En este proceso el incremento del número de pellets en el tiempo se dio por la formación de agregados a partir de las esporas inoculadas. Por tanto, fue imprescindible que la agitación suministrada al medio facilite este proceso de formación.

2.1. DETERMINACIÓN DEL MEJOR MEDIO DE CULTIVO PARA EL CRECIMIENTO DEL PELLETT

2.1.1. EL MICROORGANISMO

Para este proceso se empleó una variedad del moho *Aspergillus Niger* obtenido en el Laboratorio de Bioprocesos de la Escuela Politécnica Nacional.

El microorganismo se sembró y conservó en tubos de ensayo bajo refrigeración a 4°C por un período máximo de 1 mes, según lo expresado por Ola Gomma y Heba El Bialy, (2009), hasta utilizarlo en la preparación de los inóculos que se emplearon en el proceso. (p.77)

2.1.2. ESPORAS EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL MEJOR MEDIO DE CULTIVO

2.1.2.1. Composición del medio Czapeck de crecimiento de las esporas de *Aspergillus niger*

El hongo *Aspergillus niger* presenta un crecimiento en esporas y para su desarrollo se empleó el medio de cultivo Czapeck, cuya composición se muestra en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Composición del Medio Czapeck empleado para el cultivo de las esporas de *Aspergillus niger*

| Componente | Concentración (g/l) |
|--------------------------------|---------------------|
| Sacarosa | 30,00 |
| Nitrato de sodio | 2,00 |
| Fosfato de potasio di ácido | 1,00 |
| Sulfato de magnesio | 0,50 |
| Cloruro de potasio | 0,50 |
| Sulfato ferroso heptahidratado | 0,01 |
| Agar | 15,00 |

(Dionisio, 2008, p.101)

Una vez preparado, este medio se esterilizó a 121°C y 20,0 psig durante 20 minutos en un autoclave automático marca BOYN, modelo LDZX-75KBS.

2.1.2.2. Preparación de esporas para el cultivo

El número de esporas que se emplearon en la preparación del inóculo debió ser mínimo de 1×10^6 esporas/mL, ya que, según Tought, *et al.* (1996), una menor concentración de las mismas no permitiría un desarrollo adecuado del microorganismo. (p.640). Para obtener dichas esporas, y según lo indicado por Cadavid (2006), se inocularon varios tubos de ensayo que contenían el medio Czapeck, en una cabina de flujo laminar marca Flow 85H y se cultivó durante 5

días en una estufa marca BOEKEL modelo 132000 a una temperatura 28 °C. (p. 34)

Al término de este período, en cada uno de los tubos se realizó un arrastre de las esporas. Este arrastre se llevó a cabo con la adición de arena estéril, la agitación vigorosa y en la adición de agua estéril a cada uno de los tubos de ensayo. Esto se realizó a fin de facilitar el desprendimiento de las esporas. Una vez hecho esto, a través de una pipeta se consolidó los extractos de cada tubo en un frasco estéril, desde donde se tomó un mililitro de inóculo para realizar sendas siembras en 5 Erlenmeyers que contenían el medio de cultivo Czapeck. Cada uno de los Erlenmeyers se cultivó de la misma forma que los tubos de ensayo.

Una vez que el micelio esporuló totalmente, se arrastró estas esporas según el procedimiento señalado con anterioridad, y se realizaron las diluciones necesarias a fin de determinar por recuento directo el número de esporas presentes por mililitro con la ayuda de un microscopio marca THOMAS SCIENTIFIC Modelo 1220 CM y una placa cuenta glóbulos marca Bright-Line 0,1mm.

2.1.2.3. Esterilización de la arena de arrastre

Previo a la esterilización de la arena se realizó un tamizado en húmedo de la misma con un tamiz U.S.A. STANDARD TESTING SIEVE, marca VWR Scientific AVWR Company, de malla No. 12 correspondiente a una abertura de 1,7 mm (0,0669 in). La fracción positiva de este tamizado se desechó. La fracción negativa, que pasó a través del tamiz, se tamizó nuevamente. Para esto se empleó un tamiz de la misma marca pero de malla No. 14 correspondiente a una abertura de 1,4 mm (0,0555 in), donde se tomó la fracción positiva, que fue la que se empleó como arena de arrastre.

Posterior al proceso de tamizado se lavó la arena, se la colocó en tubos de ensayos tapados dentro de una estufa marca Heraeus W.C a 110°C durante 12 horas, a fin de esterilizarla.

2.1.3. COMPOSICIÓN DEL MEDIO DE PREPARACIÓN DEL PELLET

Para analizar la formación y crecimiento del pellet del *Aspergillus niger* en distintos medios de cultivo se emplearon tres sustratos, utilizados por varios autores con buenos rendimientos, cuya composición se muestra en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2. Composición de los sustratos empleados para la generación del pellet en el proceso de fermentación sumergida con *Aspergillus niger*

| Sustancia | Concentración (g/l) | | |
|--------------------------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| | Cadavid Medio 1 | De Argaez Medio 2 | Prescott Medio 3 |
| Sacarosa | 190 | 150 | 140 |
| NH ₄ NO ₃ | 2,3 | 2,40 | 2,23 |
| MgSO ₄ | 0,3 | ----- | ----- |
| MgSO ₄ *7H ₂ O | ----- | ----- | 0,23 |
| KH ₂ PO ₄ | 1,0 | 0,919 | ----- |
| K ₂ HPO ₄ | ----- | ----- | 1,0 |

(Cadavid, 2006, p. 34; De Argáez, 1969, pp. 25, 28; Prescott, 1960, p. 563)

2.1.4. DISEÑO DEL EXPERIMENTO

Según Madigan, *et al.*, (2003), el proceso de fermentación está directamente relacionado con la composición del medio de cultivo, su pH y el inóculo. Por esto, se hizo necesario evaluar la influencia que tienen dichas variables en la formación y morfología del pellet. (pp. 142, 158).

Con este fin se realizaron 54 experimentos con pruebas por duplicado, para lo cual se emplearon los medios que se muestran en la Tabla 2.2. Estos experimentos se llevaron a cabo en Erlenmeyers de 500 mL con 150 mL de medio para cada prueba y duraron 48 horas, que es el tiempo requerido para la formación de un pellet estable. En cada medio estudiado se manejó 3 niveles de pH (5,8; 6,0 y 6,5) y 6 niveles de esporas inoculadas ($6,26 \pm 0,74 \cdot 10^7$;

$5,25 \pm 0,64 \cdot 10^7$; $4,29 \pm 0,51 \cdot 10^7$; $6,26 \pm 0,85 \cdot 10^6$; $5,36 \pm 0,50 \cdot 10^6$; $4,20 \pm 0,55 \cdot 10^6$ esporas), con un factor de respuesta cuantitativo del número y diámetro de los pellets obtenidos y la concentración de biomasa y con un factor de respuesta cualitativo de la homogeneidad y apariencia del pellet.

Cada experimento se realizó en un shaker con baño termostático incorporado que se mantuvo a 28°C (Madigan, *et al.*, 2003, p. 152). El movimiento longitudinal que el shaker imprimió a los Erlenmeyers, a su vez, se convirtió en un movimiento rotacional del fluido contenido en ellos, equivalente a 160 rpm.

Estos experimentos se realizaron con el objeto de determinar la mejor combinación entre las 54 utilizadas, para emplearla en los experimentos en el reactor.

No se realizaron las pruebas directamente en el reactor ya que según Henao, Correa y Marín, (2006) y Linden, (2002) es necesario tener un medio de preparación para el pellet, con el fin de favorecer el crecimiento adecuado del mismo y evitar que el microorganismo se pegue a las paredes del reactor. (p. 53; p. 4)

Para obtener los factores de respuesta mencionados, se siguieron los procedimientos descritos en la sección siguiente al término del proceso fermentativo.

2.1.4.1. Determinación de los parámetros físicos del microorganismo

➤ Número de pellets

Para determinar el número de pellets se tomó una alícuota que varió desde 10 mL hasta 3 mL de medio dependiendo de la abundancia de pellets en el sistema. Esta alícuota se diluyó con agua destilada a fin de facilitar el conteo del número de pellets y el resultado se reportó como número de pellets/mL.

➤ **Biomasa**

Para determinar la biomasa producida se filtraron y secaron las muestras a 105°C durante 2 horas, según el método de Haq y Daud descrito por Ali, *et al.*, (2003). (p. 819)

Una vez transcurrido el secado, se pesaron las muestras en una balanza analítica marca Boeco Germany de $\pm 0,1$ mg de precisión, con lo que se obtuvo el peso de biomasa en base seca.

➤ **Diámetro del pellet**

Previo al secado de las muestras y una vez filtradas se determinó el diámetro del pellet con un calibrador digital marca Buffalo Tools de $\pm 0,01$ mm de precisión.

2.1.4.2. Análisis cualitativo de los pellets

Para determinar la homogeneidad y apariencia de los pellets se tomó una alícuota de 30 mL y se la colocó en un vaso de precipitación de 500 mL, a fin de separar los pellets y facilitar la observación. En esta alícuota se observaron las diferencias significativas entre el tamaño y forma de los pellets, así como también la cantidad de hifas que estos presentaban en su contorno y en el medio.

Además, se observó si los pellets eran muy porosos o aparentemente compactos, y mediante el tacto se estableció la textura de los mismos.

2.1.4.3. Selección de las condiciones de operación

Para seleccionar las condiciones con las cuales se llevó a cabo las fermentaciones en los reactores de 2 y 14 litros, se separaron aquellas

combinaciones que presentaron buenos resultados tanto cuantitativa como cualitativamente.

De este grupo, se seleccionó la combinación con la cual se obtuvo primeramente el menor diámetro, en segundo lugar el mayor número de pellets y por último la mayor cantidad de biomasa.

2.2. DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES CINÉTICAS PARA EL CRECIMIENTO MICROBIANO

Una vez seleccionado el mejor medio de cultivo y las variables óptimas para la operación, se determinó el método de inoculación para los reactores. Esta experimentación se realizó únicamente en el reactor de 2 litros, donde se probaron dos métodos alternativos.

2.2.1. SELECCIÓN DEL MÉTODO DE INOCULACIÓN

2.2.1.1. Tratamiento del sustrato de fermentación para el reactor de 2

El medio de cultivo empleado para la fermentación en el reactor se sometió a un proceso de filtrado previo al ajuste del pH, para eliminar las impurezas de la sacarosa, ya que estas impiden la adecuada observación del crecimiento del pellet y la determinación de la biomasa.

Para el ajuste del pH se emplearon soluciones de HCl y NaOH 1N, según se requirió. El pH se midió mediante un pHmetro marca Waterproof Family, HANNA instruments, con una precisión de $\pm 0,1$ pH.

A fin de evitar cualquier tipo de contaminación microbiana que podría afectar la fermentación, se esterilizó el medio de cultivo previo a la siembra en el mismo. La esterilización se realizó en dos etapas y se empleó siempre el autoclave

mencionado anteriormente. En la primera etapa se esterilizó el reactor modelo MAP-002 vacío a 121°C y 1,4 atm (20 psig) durante 20 minutos.

En la segunda etapa se esterilizó el medio de cultivo de la misma forma. Mediante la utilización de la cámara de flujo laminar se llenó el reactor con el medio estéril.

No se esterilizó el medio dentro del reactor, ya que se produjeron evaporaciones muy significativas, que en caso de no corregirlas, habrían afectado el proceso de escalado, que tiene relación directa con el nivel de líquido contenido en el reactor.

2.2.1.2.Preparación del inóculo para el reactor de 2 litros y tiempo de fermentación

A fin de determinar un procedimiento de inoculación que permita obtener pellets con buenas características tanto cualitativas y como cuantitativas, se inoculó de 2 formas alternativas en el reactor de 2 litros.

La primera consistió en determinar la cantidad de pellets que existirían en el reactor de 2 litros en caso de tener igual crecimiento que en los Erlenmeyers. Para esto se multiplicó el volumen de operación del reactor por el número de pellets/mL obtenidos en los Erlenmeyers. De esta cantidad de pellets se tomó el 5% según lo recomendado por De Argáez (1969) y se inoculó en el reactor de 2 litros. (p. 28)

La segunda forma de inocular consistió en colocar directamente en el medio de cultivo el número de esporas con el cual se obtuvieron los mejores pellets en los Erlenmeyers.

En ambos casos el proceso de fermentación se llevó a cabo durante 8 días, que es el tiempo recomendado por Henao, *et al*, (2006) y Jangnow y Wolfgang (1991) para que se dé el máximo crecimiento del pellet y por ende la máxima producción de biomasa. (p. 54; p. 92)

La fermentación se llevó a cabo en un microfermentador marca New Brunswick y durante el proceso se controló tanto la temperatura a $28^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ como el nivel de espuma dentro del reactor mediante la adición de 1 mL/h de antiespumante, que es una emulsión de silicona 20% v/v y la aireación se mantuvo a 0,7 vvm (Volumen de Oxígeno/(Volumen de mezcla*minuto)). (Garrido, *et al.*, 1988, pp. 28-29)

2.2.2. PROCESO DE GENERACIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE *ASPERGILLUS NIGER* POR FERMENTACIÓN SUMERGIDA EN LOS REACTORES DE 2 Y 14 LITROS

2.2.2.1. Tratamiento del sustrato de fermentación para los reactores

El tratamiento de esterilización tanto del sustrato como de los reactores fue igual al descrito anteriormente.

2.2.2.2. Preparación del inóculo para los reactores

Para las fermentaciones en los reactores de 2 y 14 litros a partir de las cuales se realizaron los estudios posteriores se inoculó únicamente con el procedimiento que en el reactor de 2 litros permitió obtener los mejores resultados y se llevó a cabo la fermentación empleando los mismos equipos y parámetros descritos en la sección anterior.

2.2.2.3. Determinación de los parámetros físicos del microorganismo

A fin de establecer la velocidad específica de crecimiento microbiano, el valor de la constante cinética y los parámetros físicos del microorganismo y del sustrato, se tomaron 2 muestras de 15 mL de medio al día durante el proceso fermentativo. De estas muestras se tomó una alícuota de 10 mL para el análisis de los

parámetros físicos del sustrato y con los 5 mL restantes se determinó los parámetros físicos del microorganismo.

➤ **Número de pellets**

Para determinar el número de pellets se tomó una alícuota que varió desde 1mL hasta 0,05 mL a medida que se incrementaba la biomasa. Esta alícuota se diluyó con agua destilada a fin de facilitar el conteo del número de pellets/mL.

➤ **Biomasa**

Para determinar la biomasa producida se filtró y secó los 5 mL de muestra a 105°C durante 2 horas, según el método de Haq y Daud descrito por Ali, *et al.*, (2003). (p. 819).

Una vez transcurrido el secado, se pesaron las muestras en una balanza analítica marca Boeco Germany de $\pm 0,1$ mg de precisión, con lo que se obtuvo el peso de biomasa en base seca.

➤ **Diámetro del pellet**

Previo al secado de las muestras y una vez filtradas se determinó el diámetro del pellet con un calibrador digital marca Buffalo Tools de $\pm 0,01$ mm de precisión.

➤ **Densidad de la biomasa**

Para determinar la densidad de la biomasa ρ_s se colocó una muestra de mezcla sustrato-biomasa en un picnómetro y a la densidad así obtenida se restó la densidad del sustrato puro.

2.2.3. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL SUSTRATO

2.2.3.1. Densidad del sustrato

Para obtener la densidad del sustrato se empleó un picnómetro marca Glassco con el cual se determinó la masa de sustrato que ocupa un volumen dado y se empleó la ecuación 2.1.

$$\rho = \frac{M}{V} \quad [2.1]$$

2.2.3.2. Viscosidad aparente del medio

Para determinar la viscosidad aparente del medio se envió 10 mL de muestra al Departamento de Alimentos y Biotecnología (DECAB), donde se realizó un estudio de la reología del medio a distintas velocidades de corte.

2.2.3.3. Esfuerzo cortante

En el presente trabajo no se midió el esfuerzo cortante (τ), sino únicamente la viscosidad aparente (μ_a) a distintas velocidades de corte ($\dot{\gamma}$). No obstante, este esfuerzo pudo ser calculado mediante la ecuación 2.2.

$$\tau = \frac{F}{A} = \mu_a * \dot{\gamma} \quad [2.2]$$

2.2.3.4. Índice de consistencia (K) e índice de comportamiento del fluido (n)

Para calcular estos índices y debido al comportamiento no newtoniano del medio, se aplicó la ley de potencia, que se puede apreciar en la ecuación 1.10, de la sección 1.1.6.3. Por esta razón, el índice de comportamiento del fluido (n) estuvo

representado por el valor de la pendiente de la recta que se obtuvo al graficar $\text{Log}(u)$ vs. $\text{Log}(\dot{\gamma})$, mientras que el índice de consistencia (K) se representó como el punto de corte en el eje de las abscisas de esta misma gráfica.

2.2.4. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO MICROBIANO EN FUNCIÓN DEL AZÚCAR CONSUMIDA

Para estimar el azúcar consumida por el microorganismo al término del proceso, se determinó los azúcares reductores y azúcares totales iniciales y finales del sustrato. Para esto se envió 150 mL de muestra filtrada al Departamento de Alimentos y Biotecnología (DECAB), donde se empleó el método espectrofotométrico DNS (Dinitrosalicílico) de acuerdo con Miller, (1959). (p.376).

Como los azúcares que los microorganismos pueden consumir, son los que pueden reducirse, estos se calcularon a través de la ecuación 2.3.

$$AZ_r = AZ_t - AZ_{red} \quad [2.3]$$

Donde:

AZ_r : Azúcares reducibles, kg

AZ_t : Azúcares totales, kg

AZ_{red} : Azúcares reductores, kg

Con estos resultados, y los de la biomasa generada, se empleó la ecuación 2.4, para determinar el rendimiento de producción de biomasa en relación a la masa de los azúcares consumida ($Y_{(m/o)/S}$).

$$Y_{(m/o)/S} = \frac{M_o - M_f}{AZ_{r_o} - AZ_{r_f}} \quad [2.4]$$

Donde:

| | |
|--------------|-----------------------------------|
| M_0 : | Biomasa inicial, kg |
| M_f : | Biomasa final, kg |
| Az_{r_0} : | Azúcares reducibles iniciales, kg |
| Az_{r_f} : | Azúcares reducibles finales, kg |

2.2.5. ESTIMACIÓN DE LA VELOCIDAD ESPECÍFICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO

Para el cálculo experimental de la velocidad específica de crecimiento microbiano se integró la ecuación 2.5, que representa el incremento de la biomasa en el tiempo.

De esta integración se obtuvo la ecuación 2.6, la misma que también permitió estimar el valor de la constante cinética de crecimiento microbiano, (u_{max}), que corresponde a la velocidad específica de crecimiento (u) en la fase exponencial.

$$\frac{dM}{dt} = u \cdot M \quad [2.5]$$

$$u = \frac{\ln\left(\frac{M_2}{M_1}\right)}{(t_2 - t_1)} \quad [2.6]$$

Donde:

| | |
|---------|---|
| u : | Velocidad específica de crecimiento microbiano |
| M_2 : | Biomasa generada a t_2 , kg |
| M_1 : | Biomasa generada a t_1 , kg |
| t_1 : | Primer tiempo de fermentación de un periodo dado, h |
| t_2 : | Tiempo en el cual finaliza el periodo, h |

2.3. INFLUENCIA DE LA AGITACIÓN EN LA TRANSFERENCIA DE MASA Y TAMAÑO DEL FLÓCULO

La agitación es una de las variables más importantes en cualquier proceso de fermentación aeróbica. Esto es así porque si la agitación fuera deficiente no se produciría una correcta transferencia de oxígeno, mientras que si fuera excesiva, se podría distorsionar el crecimiento microbiano. Por este motivo fue de vital importancia determinar la relación entre la velocidad de agitación, el coeficiente de transferencia de masa k_{La} , y el tamaño de pellet obtenido.

2.3.1. INFLUENCIA DE LA AGITACIÓN EN LA TRANSFERENCIA DE MASA

Para determinar la influencia entre la agitación y la transferencia de masa, se midió el coeficiente global de transferencia de masa k_{La} para diferentes niveles de agitación (500, 600, 700 y 800 rpm).

2.3.1.1. Determinación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_{La}

Para determinar el coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_{La} se evaluó la concentración de oxígeno disuelto en el medio de cultivo mediante el método dinámico de Taguchi y Humprey descrito por Stanbury, (1995). (pp. 249-250).

Para llevar a cabo este procedimiento se utilizó un electrodo polarográfico esterilizable, marca Mettler Toledo, modelo InPro 6800, de 120 mm de altura de inmersión. Las concentraciones detectadas por el electrodo se captaron a través de un transmisor de la misma marca, modelo M300, con una precisión de $\pm 0,1$ ppm.

Este método se realizó en dos etapas, en las que se observó el cambio en la concentración de oxígeno disuelto en el medio de cultivo, que se relaciona a la transferencia de masa en él. Para esto se empleó la ecuación 2.7.

$$\frac{dC_L}{dt} = K_L a^* (C_g^* - C_L) - Q_{O_2} * X \quad [2.7]$$

Donde:

C_L : Concentración de oxígeno disuelto, mmoles O_2 / m^3

En la primera etapa del método se cerró el suministro de aire al medio, lo que produjo un decremento en la concentración del oxígeno disuelto debido a la respiración microbiana. En esta etapa se calculó la tasa específica de respiración microbiana Q_{O_2} , que estuvo representada por la pendiente de la curva que se obtuvo al graficar C_L versus t .

En esta etapa es importante acotar que, por requerimiento del microorganismo utilizado se trabajó siempre con concentraciones de oxígeno disuelto superiores al 40% de la concentración de saturación. Esto se realizó de esta forma en atención a la recomendación de Garrido, para no afectar el crecimiento microbiano. (Garrido, *et al.*, 1988, págs. 26-27)

En la segunda etapa se reanudó el ingreso de aire al sistema, con lo que se incrementó la concentración de oxígeno disuelto, lo que permitió determinar el coeficiente volumétrico de transferencia de masa $K_L a$, según la integración de la ecuación 2.7, como se muestra en la ecuación 2.8. Para esta integración se consideró despreciable el factor $Q_{O_2} * X$ debido a que no hay limitación de oxígeno.

$$n \left(\frac{C_g^* - C_{Lo}}{C_g^* - C_L} \right) = K_L a^* (t_2 - t_1) \quad [2.8]$$

Donde:

C_{Lo} : Concentración de oxígeno disuelto con que se inicia la segunda etapa del método, ppm O_2

t_1 : Tiempo en el que se inicia la segunda etapa del método, s

t_2 : Tiempo a determinada concentración de oxígeno disuelto (C_L), s

El coeficiente volumétrico de transferencia de masa $K_L a$, se determinó al realizar la gráfica de $\ln\left(\frac{C_g^* - C_{Lo}}{C_g^* - C_L}\right)$ versus $(t_2 - t_1)$, ya que representa a la pendiente de la misma.

En este trabajo, los cambios de concentración en el oxígeno disuelto en las dos etapas del proceso se midieron dos veces al día, para correlacionar estas medidas con las medidas de la viscosidad aparente del medio, que a su vez, tienen relación con los parámetros físicos del pellet.

2.3.2. INFLUENCIA DE LA AGITACIÓN EN EL TAMAÑO DEL PELLET

A fin de determinar la influencia de la velocidad de agitación en el tamaño y estructura del pellet se trabajó con dos niveles de agitación.

El primer nivel correspondió a niveles bajos de agitación de 60, 100, 120 y 140 rpm, este rango bajo se empleó con el fin de no alterar la estructura esférica del pellet, ya que éste es extremadamente frágil. (Byung-Hwan *et al.*, 2008, p. 1095; Ola Gomaa, *et al.*, 2009, p. 78)

El segundo nivel comprendió niveles de agitación altos de 500, 600, 700 y 800 rpm, ya que según lo recomendado por Tought, *et al.*, (1996) estos darían mejores propiedades al pellet. (p. 641)

Para determinar los parámetros físicos del microorganismo se tomaron 2 muestras al día para cada uno de los niveles mencionados de agitación, en las cuales, mediante el procedimiento descrito en la sección 2.2.2.3, se midió el diámetro y el número de pellets, así como la cantidad de biomasa formada, lo que permitió observar cualitativamente la abundancia relativa de hifas presentes en el medio.

2.4. RELACIÓN ENTRE LA VELOCIDAD DE CRECIMIENTO DEL PELLET Y LA CONCENTRACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO EN LA MASA DEL MEDIO DE CULTIVO

En principio el crecimiento del pellet está relacionado con la concentración de oxígeno en su superficie, y esta concentración, a su vez, se relaciona con el coeficiente de transferencia de masa k_La . Por su parte, el coeficiente volumétrico k_La controla la transferencia de oxígeno desde la burbuja hacia el medio en tanto la concentración de oxígeno en éste no sea la concentración de saturación.

Según se puede observar en la ecuación 2.10, el coeficiente volumétrico de transferencia de masa es directamente proporcional a la velocidad de agitación y a la aireación e inversamente proporcional a la viscosidad aparente del medio. Como esta viscosidad fue variable, el coeficiente k_La también lo fue.

Por lo mencionado, fue necesario evaluar la relación entre el coeficiente volumétrico k_La y la velocidad de crecimiento del pellet, para las distintas velocidades de agitación, lo que a su vez es una medida indirecta de la influencia de la agitación en el pellet. Con este fin, se realizaron 4 experimentaciones en cada reactor, una por cada velocidad de agitación (500, 600, 700 y 800 rpm) y se trabajó con una aireación (V) de 0,7 vvm, que siempre se mantuvo constante.

En las experimentaciones mencionadas se midió el coeficiente volumétrico de transferencia de masa 2 veces al día a lo largo de la fermentación, mediante el método descrito en la sección 2.3.1.1, y también se tomó muestras del medio de cultivo 2 veces al día, a fin de determinar el tamaño del pellet según el método descrito en la sección 2.2.2.3.

Finalmente, para determinar la relación entre velocidad de crecimiento del pellet y el coeficiente volumétrico de transferencia de masa (k_La), se construyó una curva de la variación del diámetro del pellet vs. tiempo de fermentación, que se comparó con la curva de la variación del k_La vs. tiempo.

2.5. FORMULACIÓN DEL MODELO MATEMÁTICO PARA REPRESENTAR LA RELACIÓN ENTRE EL COEFICIENTE $k_L a$ DE TRANSFERENCIA DE MASA DE LA FERMENTACIÓN, LA AIREACIÓN Y LA VELOCIDAD DE AGITACIÓN EN LOS 2 REACTORES

El coeficiente volumétrico de transferencia de masa fue el parámetro que permitió realizar el escalado de este proceso. A pesar de eso también fue necesario calcular la potencia de agitación por unidad de volumen (P/V) con y sin aireación, para cada una de las velocidades de agitación con las cuales se trabajó.

2.5.1. ESTIMACIÓN DE LA POTENCIA POR UNIDAD DE VOLUMEN

La potencia de agitación por unidad volumen (P/V) se define como la potencia transferida al eje de la turbina de agitación. Sin embargo, en este trabajo se despreciaron las irreversibilidades por pérdida de calor al medio ambiente, y la potencia se estimó, para condiciones con y sin aireación mediante la ecuación 2.9.

$$\frac{P}{V} = \frac{I * V_o}{V} \quad [2.9]$$

Donde:

I: Corriente generada en el motor, A

Vo: Voltaje generado en el motor, V

Para medir el voltaje y la corriente del sistema para los reactores de 2 L y 14 L con cada una de las velocidades de agitación de operación, se empleó un multímetro de pinza de corriente continua marca Fluke 337, con una precisión de $\pm 0,1$ V y $\pm 0,1$ A.

La potencia por unidad de volumen se determinó al mismo tiempo que la toma de muestra, con el fin de establecer si, a través del tiempo hubo un efecto de la viscosidad del medio sobre la potencia eléctrica demandada.

2.5.2. RELACIÓN ENTRE EL COEFICIENTE VOLUMÉTRICO DE TRANSFERENCIA DE MASA Y LA VELOCIDAD DE AGITACIÓN

La fermentación micelial con formación de pellet, es una fermentación altamente viscosa y pseudoplástica como se estudió en la sección 1.1.5.6, y cuyo incremento de biomasa genera una disminución exponencial en el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno.

A fin de obtener un modelo matemático que relacione la potencia transferida al medio por unidad de volumen, la velocidad superficial del aire y la viscosidad aparente del medio, se empleó la ecuación 2.10 dada por Linden, *et al.*, (2002). (p. 170)

$$k_L a = b * \left(\frac{P_g}{V_m} \right)^c * V_s^e * \mu_a^f \quad [2.10]$$

Donde:

$\frac{P_g}{V_m}$: Potencia por unidad de volumen en un sistema aireado kW/m³

Es importante mencionar que en los casos de agitación en medios Newtonianos, la ecuación 2.10 carece del factor de la viscosidad, ya que esta no cambia con el esfuerzo cortante y por ende no afecta la transferencia de masa (Paul, *et al.*, 2004, pp. 627,1086; Quintero, 1981, p. 102)

La velocidad superficial del aire (V_s) se calculó como el cociente entre el flujo volumétrico de aireación y el área transversal del reactor, para cada uno de los reactores.

A lo largo del proceso de fermentación se obtuvieron diversos valores tanto de la viscosidad como del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, y para la modelización del proceso se tomó el valor de viscosidad más alto y el coeficiente volumétrico correspondiente, ya que este valor de viscosidad muestra el escenario más drástico para la transferencia de oxígeno desde la burbuja de aire hacia el medio de cultivo.

Con el fin de calcular los coeficientes b, c, e y f de la ecuación 2.10, se realizó una gráfica de $k_L a$ versus $\frac{P_g}{V} * V_s * \mu$ y con ayuda del programa estadístico Statgraphics® Centurion XV se obtuvieron los valores deseados.

La velocidad de agitación está relacionada con la potencia por unidad de volumen que se tiene en el reactor tanto en el sistema aireado como cuando se ha cerrado el suministro de aire, lo cual se describe mediante la ecuación 2.11. (Doran, 1998, p. 159; Paul, *et al.*, 2004, p. 1081; Stanbury, 1995, p. 259)

$$\frac{P_g}{P} = 0,1 * \left(\frac{g * W * V^{2/3}}{N^2 * d^4} \right)^{0,2} * \left(\frac{N * V}{Q} \right)^{0,25} \quad [2.11]$$

Donde:

- Pg: Potencia en un sistema aireado, W
- P: Potencia sin aireación, W
- g: Gravedad, m/s²
- W: Ancho de la paleta del agitador, m
- N: Velocidad de agitación, rpm
- d: Diámetro del agitador, m
- Q: Flujo volumétrico del aire, m³/s

La relación entre la ecuación 2.10 y 2.11 permitió determinar la dependencia que existe entre el coeficiente volumétrico de transferencia de masa y la velocidad de agitación.

2.5.3. RELACIÓN ENTRE EL CRECIMIENTO MICROBIANO Y LA VELOCIDAD DE AGITACIÓN

La agitación empleada en la fermentación en estudio se realizó mediante un juego de 3 turbinas tipo Rushton.

Con el fin de relacionar el efecto que presenta la velocidad de agitación sobre el crecimiento microbiano, fue necesario encontrar una serie de relaciones, que permitan evaluar la dependencia entre el incremento del diámetro del pellet y la velocidad de agitación.

La primera relación que se debió encontrar fue la de la dependencia existente entre la constante de crecimiento microbiano y la biomasa producida, para lo cual se empleó la ecuación de Monod 2.12.

$$u = \frac{u_{\max} * S}{k_s + S} \quad [2.12]$$

Donde:

u_{\max} : Constante cinética de crecimiento microbiano (s^{-1})

k_s : Constante biológica del microorganismo que representa la concentración de sustrato a la cual se alcanza una velocidad de crecimiento igual a la mitad de la máxima, kg sustrato/ m^3 .

S: Concentración de sustrato, kg sustrato/ m^3

Al derivar la ecuación 2.12 en función del tiempo, se obtuvo la ecuación 2.13.

$$\frac{du}{dt} = \frac{u_{\max} * k_s * dS}{(k_s + S)^2 * dt} \quad [2.13]$$

La variación de la concentración del sustrato versus el tiempo en función de la constante cinética y la biomasa, se halla descrita por la ecuación 2.14.

$$\frac{dS}{dt} = \frac{-u * M}{Y_{(m/o)/s}} \quad [2.14]$$

Mientras que la ecuación 2.15 describe la cinética microbiana de primer orden.

$$\frac{dM}{dt} = u * M \quad [2.15]$$

Si se considera al pellet como una esfera su volumen está relacionado con el radio, como se muestra en la ecuación 2.16.

$$V_p = \frac{4}{3} * \pi * r^3 \quad [2.16]$$

Donde:

V_p : Volumen del pellet

r : Radio del pellet

Si se considera a la biomasa como un conjunto único de pellets y que su densidad (ρ_s) no varía con el tiempo, la ecuación 2.16 puede expresarse en función de la biomasa de la siguiente manera:

$$M = \frac{4}{3} * \rho_s * \pi * r^3 \quad [2.17]$$

Para conocer la velocidad de crecimiento del pellet (dr/dt) en función del incremento de la biomasa generada, se derivó la ecuación 2.17, con lo que se obtuvo la ecuación 2.18:

$$\frac{dr}{dt} = \frac{1}{4 * \rho_s * \pi * r^2} * \frac{dM}{dt} \quad [2.18]$$

Al integrar numéricamente las ecuaciones 2.13, 2.14, 2.15 y 2.18 se obtuvieron gráficos de M vs. t y r vs. t , que describen el comportamiento de la fermentación que es motivo de estudio de este trabajo. Para relacionar estas variables con el protocolo de escalado, se empleó la ecuación 2.10, que es estándar en este campo de estudio, y que se empleó en el escalado realizado por Guerra, Izurieta y Páez, (2011). (p. 3)

El parámetro de escalado de la ecuación 2.10, que permitió relacionar dichas variables con el protocolo de escalado fue la potencia por unidad de volumen (P_g/V_m), ecuación 2.19, ya que el volumen del medio varía en función de la masa existente en el sistema y de su densidad como se puede observar en la ecuación 2.20.

$$\frac{P_g}{V_m} = \frac{\text{Potencia con aireación}}{\text{Volumen del medio}} \quad [2.19]$$

$$V_m = \frac{M_m}{\rho_m} \quad [2.20]$$

Donde:

V_m : Volumen de la mezcla biomasa – medio de cultivo, m^3

M_m : Masa de la mezcla biomasa – medio de cultivo, Kg

ρ_m : Densidad de la mezcla biomasa – medio de cultivo, Kg/m^3

La masa de la mezcla se puede representar como la adición entre la masa del medio de cultivo (M_L) y la biomasa generada (M) a lo largo del proceso fermentativo, como se puede observar en la ecuación 2.21.

$$M_m = M + M_L \quad [2.21]$$

Se considera que la masa del medio de cultivo (M_L) se mantiene constante en el proceso fermentativo, mientras que la variación de la biomasa en el proceso está

representada por la ecuación 2.15, lo que permite conocer la variación que presenta la masa de la mezcla durante la fermentación.

La densidad de la mezcla se determinó mediante la ecuación 2.22, que representa una relación entre la concentración en peso de la biomasa (w/w) y la densidad de la biomasa y el sustrato.

$$\rho_m = \frac{\rho^* \rho_s}{\rho^* w/w + \rho_s^* (1 - w/w)} \quad [2.22]$$

Las ecuaciones 2.13, 2.14, 2.15, 2.18, 2.19, 2.20, 2.21 y 2.22, permitieron determinar la influencia que presenta el incremento del diámetro del pellet y su subsecuente incremento de biomasa en el volumen de la mezcla y por lo tanto en la potencia por unidad de volumen del sistema, y mediante las ecuaciones 2.10 y 2.11, se obtuvo la velocidad de agitación en el escalado.

A fin de relacionar las variables mencionadas, se llevó a cabo una simulación digital del proceso mediante el programa Visual Basic Applications de MS Excel™, cuyo algoritmo de simulación, se puede observar en la Figura 2.1.

Cabe indicar que a pesar de que las experimentaciones se realizaron en los 2 reactores, para el escalado se tomaron los datos experimentales del reactor de 2 litros a excepción de las constantes b , c , e y f de la ecuación 2.10, que correspondieron a valores experimentales del reactor de 14 litros, al igual que las características de las paletas de agitación empleadas en la ecuación 2.11, lo que permitió escalar el proceso del reactor de 2 litros al de 14 litros.

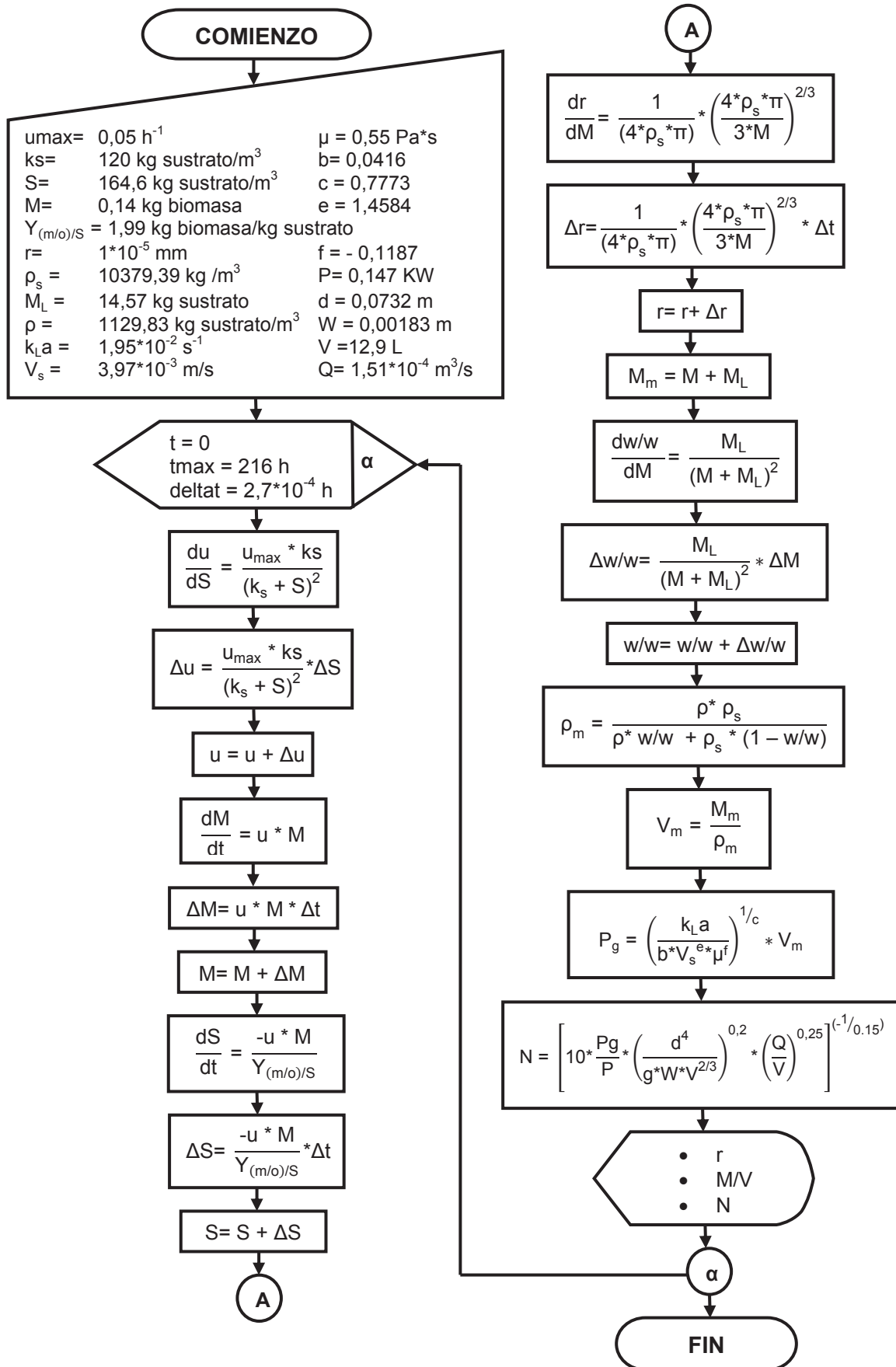


Figura 2.1. Algoritmo de simulación para el proceso de fermentación sumergida con *Aspergillus niger*

2.6. VERIFICACIÓN DE LA IDONEIDAD DE LOS PARÁMETROS DE ESCALADO OBTENIDOS DEL MODELO MATEMÁTICO PARA EL CRECIMIENTO DEL PELLET EN LOS DOS REACTORES MEDIANTE LA FERMENTACIÓN SUMERGIDA DE SACAROSA CON *ASPERGILLUS NIGER*

2.6.1. GENERACIÓN DEL PROTOCOLO DE ESCALADO

El protocolo de escalado incluye una serie de pasos, que permiten llevar a cabo el proceso en estudio. Dichos pasos se describen a continuación:

1. Establecer el valor del coeficiente de transferencia de masa ($k_L a$) de la escala de 2 litros que obtuvo el menor diámetro y mayor número de pellets, y la mayor concentración de biomasa en la escala de 2 litros.
2. Fijar el parámetro de escalado que se mantendrá constante en la mayor escala, mediante el uso de la ecuación 2.10. En el caso específico de este trabajo, dicho parámetro fue la velocidad superficial de aire (V_s).

La velocidad superficial de aire tanto para el reactor de 2 Litros como para el de 14 Litros, fue calculada a través de las siguientes ecuaciones:

$$V_{s2L} = \frac{Q_{2L}}{\pi/4 * D_{2L}^2} \qquad V_{s14L} = \frac{Q_{14L}}{\pi/4 * D_{14L}^2} \qquad [2.23]$$

Donde:

Q_{2L} : Flujo de aireación en el fermentador de 2 litros, m^3/s

Q_{14L} : Flujo de aireación en el fermentador de 14 litros, m^3/s

D_{2L} : Diámetro del fermentador de 2 litros, m

D_{14L} : Diámetro del fermentador de 14 litros, m

Para mantener constante la velocidad superficial en las 2 escalas, fue necesario igualar las velocidades, como se muestra en la ecuación 2.24 y en la Figura 2.2.

$$\frac{Q_{2L}}{\pi/4 * D_{2L}^2} = \frac{Q_{14L}}{\pi/4 * D_{14L}^2} \quad [2.24]$$

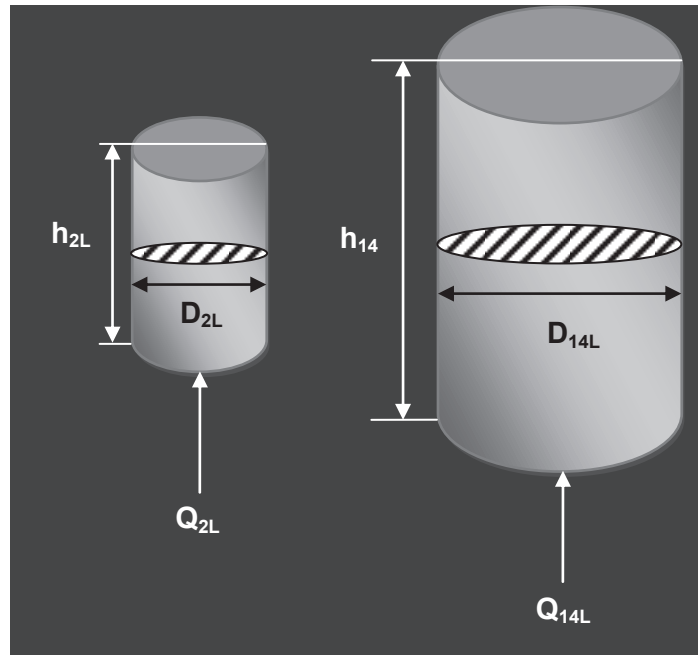


Figura 2.2. Dimensiones de los reactores de 2 y 14 Litros

Al despejar el flujo de aire del reactor de 14 litros (Q_{14L}) de la ecuación 2.23, se tiene la ecuación 2.25:

$$Q_{14L} = \frac{D_{14L}^2 * Q_{2L}}{D_{2L}^2} \quad [2.25]$$

La ecuación 2.24 permitió determinar el suministro de aire que se requiere en el reactor de 14 litros a fin de mantener constante la velocidad superficial de aire con la que se trabajó en el reactor de 2 litros. En este trabajo el flujo de aire se mantuvo en 0,7 vvm.

- Despejar la potencia por unidad de volumen (P_g/V_m) de la ecuación de escalado 2.10, con lo que se tiene la ecuación 2.26:

$$\frac{P_g}{V_m} = \left(\frac{k_L a}{b \cdot V_s^e \cdot \mu^f} \right)^{1/c} \quad [2.26]$$

Para determinar los valores de los exponentes de la ecuación 2.26, se empleó una regresión multinomial con la ayuda del programa estadístico Statgraphics® Centurion XV.

Para calcular la potencia por unidad de volumen del escalado se emplearon los coeficientes b, c, e y f obtenidos de la experimentación realizada en el reactor de 14 litros, mientras que el coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$ que se empleó, fue el óptimo de la escala de 2 litros.

4. Finalmente, se debió calcular la velocidad de agitación que sería empleada en la mayor escala, para lo cual se utilizó la ecuación 2.27, que resulta del despeje de la velocidad de agitación de la ecuación 2.11.

$$N = \left[10 \cdot \frac{P_g}{P} \cdot \left(\frac{Q}{V} \right)^{0,25} \cdot \left(\frac{d^4}{g \cdot W \cdot V^{2/3}} \right)^{0,2} \right]^{1/-0,15} \quad [2.27]$$

En esta ecuación se introdujo el valor de la potencia por unidad de volumen obtenido de la ecuación 2.26, el flujo volumétrico obtenido de la ecuación 2.25 y las dimensiones de las paletas del reactor de 14 litros.

2.6.2. VERIFICACIÓN DE LA IDONEIDAD DEL PROTOCOLO DE ESCALADO

Para verificar la idoneidad del protocolo de escalado, se realizó una fermentación en el reactor de 2 litros con la velocidad de agitación a partir de la cual se llevó a cabo el escalado y otra en el reactor de 14 litros con la velocidad de agitación obtenida de la simulación. Estas fermentaciones duraron 8 días, donde se determinaron los parámetros físicos del microorganismo, como se indica en la sección 2.2.2.3.

Además, durante el proceso fermentativo, se determinó el coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$ según se indica en la sección 2.3.1.1.

Estos procedimientos de verificación se realizaron a fin de observar las posibles fluctuaciones que podrían presentar las variables mencionadas en relación con los valores obtenidos en el proceso del cual se ha realizado el escalado.

En estas fermentaciones la concentración del inóculo y la composición del medio de fermentación, fue la misma que la que se empleó en los procesos fermentativos realizados previo al escalado.

2.6.3. DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN ENTRE LOS DATOS EXPERIMENTALES Y LOS OBTENIDOS MEDIANTE LA SIMULACIÓN DIGITAL

Para determinar la significación de las fluctuaciones presentes entre los datos obtenidos experimentalmente del diámetro de pellet y la concentración de biomasa y los de la simulación digital, se construyó el estimador chi cuadrado (valor calculado) de acuerdo a lo indicado por Espallargas. (Espallargas, 2011, pp. 92-93). Para esto se empleó la ecuación 2.28.

$$\sigma^2 = \frac{(D_s - D_{Exp})^2}{D_{Exp}} \qquad \sigma^2 = \frac{(X_s - X_{Exp})^2}{X_{Exp}} \qquad [2.28]$$

Donde:

D_s : Diámetro de pellet obtenido mediante simulación digital, mm

D_{Exp} : Diámetro de pellet obtenido mediante la experimentación, mm

X_s : Concentración de biomasa obtenida mediante simulación digital, kg de biomasa seca/m³ de medio

X_{Exp} : Concentración de biomasa obtenida mediante la experimentación, kg de biomasa seca/m³ de medio

σ^2 : Estimador chi cuadrado

El valor de este estimador se comparó con los grados de libertad (valor esperado) del conjunto en estudio. Cuando el valor calculado o chi cuadrado es menor al valor esperado se pudo deducir que la desviación entre los datos experimentales y los de la simulación no fue significativa.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. SELECCIÓN DEL MEJOR MEDIO DE CULTIVO PARA EL CRECIMIENTO DEL PELLET

Los factores de respuesta tanto cuantitativos como cualitativos de las experimentaciones (Muestra A) y de sus paralelas (Muestra B) están reportados en la Tabla 3.1, Tabla 3.2, Tabla 3.3, Tabla 3.4, Tabla 3.5 y Tabla 3.6.

Como se puede observar en las tablas mencionadas, en general cuando el número de pellets es mayor, también se incrementa el nivel de homogeneidad en la distribución, se tiene menor cantidad de hifas en el contorno de los pellets y mayor compactación de los mismos.

En la Tabla 3.7, se muestran las combinaciones que permitieron obtener buenas características cuantitativas y cualitativas de los pellets. En esta tabla se puede notar que el Medio 2 descrito en la Tabla 2.2 permitió obtener mayor cantidad de estas combinaciones, a demás, que con este medio se obtuvieron menores diámetros de pellet, que con el Medio 1 y 3.

Como el tamaño de pellet fue el criterio de selección más importante en este trabajo, se descartaron las combinaciones obtenidas con los otros medios y se seleccionó la combinación que con el Medio 2 permitió primeramente obtener el menor diámetro de pellet.

Una vez especificada la combinación con la cual se obtuvo el menor diámetro de pellet, se seleccionó la que obtuvo el mayor número de pellets y finalmente se tomó en cuenta aquella combinación que dio como resultado la mayor cantidad de biomasa.

Tabla 3.1. Resultados del número, diámetro, biomasa, homogeneidad, apariencia y textura de los pellets para la muestra A al emplear el medio 1 para la preparación del pellet

| Datos | | | Muestra A | | | | | |
|---------|-----|------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------|------------------------------|--------------------------|------------|
| Medio | pH | # de esporas | Características cuantitativas | | | Características cualitativas | | |
| | | | Número de Pellets/mL | Diámetro de pellet (mm) | Biomasa (g) | Homogeneidad | Apariencia | Textura |
| Medio 1 | 5,8 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 1 | $2,05 \pm 0,13$ | 0,9961 | Muy baja | Forma irregular | Porosa |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 8 | $2,12 \pm 0,07$ | 1,0324 | Regular | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 6 | $2,16 \pm 0,08$ | 1,3344 | Regular | Pocas hifas en el borde | Compacta |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 1 | $2,89 \pm 0,07$ | 0,2404 | Regular | Forma irregular | Porosa |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 15 | $2,02 \pm 0,03$ | 0,8707 | Muy buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 5 | $1,86 \pm 0,03$ | 0,7324 | Buena | Pocas hifas en el borde | Porosa |
| | 6,0 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 2 | $2,69 \pm 0,12$ | 0,9071 | Baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 5 | $2,10 \pm 0,10$ | 0,8597 | Baja | Sin irregularidades | Porosa |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 11 | $2,27 \pm 0,05$ | 1,1400 | Buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 2 | $1,61 \pm 0,10$ | 0,9304 | Baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 2 | $2,16 \pm 0,14$ | 0,8516 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 1 | $2,01 \pm 0,15$ | 0,8372 | Muy baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | 6,5 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 3 | $2,18 \pm 0,09$ | 1,2522 | Regular | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 1 | $1,94 \pm 0,13$ | 1,1387 | Muy baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 6 | $2,12 \pm 0,07$ | 0,9108 | Regular | Pocas hifas en el borde | Compacta |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 7 | $2,01 \pm 0,05$ | 0,9597 | Buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 1 | $2,80 \pm 0,14$ | 0,2176 | Muy baja | Forma irregular | Porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 1 | $1,54 \pm 0,13$ | 0,7004 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |

$\bar{x} \pm \sigma$ (n = 10)

Tabla 3.2. Resultados del número, diámetro, biomasa, homogeneidad, apariencia y textura de los pellets para la muestra B al emplear el medio 1 para la preparación del pellet

| Datos | | | Muestra B | | | | | |
|---------|-----|------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------|------------------------------|--------------------------|------------|
| Medio | pH | # de esporas | Características cuantitativas | | | Características cualitativas | | |
| | | | Número de Pellets/mL | Diámetro de pellet (mm) | Biomasa (g) | Homogeneidad | Apariencia | Textura |
| Medio 1 | 5,8 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 2 | $1,95 \pm 0,13$ | 1,1011 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 8 | $2,16 \pm 0,05$ | 0,9987 | Buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 7 | $2,12 \pm 0,08$ | 1,4653 | Regular | Pocas hifas en el borde | Compacta |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 2 | $2,43 \pm 0,10$ | 0,3256 | Baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 16 | $2,04 \pm 0,02$ | 0,9456 | Muy buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 4 | $1,76 \pm 0,07$ | 0,6749 | Regular | Pocas hifas en el borde | Porosa |
| | 6,0 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 1 | $2,82 \pm 0,14$ | 0,8292 | Muy baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 4 | $2,17 \pm 0,09$ | 0,7241 | Regular | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 11 | $2,18 \pm 0,03$ | 1,2896 | Muy buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 3 | $1,57 \pm 0,10$ | 0,5398 | Baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 3 | $2,12 \pm 0,12$ | 0,9781 | Baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 2 | $1,92 \pm 0,09$ | 0,9576 | Regular | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | 6,5 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 4 | $2,10 \pm 0,09$ | 1,3345 | Regular | Pocas hifas en el borde | Porosa |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 2 | $1,87 \pm 0,11$ | 1,2547 | Baja | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 7 | $2,07 \pm 0,06$ | 1,0237 | Buena | Pocas hifas en el borde | Compacta |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 7 | $2,00 \pm 0,04$ | 0,8773 | Buena | Pocas hifas en el borde | Compacta |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 1 | $2,94 \pm 0,13$ | 0,2273 | Muy baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 1 | $1,56 \pm 0,14$ | 0,7028 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Porosa |

$\bar{x} \pm \sigma$ (n = 10)

Tabla 3.3. Resultados del número, diámetro, biomasa, homogeneidad, apariencia y textura de los pellets para la muestra A al emplear el medio 2 para la preparación del pellet

| Datos | | | Muestra A | | | | | |
|---------|-----|------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------|------------------------------|--------------------------|------------|
| Medio | pH | # de esporas | Características cuantitativas | | | Características cualitativas | | |
| | | | Número de Pellets/mL | Diámetro de pellet (mm) | Biomasa (g) | Homogeneidad | Apariencia | Textura |
| Medio 2 | 5,8 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 3 | $2,28 \pm 0,08$ | 0,5694 | Regular | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 5 | $2,72 \pm 0,07$ | 0,7017 | Regular | Pocas hifas en el borde | Compacta |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 3 | $2,64 \pm 0,09$ | 0,3544 | Regular | Pocas hifas en el borde | Porosa |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 2 | $1,89 \pm 0,10$ | 0,2979 | Baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 5 | $2,41 \pm 0,07$ | 0,4579 | Regular | Forma irregular | Porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 2 | $2,28 \pm 0,13$ | 0,3923 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | 6,0 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 4 | $2,29 \pm 0,07$ | 0,5935 | Regular | Pocas hifas en el borde | Porosa |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 4 | $2,36 \pm 0,08$ | 0,4864 | Regular | Pocas hifas en el borde | Porosa |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 8 | $2,28 \pm 0,08$ | 0,3276 | Regular | Sin irregularidades | Porosa |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 4 | $2,40 \pm 0,09$ | 0,5290 | Regular | Pocas hifas en el borde | Porosa |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 3 | $2,29 \pm 0,10$ | 0,3315 | Baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 5 | $2,13 \pm 0,07$ | 0,2654 | Regular | Pocas hifas en el borde | Porosa |
| | 6,5 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 8 | $2,26 \pm 0,04$ | 1,0670 | Buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 13 | $1,89 \pm 0,02$ | 0,4513 | Muy buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 8 | $1,99 \pm 0,05$ | 0,5103 | Buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 19 | $1,45 \pm 0,01$ | 0,5966 | Muy buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 1 | $2,23 \pm 0,13$ | 0,7449 | Muy baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 4 | $2,22 \pm 0,09$ | 0,3631 | Regular | Sin irregularidades | Porosa |

$\bar{x} \pm \sigma$ (n = 10)

Tabla 3.4. Resultados del número, diámetro, biomasa, homogeneidad, apariencia y textura de los pellets para la muestra B al emplear el medio 2 para la preparación del pellet

| Datos | | | Muestra B | | | | | |
|---------|-----|------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------|------------------------------|--------------------------|------------|
| Medio | pH | # de esporas | Características cuantitativas | | | Características cualitativas | | |
| | | | Número de Pellets/mL | Diámetro de pellet (mm) | Biomasa (g) | Homogeneidad | Apariencia | Textura |
| Medio 2 | 5,8 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 4 | $2,16 \pm 0,08$ | 0,6195 | Regular | Pocas hifas en el borde | Porosa |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 4 | $1,20 \pm 0,07$ | 0,6443 | Regular | Pocas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 3 | $2,61 \pm 0,10$ | 0,3863 | Baja | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 2 | $1,86 \pm 0,11$ | 0,3217 | Baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 4 | $2,53 \pm 0,09$ | 0,4102 | Regular | Pocas hifas en el borde | Porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 2 | $1,44 \pm 0,08$ | 0,4237 | Regular | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | 6,0 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 4 | $2,27 \pm 0,07$ | 0,5763 | Regular | Pocas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 3 | $2,37 \pm 0,10$ | 0,5006 | Baja | Forma irregular | Porosa |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 7 | $2,67 \pm 0,06$ | 0,3047 | Buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 5 | $2,32 \pm 0,08$ | 0,5437 | Regular | Pocas hifas en el borde | Porosa |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 2 | $2,46 \pm 0,11$ | 0,3063 | Baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 4 | $2,31 \pm 0,07$ | 0,2396 | Regular | Pocas hifas en el borde | Porosa |
| | 6,5 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 9 | $2,16 \pm 0,03$ | 1,1253 | Muy buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 10 | $2,41 \pm 0,05$ | 0,4087 | Buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 9 | $1,89 \pm 0,04$ | 0,4755 | Buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 20 | $1,43 \pm 0,02$ | 0,6233 | Muy buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 2 | $2,14 \pm 0,13$ | 0,8173 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 4 | $2,18 \pm 0,07$ | 0,4026 | Regular | Pocas hifas en el borde | Porosa |

$\bar{x} \pm \sigma$ (n = 10)

Tabla 3.5. Resultados del número, diámetro, biomasa, homogeneidad, apariencia y textura de los pellets para la muestra A al emplear el medio 3 para la preparación del pellet

| Datos | | | Muestra A | | | | | |
|---------|-----|------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------|------------------------------|--------------------------|------------|
| Medio | pH | # de esporas | Características cuantitativas | | | Características cualitativas | | |
| | | | Número de Pellets/mL | Diámetro de pellet (mm) | Biomasa (g) | Homogeneidad | Apariencia | Textura |
| Medio 3 | 5,8 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 9 | $2,74 \pm 0,04$ | 0,8709 | Buena | Pocas hifas en el borde | Porosa |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 1 | $2,88 \pm 0,14$ | 0,4204 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 1 | $3,10 \pm 0,13$ | 0,6261 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 1 | $2,50 \pm 0,11$ | 0,4442 | Baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 1 | $1,20 \pm 0,14$ | 0,1918 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 2 | $2,54 \pm 0,10$ | 0,3254 | Baja | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | 6,0 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 12 | $2,17 \pm 0,04$ | 0,6984 | Buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 1 | $2,53 \pm 0,12$ | 0,5066 | Baja | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 9 | $2,23 \pm 0,03$ | 1,3327 | Muy buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 2 | $2,73 \pm 0,07$ | 0,4303 | Regular | Pocas hifas en el borde | Porosa |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 1 | $2,71 \pm 0,13$ | 0,4416 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 1 | $2,74 \pm 0,11$ | 0,4209 | Baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | 6,5 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 1 | $2,74 \pm 0,14$ | 0,3569 | Muy baja | Forma irregular | Porosa |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 2 | $2,35 \pm 0,09$ | 0,7333 | Regular | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 1 | $3,54 \pm 0,11$ | 0,1822 | Baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 2 | $1,81 \pm 0,13$ | 0,3211 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 2 | $2,06 \pm 0,10$ | 0,8416 | Baja | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 2 | $2,05 \pm 0,09$ | 0,6122 | Regular | Forma irregular | Porosa |

$\bar{x} \pm \sigma$ (n = 10)

Tabla 3.6. Resultados del número, diámetro, biomasa, homogeneidad, apariencia y textura de los pellets para la muestra B al emplear el medio 3 para la preparación del pellet

| Datos | | | Muestra B | | | | | |
|---------|-----|------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------|------------------------------|--------------------------|------------|
| Medio | pH | # de esporas | Características cuantitativas | | | Características cualitativas | | |
| | | | Número de Pellets/mL | Diámetro de pellet (mm) | Biomasa (g) | Homogeneidad | Apariencia | Textura |
| Medio 3 | 5,8 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 11 | $2,85 \pm 0,03$ | 0,7619 | Muy buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 1 | $2,91 \pm 0,13$ | 0,4838 | Muy baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 1 | $2,92 \pm 0,11$ | 0,6876 | Baja | Forma irregular | Porosa |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 1 | $2,63 \pm 0,10$ | 0,4795 | Baja | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 1 | $1,18 \pm 0,14$ | 0,2234 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 1 | $2,76 \pm 0,12$ | 0,2567 | Baja | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | 6,0 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 11 | $2,38 \pm 0,03$ | 0,8864 | Muy buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 1 | $2,42 \pm 0,12$ | 0,6106 | Baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 8 | $2,35 \pm 0,04$ | 1,2869 | Buena | Sin irregularidades | Compacta |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 2 | $2,78 \pm 0,10$ | 0,3783 | Baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 1 | $2,67 \pm 0,14$ | 0,4671 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 2 | $2,69 \pm 0,11$ | 0,5006 | Baja | Pocas hifas en el borde | Muy porosa |
| | 6,5 | $4,29 \pm 0,51 * 10^7$ | 1 | $2,81 \pm 0,13$ | 0,3253 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | | $5,25 \pm 0,64 * 10^7$ | 3 | $1,95 \pm 0,09$ | 0,6068 | Regular | Muchas hifas en el borde | Porosa |
| | | $6,26 \pm 0,74 * 10^7$ | 1 | $1,99 \pm 0,10$ | 0,5927 | Baja | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $4,20 \pm 0,55 * 10^6$ | 2 | $1,83 \pm 0,09$ | 0,2647 | Regular | Forma irregular | Muy porosa |
| | | $5,36 \pm 0,50 * 10^6$ | 1 | $2,26 \pm 0,14$ | 0,7694 | Muy baja | Muchas hifas en el borde | Muy porosa |
| | | $6,26 \pm 0,85 * 10^6$ | 3 | $2,01 \pm 0,12$ | 0,6679 | Baja | Muchas hifas en el borde | Porosa |

$\bar{x} \pm \sigma$ (n = 10)

Tabla 3.7. Combinaciones de pH y número de esporas en cada medio que presentan buenas características cuantitativas y cualitativas del pellet en la muestra y su paralela

| Datos | | | Muestra A | | |
|---------|-----|---------------------------|----------------------|-------------------------|---------------|
| Medio | pH | # de esporas | Número de Pellets/mL | Diámetro de pellet (mm) | Biomasa (g) |
| Medio 1 | 5,8 | 5,36±0,50*10 ⁶ | 15 | 2,02 ± 0,03 | 0,8707 |
| | 6,0 | 6,26±0,74*10 ⁷ | 11 | 2,27 ± 0,05 | 1,1400 |
| | 6,5 | 4,20±0,55*10 ⁶ | 7 | 2,01± 0,05 | 0,9597 |
| Medio 2 | 6,5 | 4,29±0,51*10 ⁷ | 8 | 2,26 ± 0,04 | 1,0670 |
| | | 5,25±0,64*10 ⁷ | 13 | 1,89 ± 0,02 | 0,4513 |
| | | 6,26±0,74*10 ⁷ | 8 | 1,99 ± 0,05 | 0,5103 |
| | | 4,20±0,55*10 ⁶ | 19 | 1,45 ± 0,01 | 0,5966 |
| Medio 3 | 6,0 | 4,29±0,51*10 ⁷ | 9 | 2,17 ± 0,04 | 0,6984 |
| | | 6,26±0,74*10 ⁷ | 9 | 2,23 ± 0,03 | 1,3327 |
| Datos | | | Muestra B | | |
| Medio 1 | 5,8 | 5,36±0,50*10 ⁶ | 16 | 2,04 ± 0,02 | 0,9456 |
| | 6,0 | 6,26±0,74*10 ⁷ | 11 | 2,18 ± 0,03 | 1,2896 |
| | 6,5 | 4,20±0,55*10 ⁶ | 7 | 2,00 ± 0,04 | 0,8773 |
| Medio 2 | 6,5 | 4,29±0,51*10 ⁷ | 9 | 2,16 ± 0,03 | 1,1253 |
| | | 5,25±0,64*10 ⁷ | 10 | 2,41 ± 0,05 | 0,4087 |
| | | 6,26±0,74*10 ⁷ | 9 | 1,89 ± 0,04 | 0,4755 |
| | | 4,20±0,55*10 ⁶ | 20 | 1,43 ± 0,02 | 0,6233 |
| Medio 3 | 6,0 | 4,29±0,51*10 ⁷ | 10 | 2,38 ± 0,03 | 0,8864 |
| | | 6,26±0,74*10 ⁷ | 8 | 2,35 ± 0,04 | 1,2869 |

$\bar{x} \pm \sigma$ (n = 10)

En la Tabla 3.7, se puede observar que la combinación del Medio 2 que obtiene el menor diámetro de pellet y el mayor número de los mismos tanto para la muestra como para la paralela coincide en pH 6,5 y 4,20±0,55*10⁶ esporas, pero difiere de la combinación que obtiene la mayor cantidad de biomasa, que es de pH 6,5 y 4,29±0,51*10⁷ esporas.

Sin embargo, como la combinación que obtiene mayor biomasa también da como resultado un mayor tamaño de pellet, fue desechada y para los procesos fermentativos en los reactores de 2 y 14 litros se trabajó con el Medio 2, a pH 6,5 y con 4,20±0,55*10⁶ esporas de inóculo.

3.2. CONSTANTE CINÉTICA DEL CRECIMIENTO MICROBIANO

3.2.1. DETERMINACIÓN DEL PROCEDIMIENTO IDÓNEO PARA LA INOCULACIÓN EN LOS REACTORES

3.2.1.1. Inoculación a partir del pellet ya formado

Este método de inoculación se halla descrito en la sección 2.2.1.2 y dio como resultado a tres etapas, las mismas que se detallan a continuación:

➤ **Pérdida de la esfericidad de los pellets**

Una vez inoculados los pellets en el reactor de 2 litros, mantuvieron su forma esférica por alrededor de 24 horas, después de lo cual, perdieron dicha forma, y se generó gran cantidad de hifas. Esto puede observarse en la Figura 3.1.

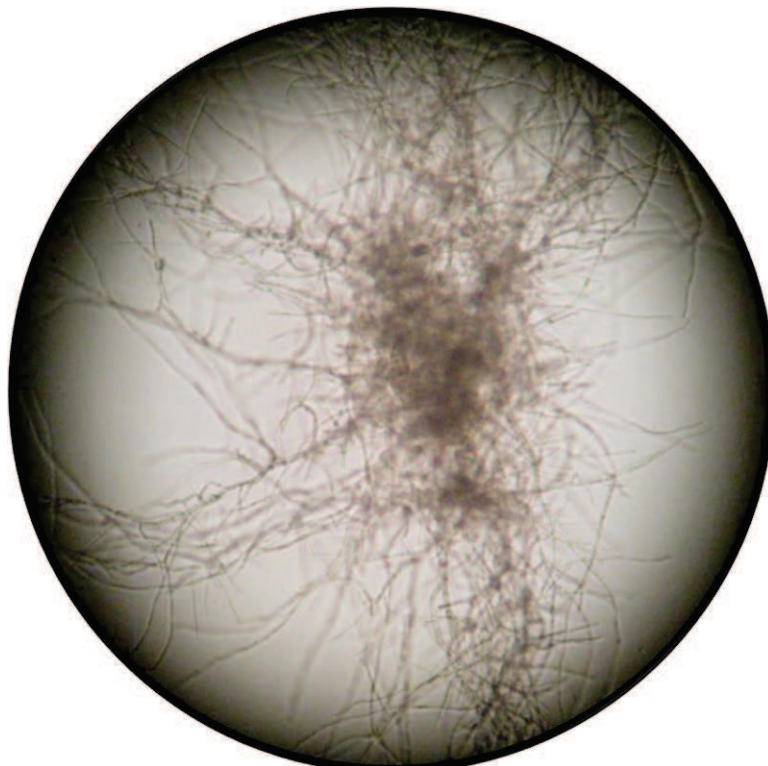


Figura 3.1. Pellet roto y poco compacto a las 24 horas de inoculación a 600 rpm, observado en un microscopio óptico con un aumento 10X

➤ **Incremento de tamaño del pellet amorfo**

Esta etapa duró 24 horas más, en ella, pudo observarse que la estabilidad del pellet fue baja y que hubo un incremento pequeño en su tamaño, pero que la forma esférica no se recuperó, como se puede observar en la Figura 3.2, que se muestra a continuación:

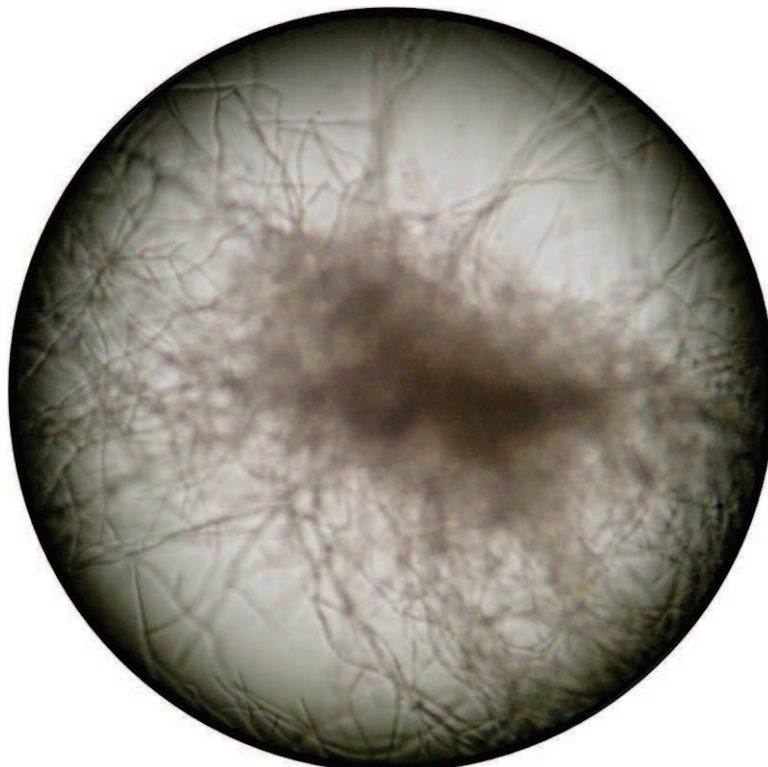


Figura 3.2. Pellet incrementado ligeramente de tamaño a las 48 horas de inoculación a 600 rpm, observado en un microscopio óptico con un aumento 10X

➤ **Formación de nuevos pellets**

Esta etapa se dio hasta el término de la fermentación, la misma que duró un total de 8 días.

Aquí los pellets amorfos aumentaron su tamaño y las hifas del medio formaron nuevos pellets igualmente amorfos. Esto se puede observar en las microfotografías que se muestran en la Figura 3.3.

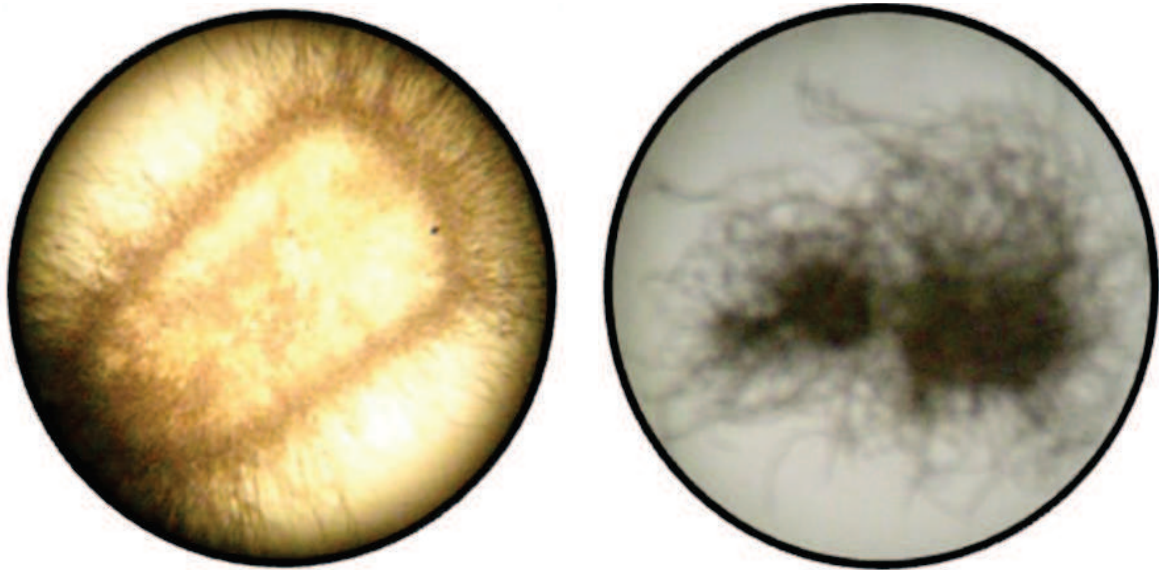


Figura 3.3. Pellets amorfos formados por los pellets inoculados al reactor y por las hifas presentes en el medio a los 8 días de inoculación a 600 rpm, observado en un microscopio óptico con un aumento 4X

3.2.1.2. Inoculación a partir de esporas

Este método consistió en inocular las esporas de *Aspergillus niger* directamente al reactor.

A pesar de que, al aplicar este método la biomasa se pegó en las paredes del reactor, los pellets que se obtuvieron, fueron pequeños, esféricos y compactos, y también se obtuvo una menor cantidad de hifas libres en el medio de cultivo, y alrededor del pellet, como se puede observar en la fotografía que se muestra en la Figura 3.4.

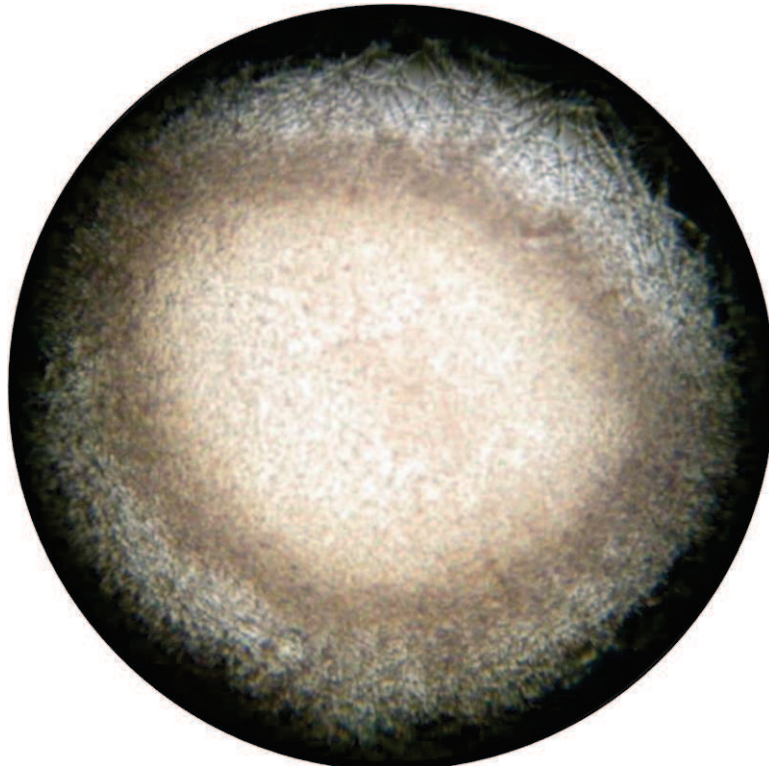


Figura 3.4. Pellet obtenido con el segundo método de inoculación a los 8 días de fermentación a 600 rpm, observado con un aumento 10X en un microscopio óptico

3.2.1.3. Selección del método de inoculación

Al analizar los pros y contras de cada uno de los métodos que se ensayaron, se escogió la inoculación directa de esporas, ya que se obtuvieron pellets estables y esféricos, que son los que se requieren para realizar el escalado.

La conveniencia de estas características se basa en que según Linden, (2002) la transferencia de masa que ocurre en una partícula esférica de consistencia compacta es más predecible que la que ocurre en una partícula amorfa. (pp. 69,74).

Además, esta conveniencia en la esfericidad del pellet se dio porque en el modelo matemático que se emplea para simular el proceso de escalado se considera que los pellets son esféricos y por lo tanto su volumen aumenta únicamente con el incremento de su diámetro.

3.2.2. DETERMINACIÓN DE LAS VELOCIDADES DE AGITACIÓN PARA LA FERMENTACIÓN EN LOS REACTORES DE 2 Y 14 LITROS

Para determinar la estabilidad del pellet se trabajó en el reactor de 2 litros con dos rangos de velocidades de agitación, como se muestra en la sección 2.3.2, el primero fue conocido como el rango de agitación bajo, que comprendió niveles de agitación de 60, 100, 120 y 140 rpm y el segundo fue conocido como rango de agitación alto, que comprendió niveles de agitación de 500, 600, 700 y 800 rpm.

En estos rangos de agitación se determinó mediante el procedimiento descrito en la sección 2.2.2.3, el número y diámetro de pellets, la concentración de biomasa y el tiempo durante el cual el pellet se mantuvo estable.

Los resultados de esta experimentación para el rango de agitación bajo se presentan en la Tabla 3.8, mientras que los resultados para el rango de agitación alto se presentan en la Tabla 3.9.

Tabla 3.8. Tiempo de estabilidad, número, diámetro del pellet y biomasa obtenidos al realizar fermentaciones con velocidades de agitación de 60, 100, 120 y 140 rpm en el reactor de 2 litros

| Velocidad de agitación (rpm) | Tiempo de estabilidad del pellet (días) | Número de pellets/ 100mL | Diámetro del pellet (mm) | Biomasa (g) | Observaciones |
|------------------------------|---|--------------------------|--------------------------|-------------|--|
| 60 | 1 | 8 | 3,87 ± 0,15 | 182,5 | Pellet poco compacto |
| | 2 | 4 | 6,85 ± 0,13 | 373,8 | Pellets demasiado grandes, con sedimentación |
| 100 | 1 | 9 | 4,76 ± 0,11 | 476,7 | La mayoría de los pellets están rotos y sedimentados |
| 120 | 1 | 10 | 4,57 ± 0,14 | 498,2 | Gran cantidad de hifas en el medio y sedimento |
| 140 | 1 | 10 | 3,87 ± 0,09 | 572,3 | Gran cantidad de hifas en el medio y sedimento |

$\bar{x} \pm \sigma$ (n = 10)

Los resultados representados en la Tabla 3.8 se debieron a que la baja velocidad de agitación no permitió que las hifas formaran pellets, sino que acorde a lo mencionado por Baron, *et al.*, (1988) y Paul, *et al.*, (2004) en su mayoría permanecieron libres en el medio. (pp. 173-175; p. 1125)

Además, los pocos pellets formados fueron grandes y poco compactos e inclusive llegaron a coalescer, lo que acorde a Tought, y Prosser, (1996) impidió una correcta transferencia de oxígeno y nutrientes desde el medio hasta el centro del pellet, lo que pudo generar la muerte microbiana y la formación del sedimento mencionado, compuesto por pellets muertos e hifas. (p. 644)

Tabla 3.9. Tiempo de estabilidad, número, diámetro del pellet y biomasa obtenidos al realizar fermentaciones con velocidades de agitación de 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 2 litros

| Velocidad de agitación (rpm) | Tiempo de estabilidad del pellet (días) | Número de pellets/mL | Diámetro del pellet (mm) | Biomasa (g) |
|------------------------------|---|----------------------|--------------------------|-------------|
| 500 | Todo el proceso | 180 | 1,25 ± 0,03 | 402,10 |
| 600 | Todo el proceso | 360 | 0,96 ± 0,01 | 541,67 |
| 700 | Todo el proceso | 48 | 1,03 ± 0,04 | 327,60 |
| 800 | Todo el proceso | 230 | 1,01 ± 0,03 | 687,75 |

$\bar{x} \pm \sigma$ (n = 15)

Con las velocidades de agitación que se mencionan en la Tabla 3.9, se observó que la estabilidad del pellet se incrementó, y que, además, se obtuvo un número considerable de pellets compactos, de diámetros pequeños, características que permitirían una adecuada transferencia del oxígeno disuelto, y de los nutrientes del medio, hasta el centro del pellet.

Además, se estima que, por lo mencionado, no se produjo la sedimentación que se observó en los experimentos realizados con el rango de agitación bajo.

Era de esperarse que las altas velocidades de agitación generasen gran inestabilidad y ruptura de los pellets, debido a las fuerzas de corte que actuarían sobre ellos, lo que supuestamente habría afectado al metabolismo del

microorganismo, y no hubiera permitido su correcto desarrollo. Sin embargo, como queda descrito, se pudo notar que los resultados fueron contrarios a lo que se supuso que pasaría.

Además de lo enunciado, de este estudio se pudo deducir que la incidencia de las hifas presentes en el medio de cultivo es extremadamente importante. Porque, pueden formar nuevos pellets, o dificultar la transferencia de masa del proceso fermentativo.

Por estas razones, se decidió trabajar únicamente con las velocidades de agitación de 500, 600, 700 y 800 rpm, en los experimentos referentes al escalado, ya que a estas velocidades se obtuvo una producción de pellets estables debido a un correcto desarrollo microbiano.

3.2.3. PARÁMETROS FÍSICOS DEL MICROORGANISMO EN LOS REACTORES DE 2 Y 14 LITROS

Para estimar la velocidad específica de crecimiento microbiano a 500, 600, 700 y 800 rpm en los reactores de 2 y 14 litros, se determinó la cantidad de biomasa generada durante el proceso fermentativo.

Además, a fin de establecer comparaciones entre escalas se determinó el número y diámetro de los pellets obtenidos.

Estos resultados se presentan en la Figura 3.5, Figura 3.6, Figura 3.7, Figura 3.8, Figura 3.9, Figura 3.10 y Figura 3.11.

Como se puede observar en la Figura 3.5 y Figura 3.6 el mayor número de pellets/mL en los reactores de 2 y 14 litros se obtiene al trabajar con una velocidad de agitación de 600 rpm. No obstante, este número de pellets/mL varía sustancialmente entre los dos reactores, lo que podría deberse a la diferencia del esfuerzo cortante que influye en el crecimiento microbiano.

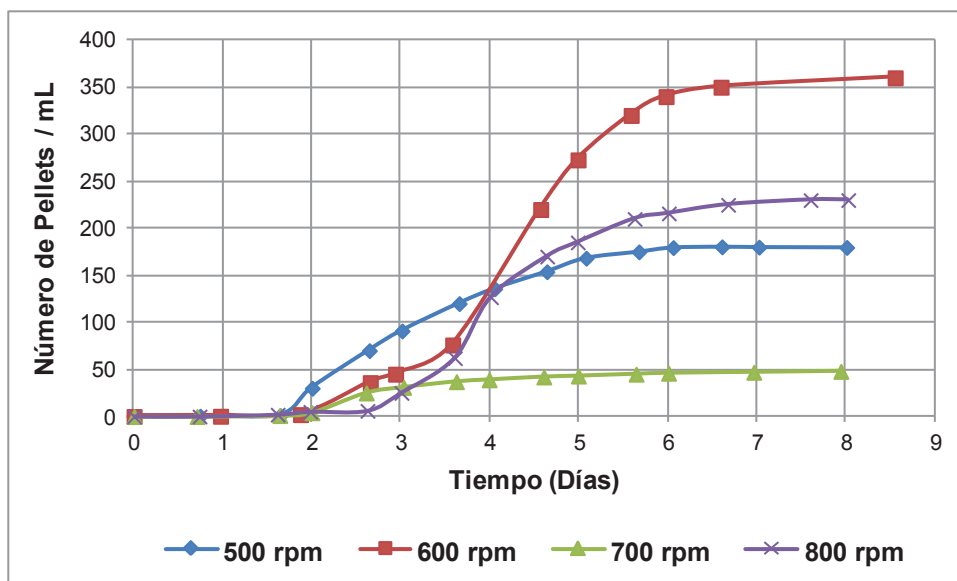


Figura 3.5. Número de pellets/mL generados en el transcurso del proceso fermentativo a 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 2 litros

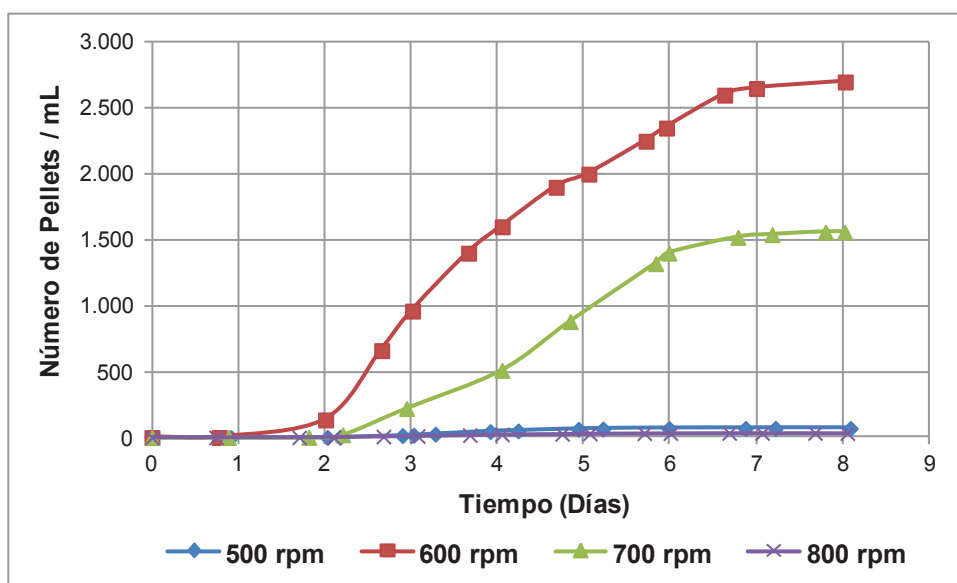


Figura 3.6. Número de pellets/mL generados en el transcurso del proceso fermentativo a 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 14 litros

Las curvas del número de pellets/mL obtenidos a 500 y 800 rpm en el reactor de 14 litros no pueden ser apreciadas correctamente en la Figura 3.6, debido a la diferencia de magnitudes que pudo haber sido ocasionada por el efecto del esfuerzo cortante mencionado anteriormente. Por este motivo se representó las curvas de número de pellets/mL obtenidas a 500 y 800 rpm en el reactor de 14 litros en la Figura 3.7.

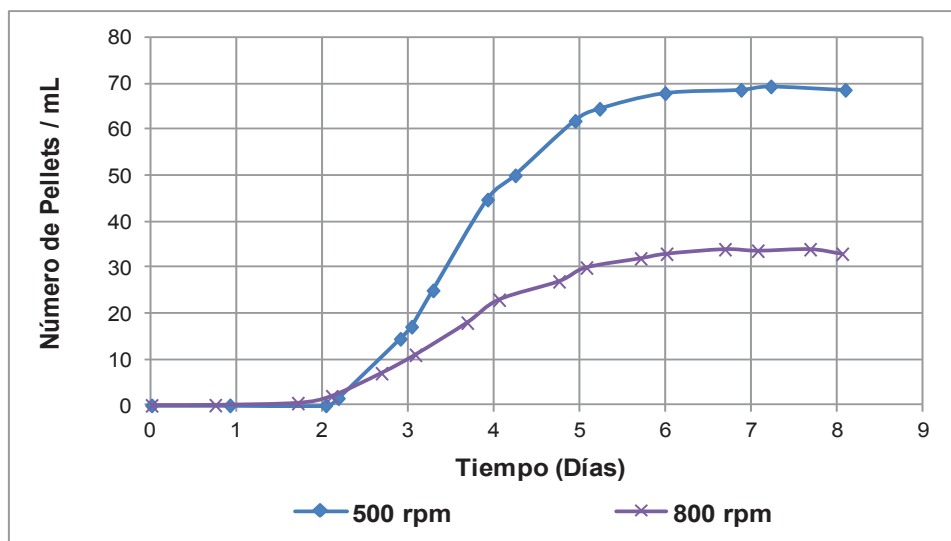


Figura 3.7. Número de pellets/mL generados en el transcurso del proceso fermentativo a 500 y 600 rpm en el reactor de 14 litros

Las curvas del incremento del diámetro de pellet obtenidas a 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 2 litros se representan en la Figura 3.8, mientras que dichas curvas para el reactor de 14 litros se pueden observar en la Figura 3.9.

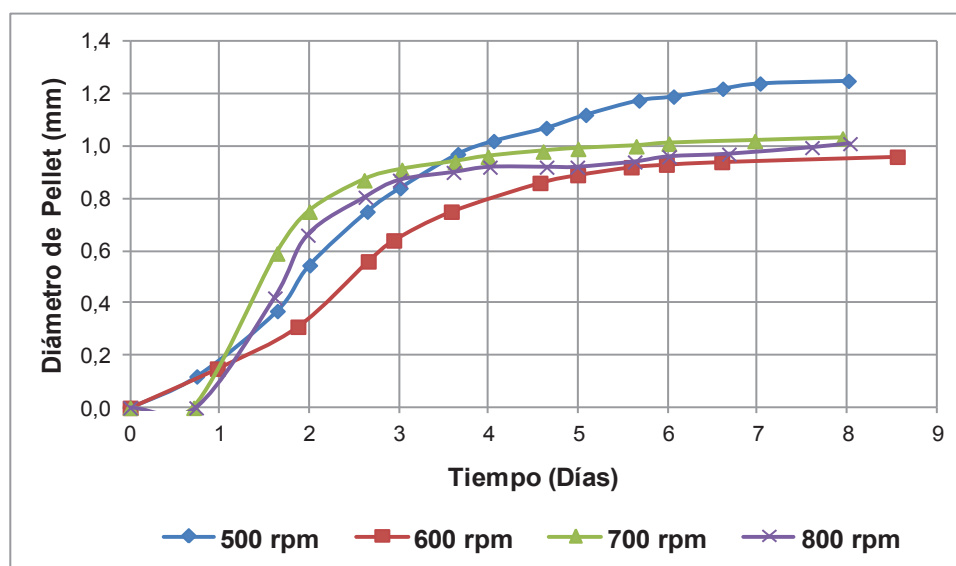


Figura 3.8. Diámetro de pellet obtenido en el transcurso del proceso fermentativo a 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 2 litros

En la Figura 3.8 se puede apreciar que el menor diámetro de pellet en el reactor de 2 litros se obtiene al trabajar con una velocidad de agitación de 600 rpm y este valor podría corresponder al diámetro de pellet que se debe escalar.

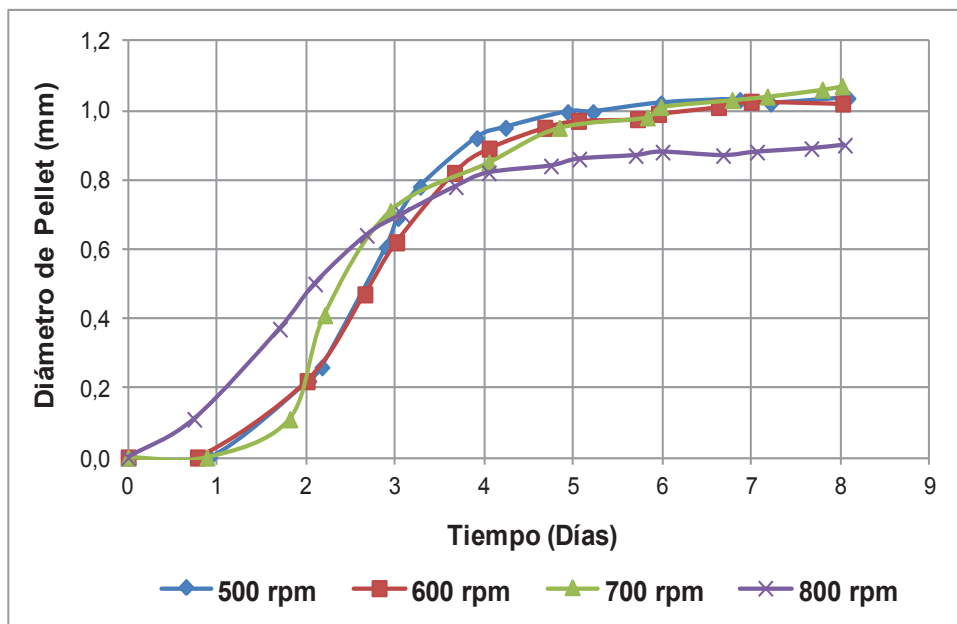


Figura 3.9. Diámetro de pellet obtenido en el transcurso del proceso fermentativo a 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 14 litros

Las curvas del incremento de la concentración de biomasa obtenidas a 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 2 litros se representan en la Figura 3.10, mientras que dichas curvas para el reactor de 14 litros se pueden apreciar en la Figura 3.11.

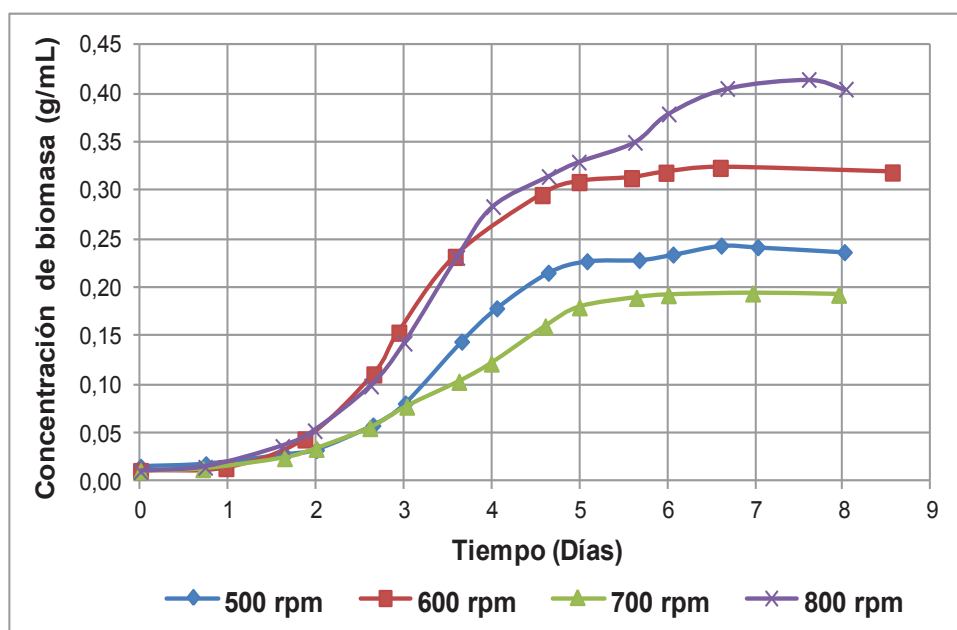


Figura 3.10. Concentración de biomasa obtenida en el transcurso del proceso fermentativo a 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 2 litros

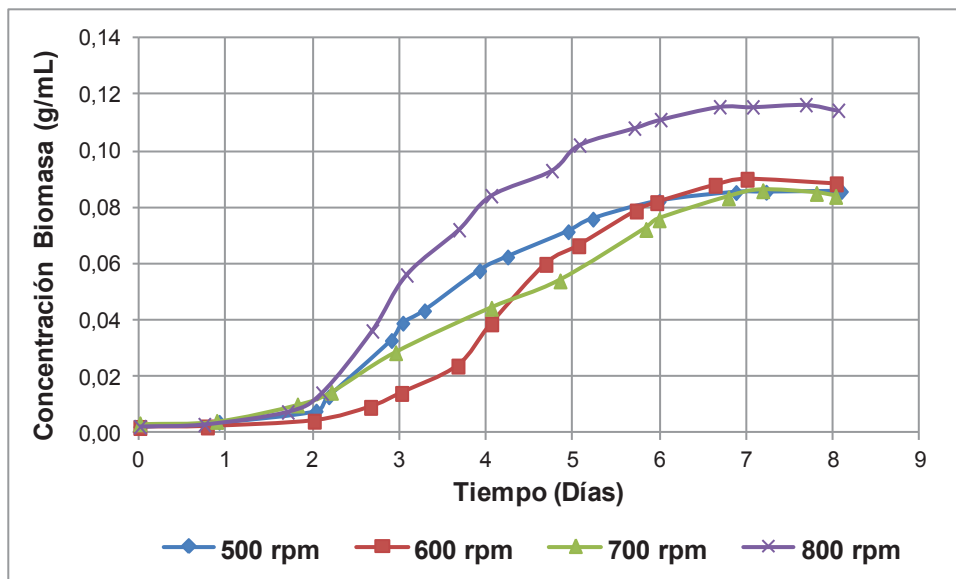


Figura 3.11. Concentración de biomasa obtenida en el transcurso del proceso fermentativo a 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 14 litros

En la Figura 3.10 y Figura 3.11 se puede observar que la concentración de biomasa obtenida en el reactor de 2 litros es mayor para todas las velocidades de agitación en comparación con la que se obtiene en el reactor de 14 litros. Esto pudo haberse debido a una supuesta pérdida de estabilidad microbiana a causa del elevado esfuerzo cortante, lo que pudo haber modificado el crecimiento del microorganismo.

A fin de poder establecer comparaciones entre el número, diámetro de pellet y concentración de biomasa alcanzada en cada uno de los procesos fermentativos, se tomaron los datos al final del proceso fermentativo y se los consolidaron en la Tabla 3.10. En esta tabla se puede observar que la máxima concentración de biomasa tanto en el reactor de 2 litros como en el de 14 litros, se obtuvo al trabajar a 800 rpm, y que, además, a esta velocidad de agitación también se obtuvo el menor tamaño de pellet en el reactor de 14 litros. A pesar de esto, las fermentaciones realizadas con esta velocidad de agitación se desviaron del comportamiento esperado en la curva de productividad para el reactor de 2 litros, como se puede observar en el Anexo I. Por esta razón y debido a que a partir de los datos obtenidos de este reactor se realizó el escalado, los resultados obtenidos a 800 rpm se desecharon.

Tabla 3.10. Número, concentración de biomasa y diámetro del pellet obtenidos en las escalas de 2 y 14 litros a 500, 600, 700 y 800 rpm

| Escala | Velocidad de agitación (rpm) | Número de pellets/mL | Concentración de Biomasa (g/mL) | Diámetro del pellet (mm) |
|-----------|------------------------------|----------------------|---------------------------------|--------------------------|
| 2 litros | 500 | 180 | 0,237 | 1,25 ± 0,03 |
| | 600 | 360 | 0,319 | 0,96 ± 0,01 |
| | 700 | 48 | 0,193 | 1,03 ± 0,04 |
| | 800 | 230 | 0,405 | 1,01 ± 0,03 |
| 14 litros | 500 | 69 | 0,086 | 1,04 ± 0,04 |
| | 600 | 2 698 | 0,088 | 1,02 ± 0,03 |
| | 700 | 1 560 | 0,084 | 1,07 ± 0,04 |
| | 800 | 33 | 0,114 | 0,90 ± 0,05 |

$\bar{x} \pm \sigma$ (n = 15)

Fue importante determinar la velocidad óptima de agitación en la escala de 2 litros para realizar el escalado. Para esto, se analizó la morfología del pellet al final del proceso fermentativo mediante un microscopio óptico. Los resultados de estas observaciones se ilustran mediante las fotografías que se muestran en la Figura 3.12, Figura 3.13, Figura 3.14 y Figura 3.15

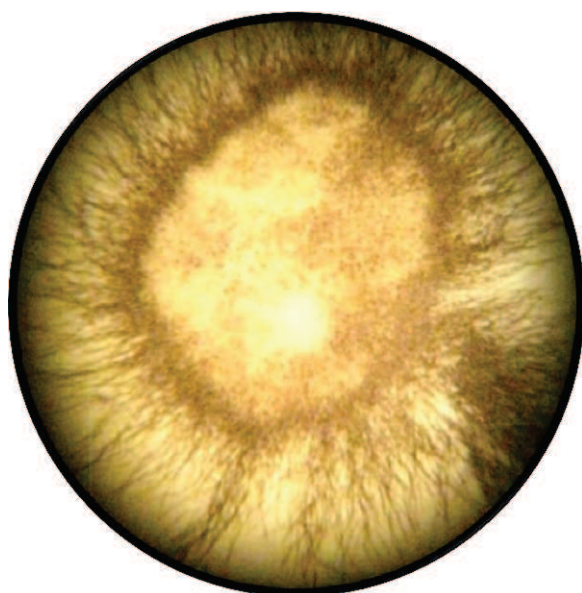


Figura 3.12. Pellet obtenido a los 8 días de fermentación a 500 rpm, observado con un aumento 4X en un microscopio óptico

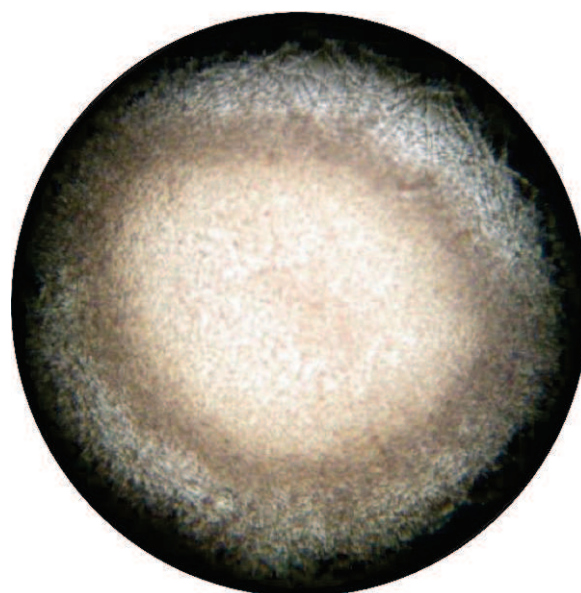


Figura 3.13. Pellet obtenido a los 8 días de fermentación a 600 rpm, observado con un aumento 10X en un microscopio óptico

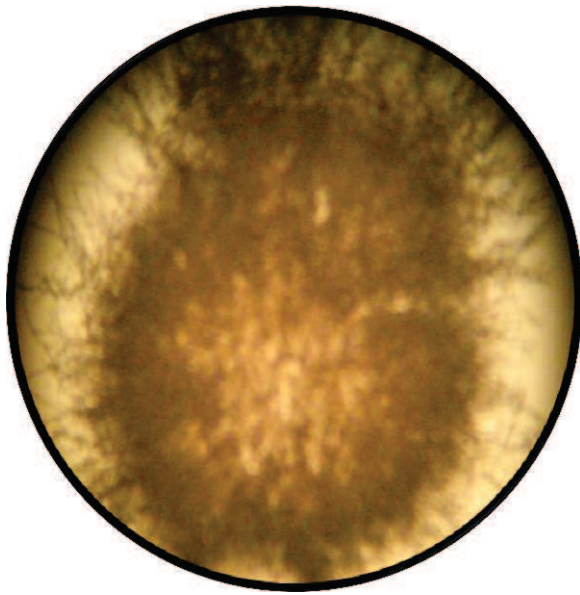


Figura 3.14. Pellet obtenido a los 8 días de fermentación a 700 rpm, observado con un aumento 4X en un microscopio óptico

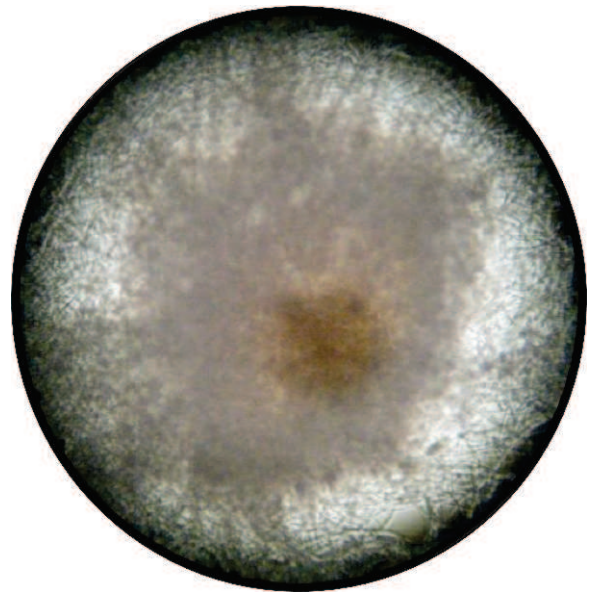


Figura 3.15. Pellet obtenido a los 8 días de fermentación a 800 rpm, observado con un aumento 10X en un microscopio óptico

Estas observaciones al microscopio permitieron determinar algunos aspectos muy importantes. Por ejemplo, en la Figura 3.12, se puede observar un pellet obtenido a 500 rpm, que es poroso, y que, por eso, deja pasar la luz a través de sus poros, por no ser compacto.

Lo contrario puede observarse en la microfotografía que se muestra en la Figura 3.13, que corresponde a 600 rpm, que demuestra que a esa velocidad de agitación se obtuvo un pellet más compacto que a 500 rpm. Además, en esta figura, también puede observarse que el pellet tiene menor cantidad de hifas en su contorno que en las otras fotografías que corresponden a velocidades diferentes de agitación.

Por otro lado, como se puede observar en la fotografía de la Figura 3.14, al trabajar a 700 rpm se obtiene un pellet compacto en los bordes pero muy poroso en el centro, de lo que se puede deducir, que esta es una velocidad de agitación límite, a la que se podrían producir alteraciones en la morfología del pellet, según lo mencionado por Almudena y Paul (Almudena, *et al.*, 1999, p. 46; Paul, *et al.*, 2004, pp. 633, 1080).

Este fenómeno también pudo deberse a que la formación del pellet fue demasiado rápida, lo que produjo un pellet heterogéneamente compacto y de menor tamaño que el que se obtuvo a 500 rpm,

En la Figura 3.15 se puede observar que el pellet obtenido a una velocidad de agitación de 800 rpm es amorfo, poco compacto y con hifas en su contorno, lo que pudo deberse al elevado esfuerzo cortante.

3.2.4. PARÁMETROS FÍSICOS DEL SUSTRATO

Como parámetros físicos del sustrato se consideraron la densidad inicial del sustrato y la variación tanto del esfuerzo cortante (τ) y de la viscosidad aparente (μ_a) del medio durante la fermentación, así como, el índice de consistencia (K) y el índice de comportamiento de caracterización no newtoniana (n).

3.2.4.1. Densidad del sustrato

Esta densidad fue determinada únicamente para el reactor de 2 litros, porque fue uno de los parámetros a introducir en el modelo de escalado. A pesar de que esta densidad si variaba, no se consideró dicha variación en el proceso, ya que el modelo matemático planteado en la sección 2.5.3, que es el que se empleó en el escalado, requirió únicamente el valor de la densidad inicial. Estos resultados se hallan descritos en la Tabla 3.11.

Tabla 3.11. Densidad inicial del sustrato para el reactor de 2 litros a 500, 600, 700 y 800 rpm

| Velocidad de agitación (rpm) | Densidad del sustrato (g/ml) |
|------------------------------|------------------------------|
| 500 | 1,1296 |
| 600 | 1,1298 |
| 700 | 1,1292 |
| 800 | 1,1300 |

De los valores de la densidad mostrados en la Tabla 3.11, el único que se empleó en el modelo matemático fue el del medio con el que se trabajó a 600 rpm en el reactor de 2 litros, ya que a partir de esta velocidad de agitación se llevó a cabo el proceso de escalado.

3.2.4.2. Variación del esfuerzo cortante (τ), viscosidad aparente (μ_a), índice de consistencia (K) e índice de comportamiento del fluido (n) a lo largo del proceso fermentativo a 500 rpm en el reactor de 2 litros

Los resultados de la viscosidad aparente a distintas velocidades de corte se pueden observar en las gráficas del Anexo II. A partir de la extracción de estos datos, fue posible calcular el esfuerzo cortante mediante la ecuación 2.2; así como también determinar el índice de comportamiento (n) y el índice de consistencia del fluido (K) mediante la ecuación 1.10.

Las curvas para la determinación de estos índices a lo largo del proceso se pueden observar en el Anexo III, mientras que la variación de estos índices durante la fermentación se observan en las figuras siguientes.

En la Figura 3.16, Figura 3.17, Figura 3.18 y Figura 3.19, se muestra la variación del esfuerzo cortante, de la viscosidad aparente del sistema, del índice de consistencia y del índice de comportamiento del fluido, a lo largo del proceso fermentativo en el reactor de 2 litros a 500 rpm.

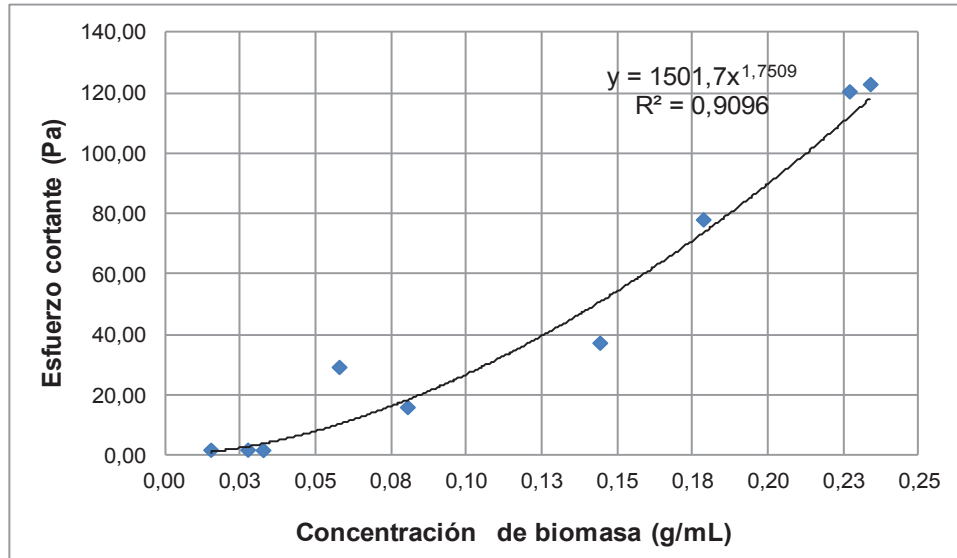


Figura 3.16. Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 500 rpm

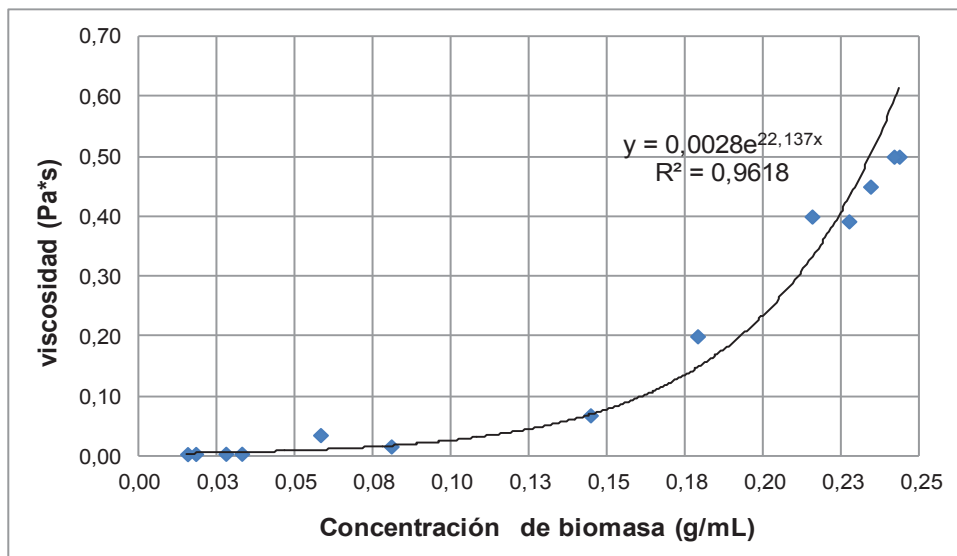


Figura 3.17. Variación de la viscosidad aparente en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 500 rpm

En la Figura 3.17, se puede observar que acorde a lo mencionado por Harper, Saravacos y Rao, la concentración de biomasa tiene un efecto exponencial sobre la viscosidad aparente. (Harper, y El-Sahrigi, 1965, p. 472; Rao, Cooley, y Vitali, 1984, p. 115; Saravacos, 1970, p. 123)

Esto quiere decir, que un incremento o disminución de concentración de biomasa en el medio tendrá un fuerte efecto sobre la viscosidad aparente del sistema, por

lo que se debe tener mucho cuidado en el cambio de la viscosidad aparente cuando se diluye el medio con agua o con sustrato fresco en el caso de fermentaciones tipo lote alimentado.

En la Figura 3.18, se puede notar que la relación entre el índice de consistencia y la concentración de biomasa ya no obedece a una ecuación exponencial, sino a una potencial, lo que, en primera instancia resultaría contradictorio, ya que la viscosidad aparente es función del índice de consistencia.

Sin embargo, este cambio se puede explicar debido a la correlación que existe entre el índice de consistencia y el índice de comportamiento, que como se puede observar en las Figura 3.18 y Figura 3.19, cuando el índice de consistencia decae en el rango de concentración de 0,15 a 0,18 g/mL, el índice de comportamiento del fluido se incrementa, lo que indica que estos índices están vinculados entre sí, compensándose el uno al otro a fin de permitir que la viscosidad aparente se incremente.

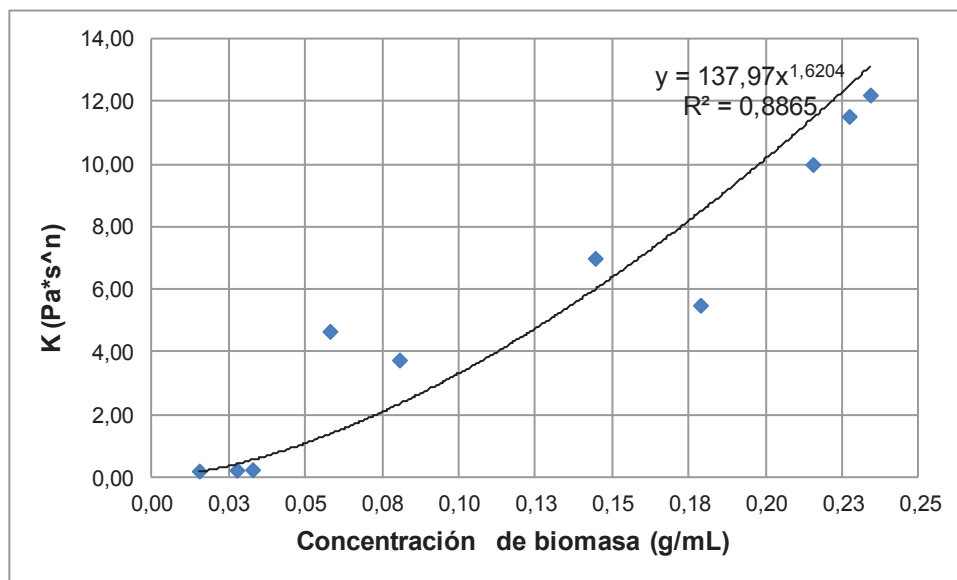


Figura 3.18. Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 500 rpm

En la Figura 3.19 se puede observar que el cambio del índice de comportamiento del fluido en función del incremento de la concentración de biomasa no presenta

una tendencia específica. Esto pudo deberse a errores en el muestreo, debido a que la velocidad de agitación no era lo suficientemente alta como para tener un medio homogéneo en todos los puntos. Sin embargo de esto, y si se considera que los puntos presentan una distribución normal, se puede decir que el promedio de estos valores ($n = 0,33$) incluye aproximadamente al 66% de la muestra, por lo que podría ser aplicado en cálculos, en caso de así requerirse.

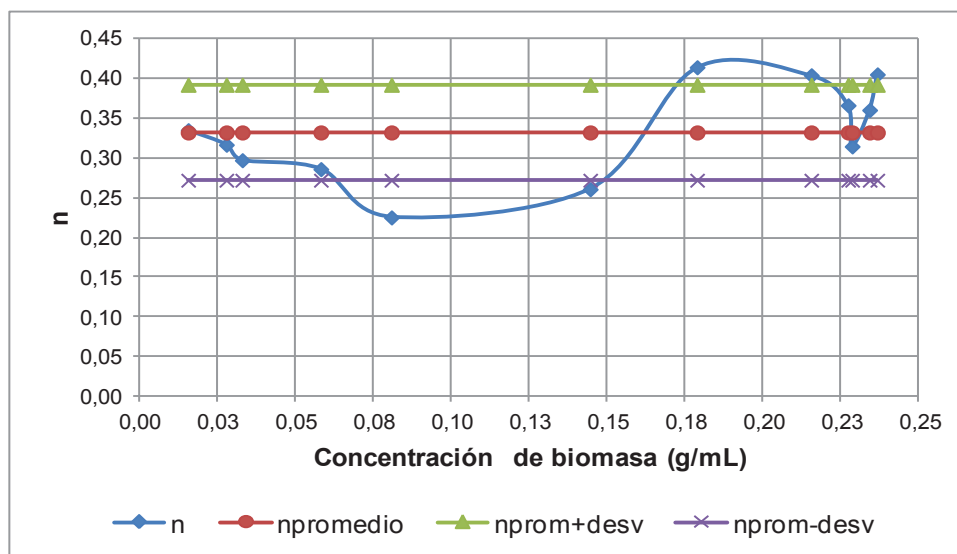


Figura 3.19. Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 500 rpm

El índice de comportamiento únicamente indica el grado de pseudo-plasticidad del fluido, y en el presente trabajo no intervino en ningún cálculo, aunque si permitió determinar que el fluido se adaptó a la ley de potencia.

3.2.4.3. Variación del esfuerzo cortante (τ), viscosidad aparente (μ_a), índice de consistencia (K) e índice de comportamiento del fluido (n) a lo largo del proceso fermentativo a 600 rpm en el reactor de 2 litros

En la Figura 3.20, Figura 3.21, Figura 3.22 y Figura 3.23, se muestra la variación del esfuerzo cortante, de la viscosidad aparente del sistema, del índice de consistencia y del índice de comportamiento del fluido, a lo largo del proceso fermentativo en el reactor de 2 litros a 600 rpm.

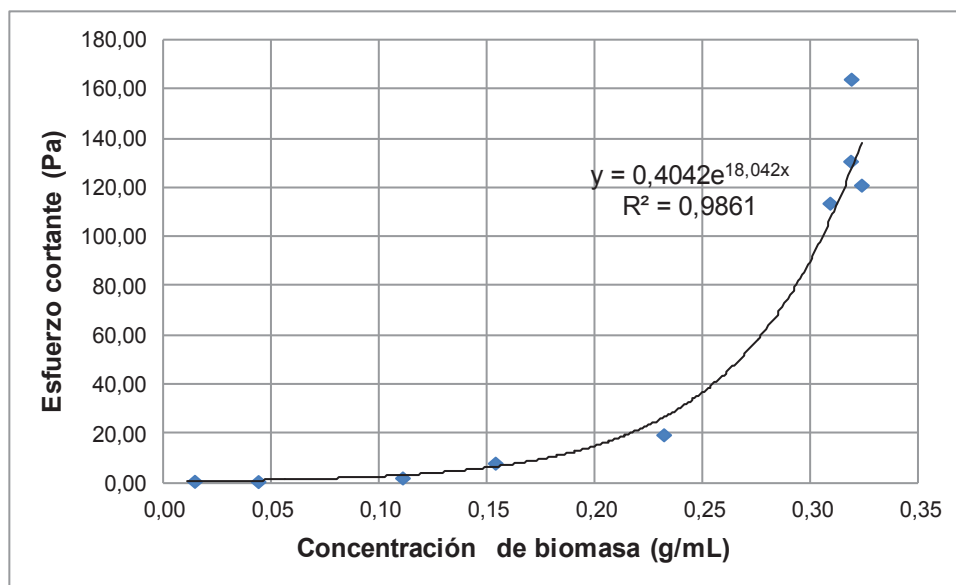


Figura 3.20. Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 600 rpm

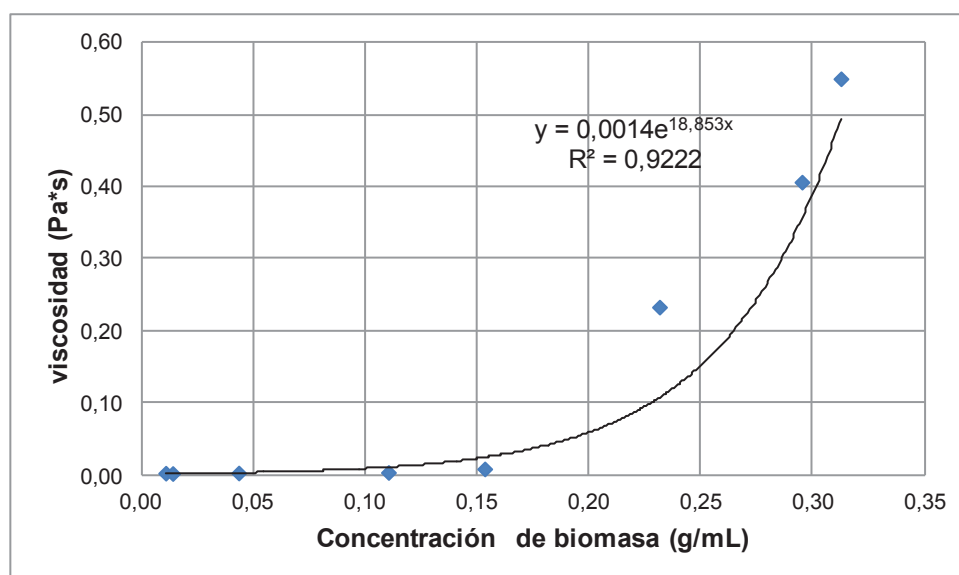


Figura 3.21. Variación de la viscosidad aparente en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 600 rpm

En la Figura 3.22 se puede observar que al final del proceso se obtiene una mayor concentración de biomasa que cuando se opera a 500 rpm, por lo que también el índice de consistencia final es mayor. Sin embargo, al comparar los índices de consistencia a la misma concentración de biomasa con las dos velocidades de agitación se puede notar que el índice obtenido a 600 rpm es menor que el que se obtiene a 500 rpm, lo que indica que la velocidad de

agitación influye fuertemente en la reología del medio, ya que permite mayor formación de hifas o de pellets.

Lo mencionado también ocurre con el esfuerzo cortante, la viscosidad aparente y con el índice de comportamiento del fluido, este último puede observarse en la Figura 3.23

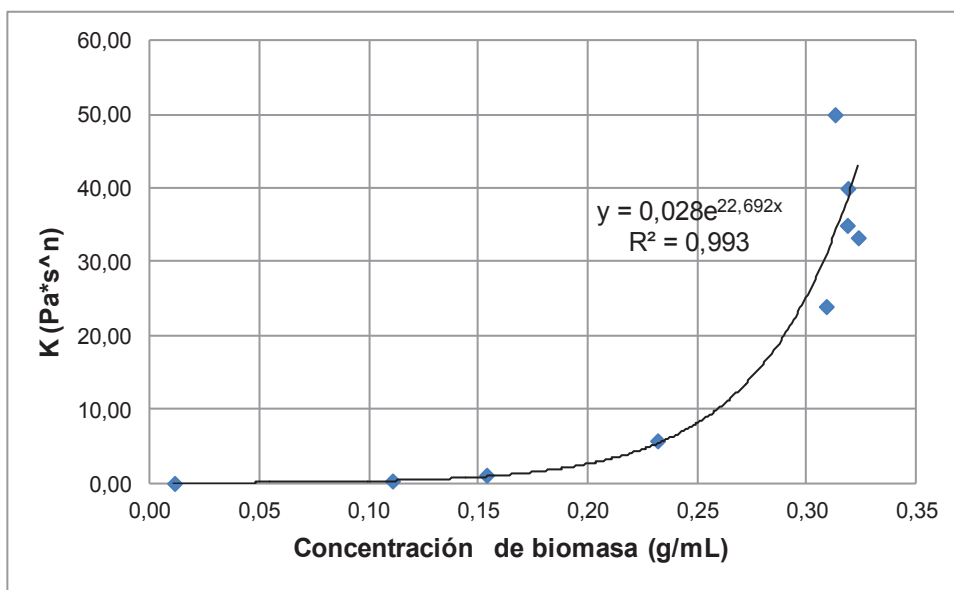


Figura 3.22. Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 600 rpm

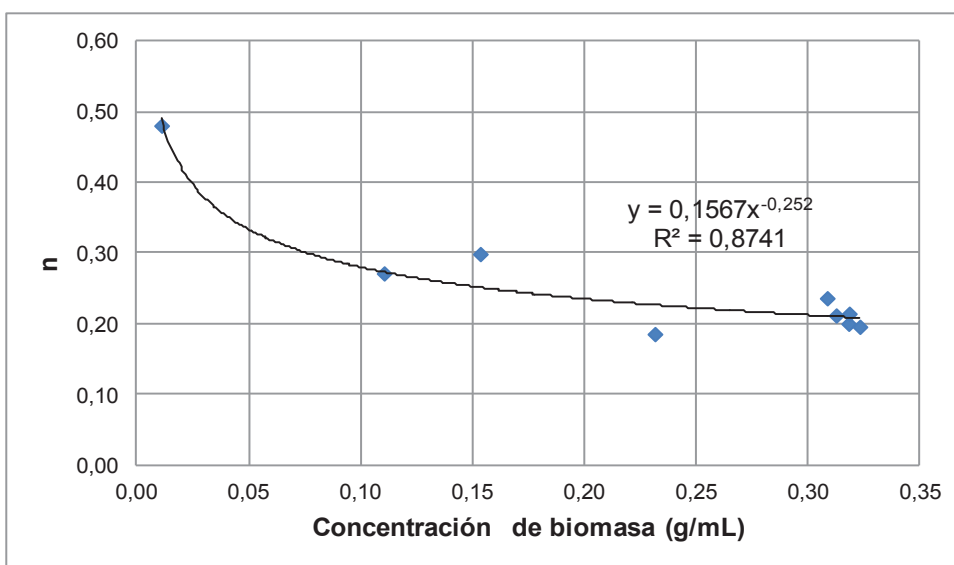


Figura 3.23. Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 600 rpm

En la Figura 3.23 se puede observar que el índice de comportamiento del fluido disminuye potencialmente en el medio a medida que se incrementa la concentración de biomasa, lo que indica que cuando dicha concentración es mayor, el nivel de pseudo-plasticidad también lo es.

Por este motivo, la velocidad de agitación empleada no permite que el medio alcance el estado newtoniano, sino que se da un incremento exponencial de la viscosidad aparente.

3.2.4.4. Variación del esfuerzo cortante (τ), viscosidad aparente (μ_a), índice de consistencia (K) e índice de comportamiento del fluido (n) a lo largo del proceso fermentativo a 700 rpm en el reactor de 2 litros

En la Figura 3.24, Figura 3.25, Figura 3.26 y Figura 3.27, se muestra la variación del esfuerzo cortante, de la viscosidad aparente del sistema, del índice de consistencia y del índice de comportamiento del fluido, a lo largo del proceso fermentativo en el reactor de 2 litros a 700 rpm.

En la Figura 3.24 y Figura 3.25, se observa que el esfuerzo cortante y la viscosidad aparente se incrementan exponencialmente con el aumento de la concentración de biomasa, mientras que el índice de consistencia presenta una tendencia potencial, como se puede observar en la Figura 3.26.

Estos dos tipos de tendencias representan un incremento elevado tanto de la viscosidad aparente como del índice de consistencia a medida que la concentración de biomasa es mayor y corroboran el comportamiento de la viscosidad aparente y el índice de consistencia descrito por Harper, Saravacos y Rao. (Harper, y El-Sahrigi, 1965, p. 472; Rao, *et al.*, 1984, p. 115; Saravacos, 1970, p. 123)

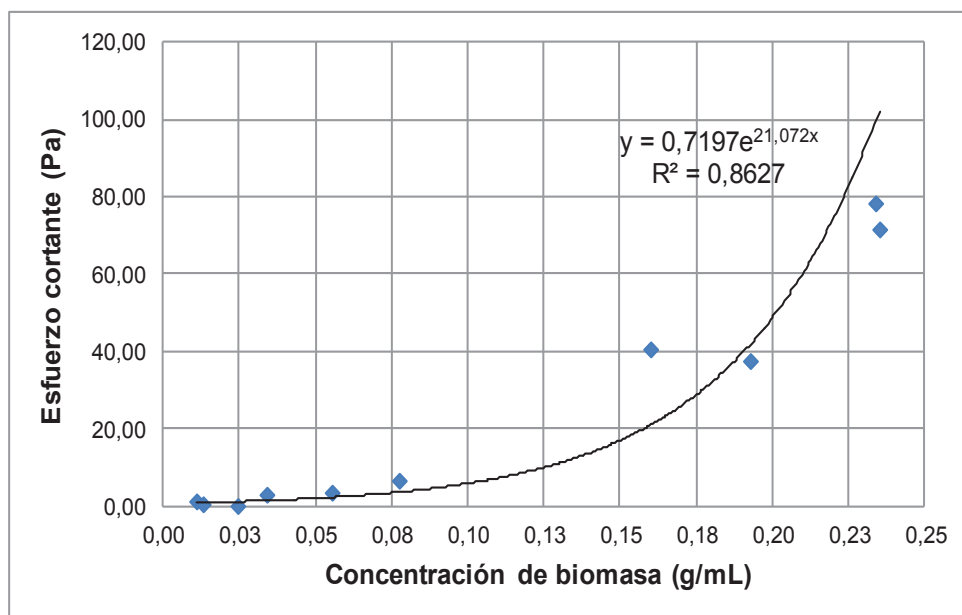


Figura 3.24. Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 700 rpm

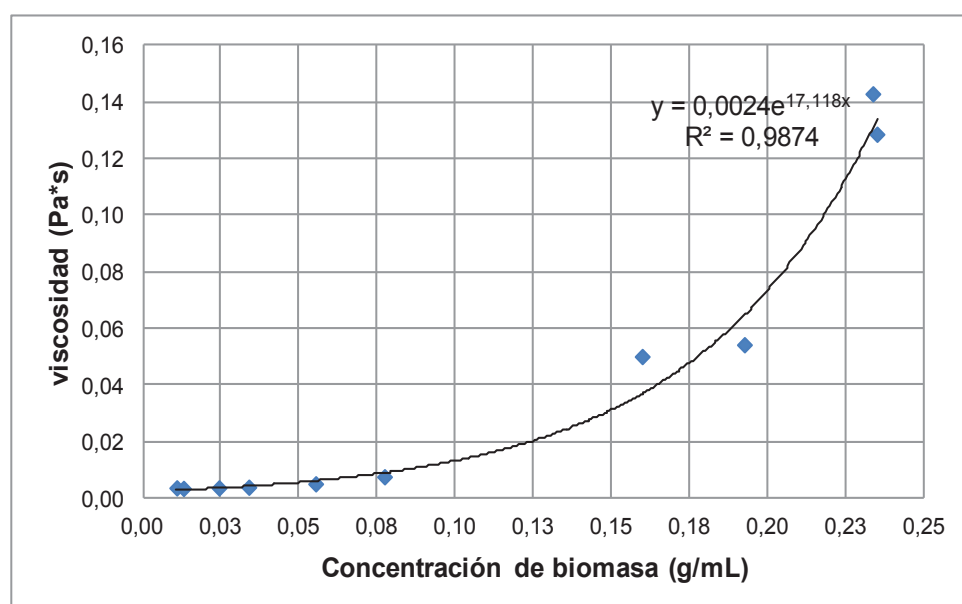


Figura 3.25. Variación de la viscosidad aparente en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 700 rpm

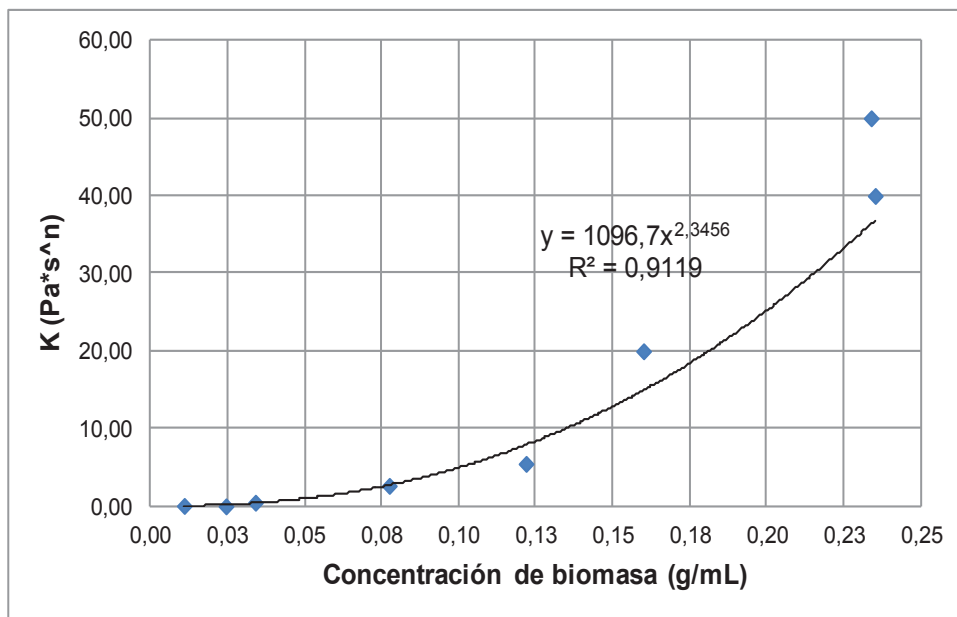


Figura 3.26. Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 700 rpm

En la Figura 3.27 se puede observar que el índice de comportamiento del fluido alcanza menores valores que los obtenidos al trabajar con las anteriores velocidades de agitación, por lo que, y como es obvio, al no tener un incremento en la misma proporción del índice de consistencia, se obtiene una menor viscosidad aparente en el medio, como se pudo observar en la Figura 3.25.

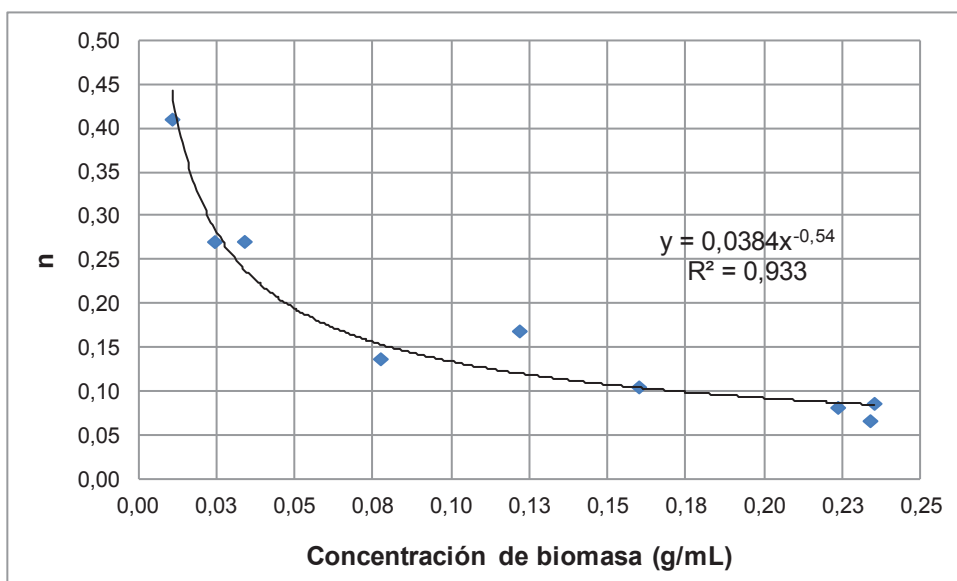


Figura 3.27. Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 700 rpm

3.2.4.5. Variación del esfuerzo cortante (τ), viscosidad aparente (μ_a), índice de consistencia (K) e índice de comportamiento del fluido (n) a lo largo del proceso fermentativo a 800 rpm en el reactor de 2 litros

En la Figura 3.28, Figura 3.29, Figura 3.30 y Figura 3.31, se muestra la variación del esfuerzo cortante, de la viscosidad aparente del sistema, del índice de consistencia y del índice de comportamiento del fluido, a lo largo del proceso fermentativo en el reactor de 2 litros a 800 rpm.

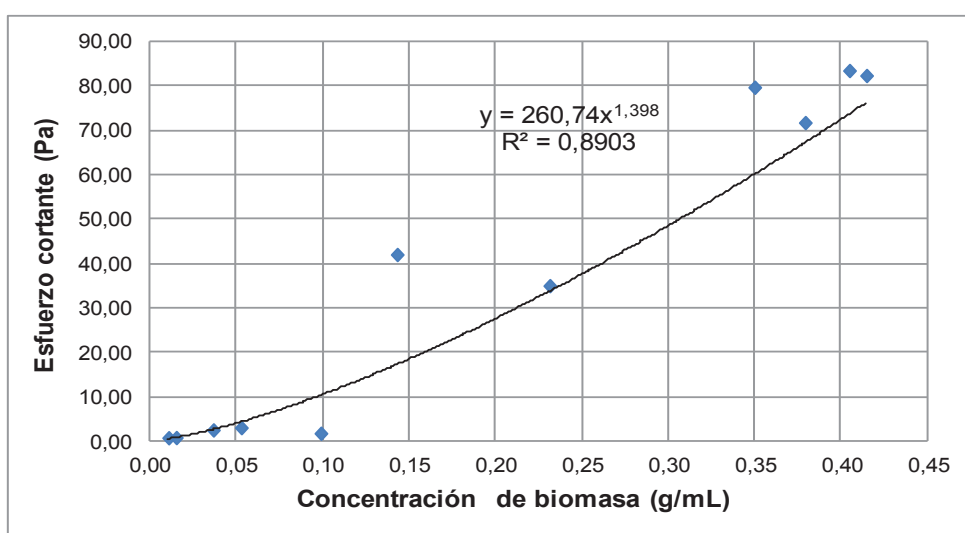


Figura 3.28. Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 800 rpm

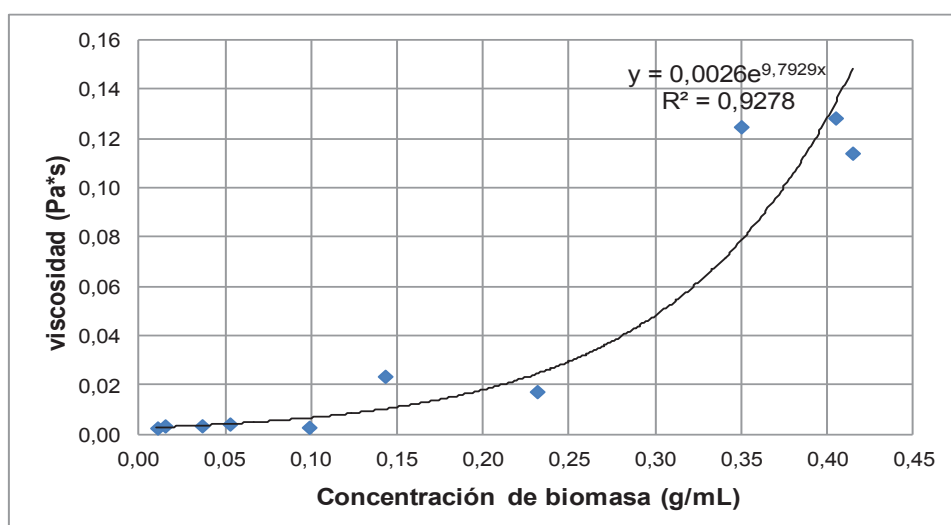


Figura 3.29. Variación de la viscosidad en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 800 rpm

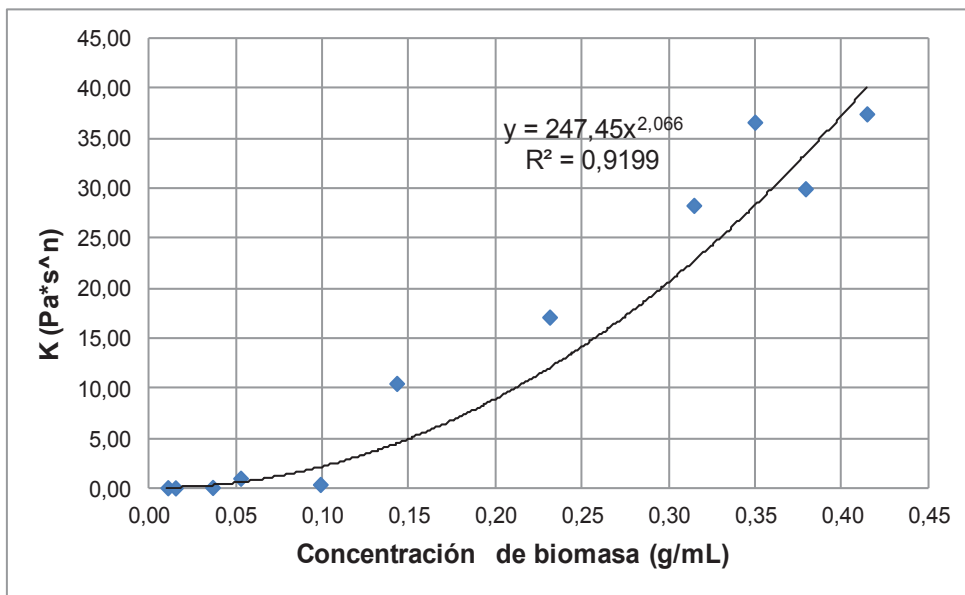


Figura 3.30. Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 800 rpm

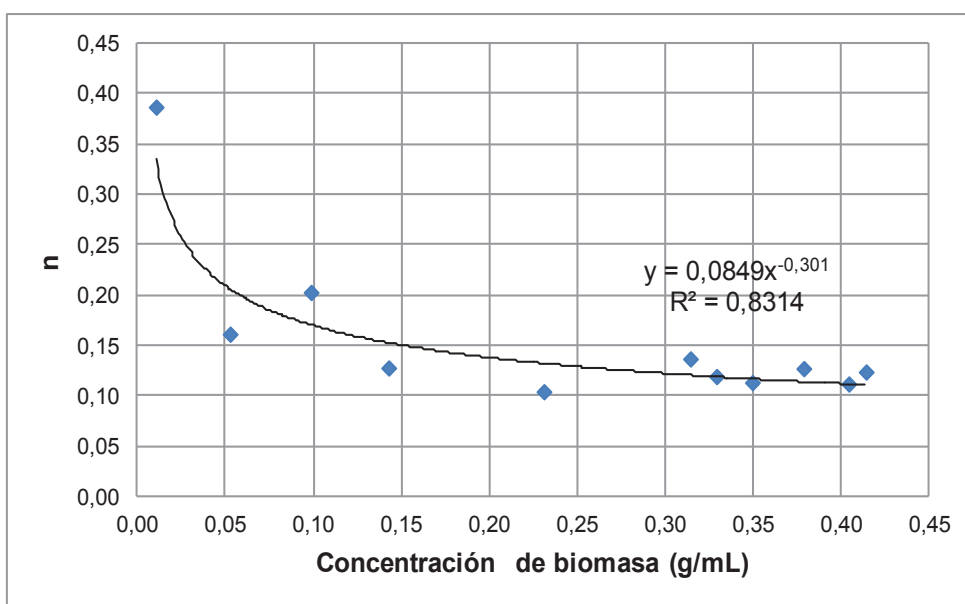


Figura 3.31. Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros a 800 rpm

En la Figura 3.28, Figura 3.29, Figura 3.30 y Figura 3.31 se puede observar que la concentración influye potencialmente en casi todos los casos, a excepción de la viscosidad aparente, donde este incremento es exponencial. No obstante de estas diferencias, las tendencias se encuentran dentro del comportamiento esperado mencionado anteriormente.

3.2.4.6. Variación del esfuerzo cortante (τ), viscosidad aparente (μ_a), índice de consistencia (K) e índice de comportamiento del fluido (n) a lo largo del proceso fermentativo a 500 rpm en el reactor de 14 litros

En la Figura 3.32, Figura 3.33, Figura 3.34 y Figura 3.35, se muestra la variación del esfuerzo cortante, de la viscosidad aparente del sistema, del índice de consistencia y del índice de comportamiento del fluido, a lo largo del proceso fermentativo en el reactor de 14 litros a 500 rpm.

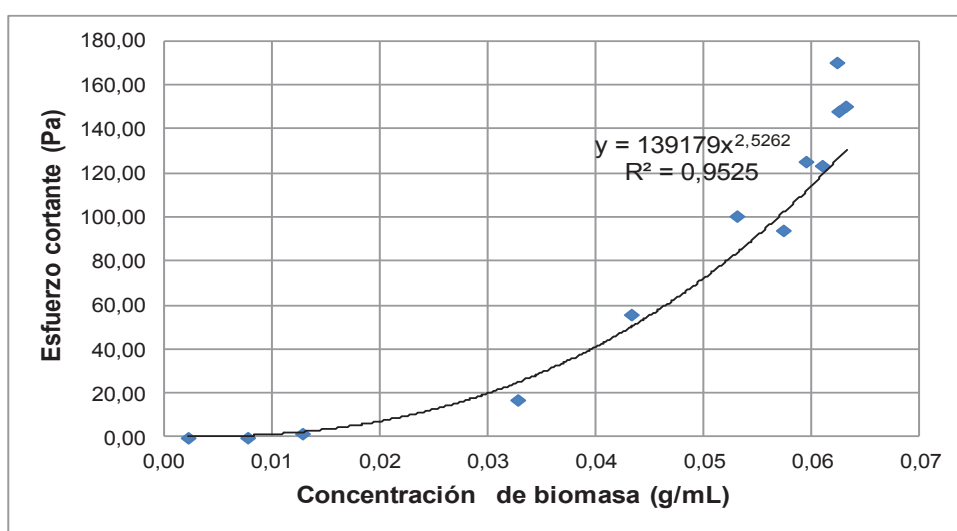


Figura 3.32. Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 500 rpm

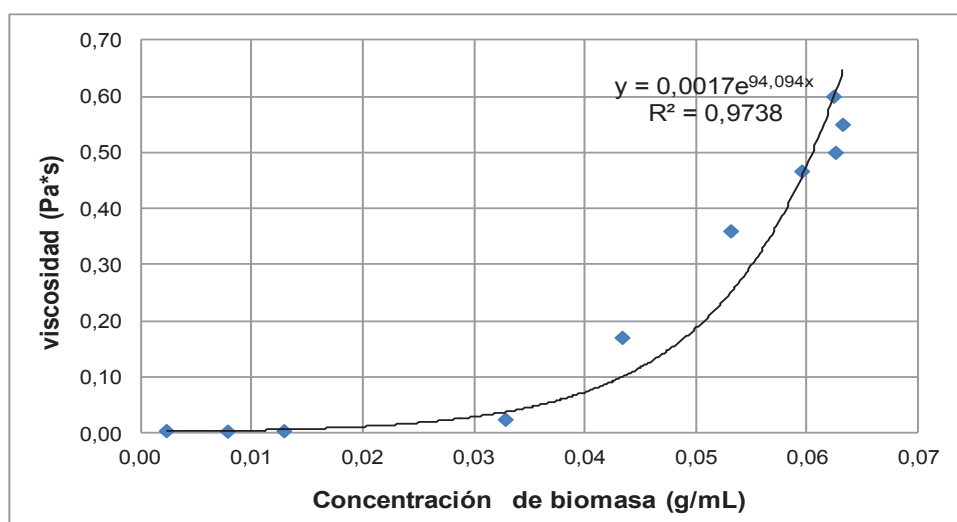


Figura 3.33. Variación de la viscosidad en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 500 rpm

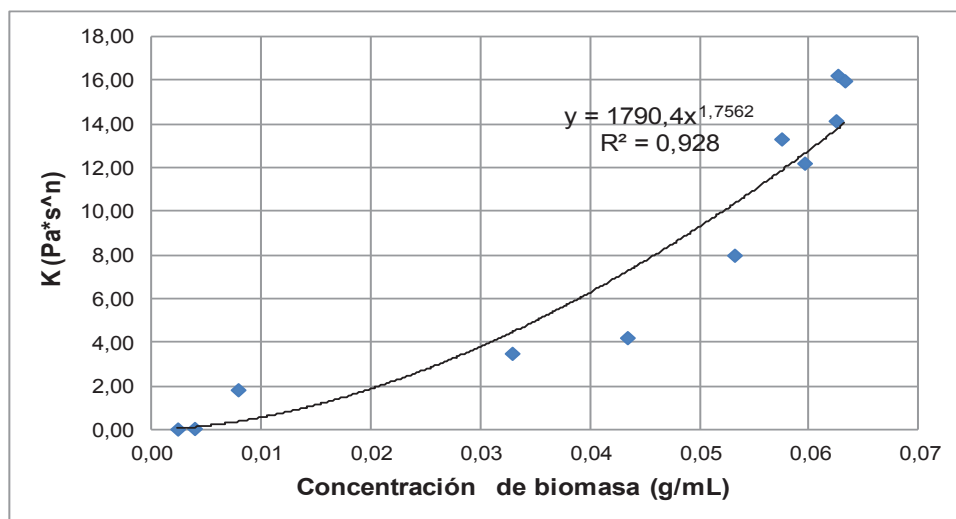


Figura 3.34. Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 500 rpm

En la Figura 3.35 se puede notar, que el índice de comportamiento del fluido disminuye exponencialmente a medida que la concentración de biomasa en el medio se incrementa, sin embargo, no fue posible representar todos los puntos de la variación de dicho índice en la gráfica ya que se alejaban de la tendencia del sistema, lo que pudo haber sido ocasionado por errores en el muestreo o por el tiempo de almacenamiento de la muestra previo a su análisis reológico, motivo por el cual también se obtuvieron picos fluctuantes en la Figura 3.32, Figura 3.33 y Figura 3.34.

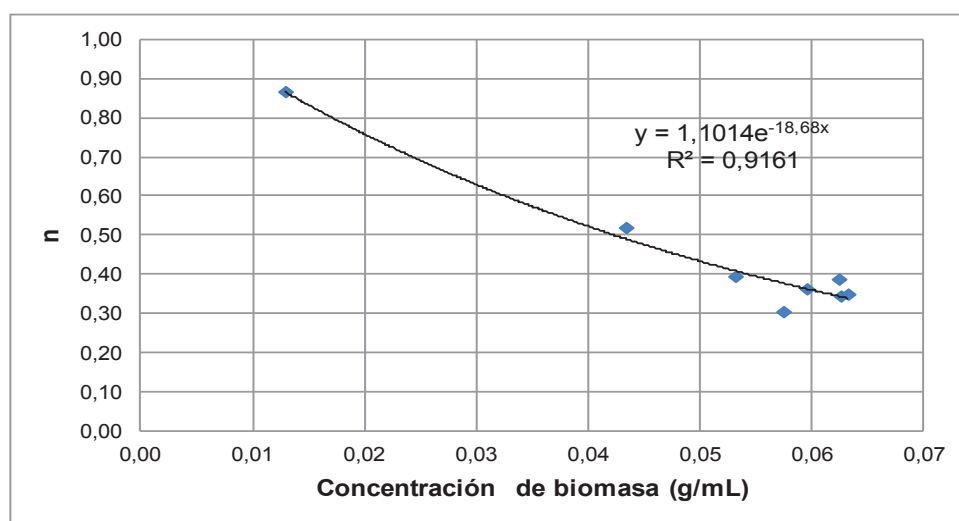


Figura 3.35. Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 500 rpm

3.2.4.7. Variación del esfuerzo cortante (τ), viscosidad aparente (μ_a), índice de consistencia (K) e índice de comportamiento del fluido (n) a lo largo del proceso fermentativo a 600 rpm en el reactor de 14 litros

En la Figura 3.36, Figura 3.37, Figura 3.38 y Figura 3.39, se muestra la variación del esfuerzo cortante, de la viscosidad aparente del sistema, del índice de consistencia y del índice de comportamiento del fluido, a lo largo del proceso fermentativo en el reactor de 14 litros a 600 rpm.

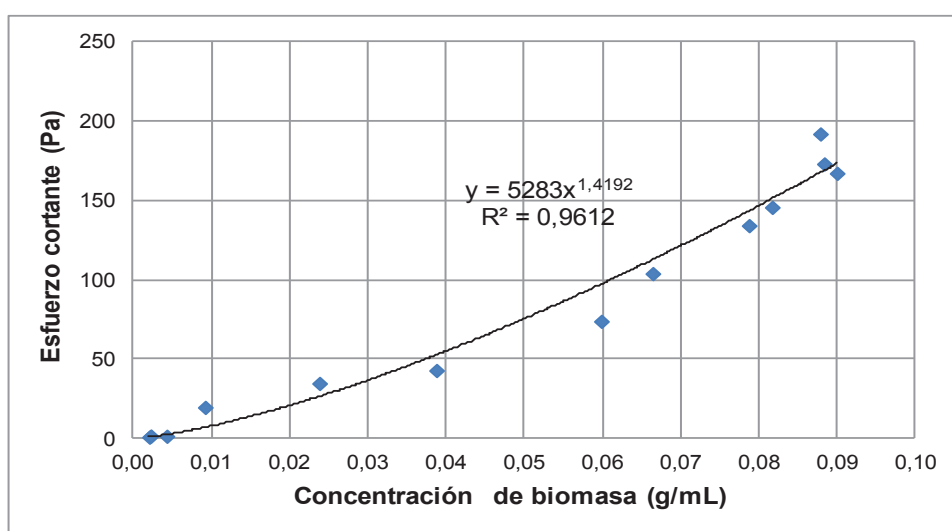


Figura 3.36. Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 600 rpm

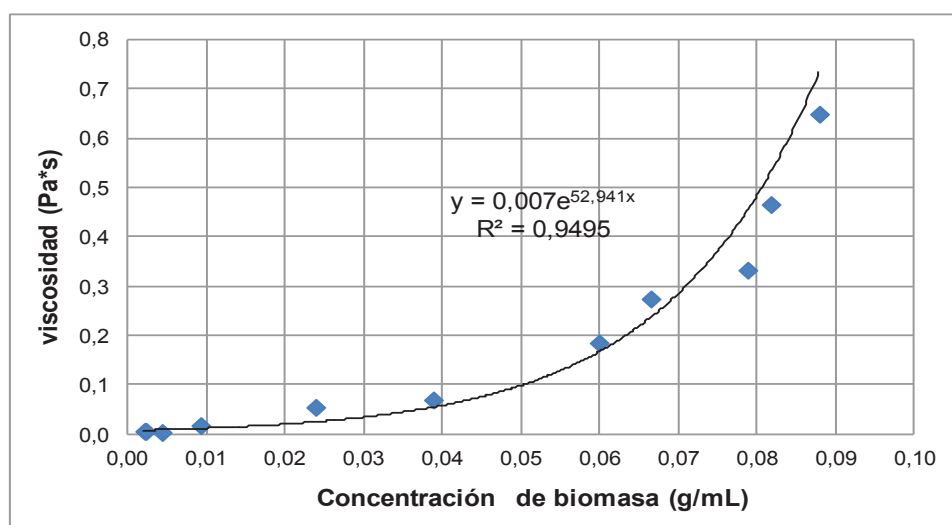


Figura 3.37. Variación de la viscosidad en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 600 rpm

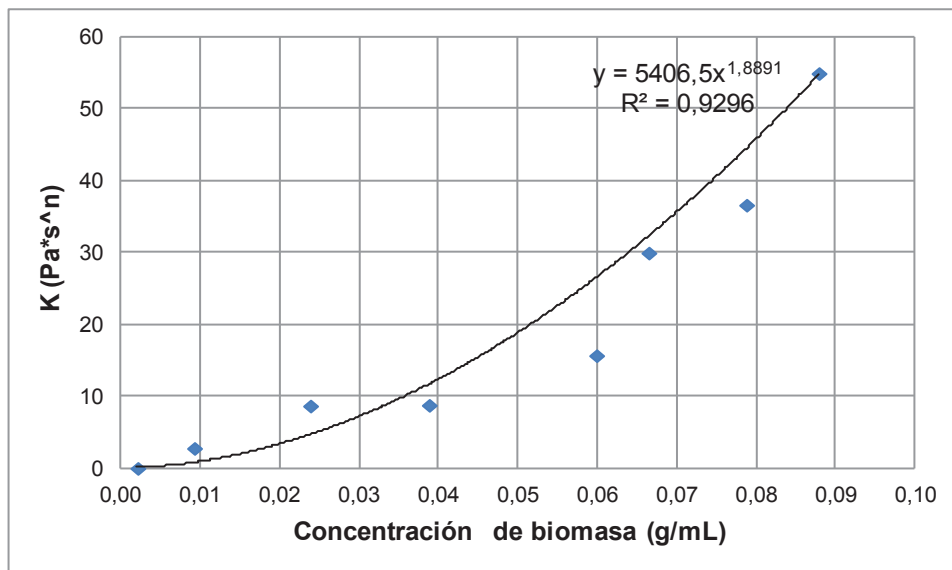


Figura 3.38. Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 600 rpm

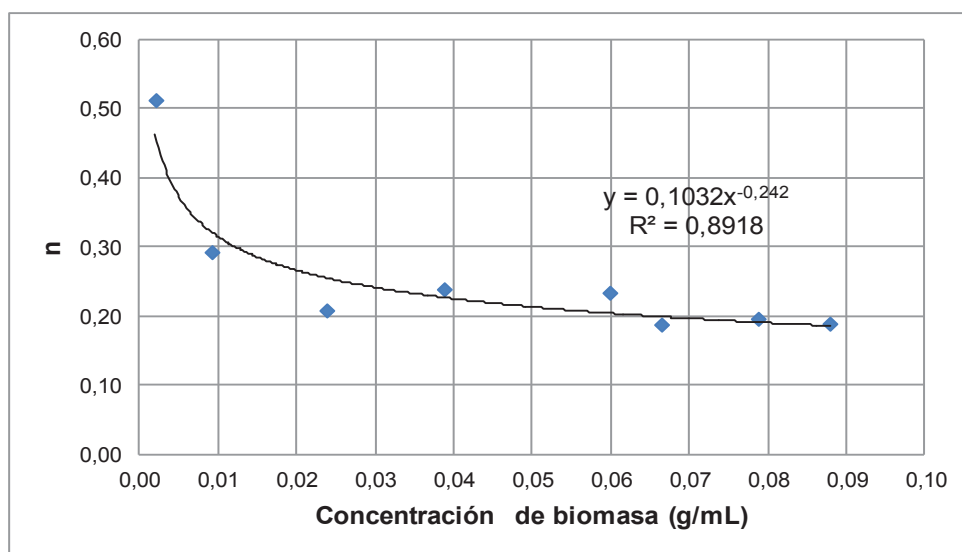


Figura 3.39. Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 600 rpm

3.2.4.8. Variación del esfuerzo cortante (τ), viscosidad aparente (μ_a), índice de consistencia (K) e índice de comportamiento del fluido (n) a lo largo del proceso fermentativo a 700 rpm en el reactor de 14 litros

En la Figura 3.40, Figura 3.41, Figura 3.42 y Figura 3.43, se muestra la variación del esfuerzo cortante, de la viscosidad aparente del sistema, del índice de

consistencia y del índice de comportamiento del fluido, a lo largo del proceso fermentativo en el reactor de 14 litros a 700 rpm.

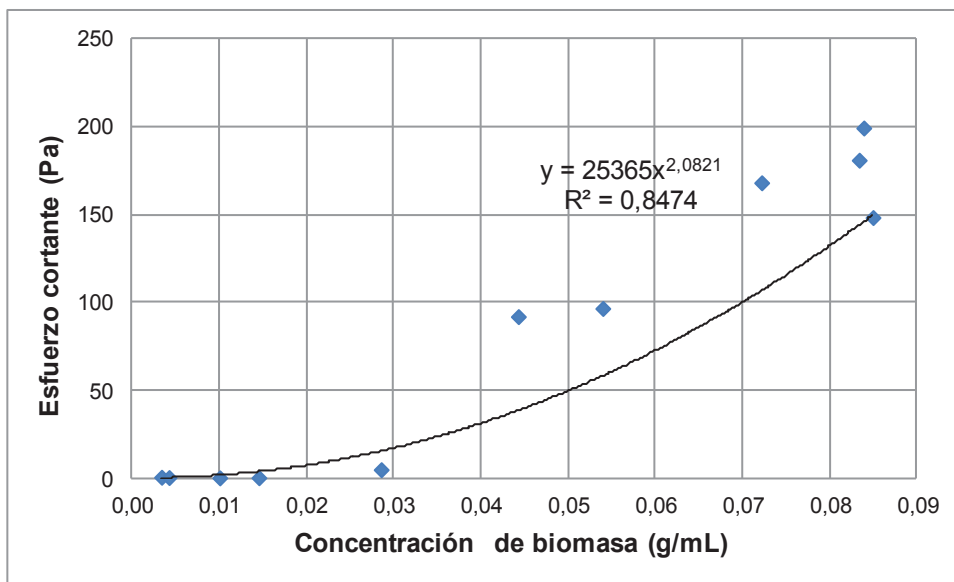


Figura 3.40. Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 700 rpm

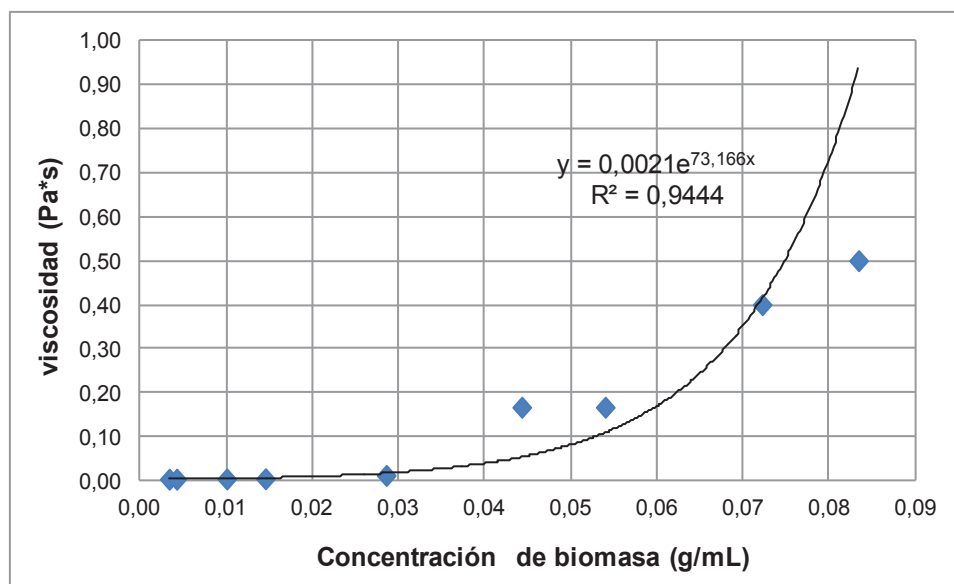


Figura 3.41. Variación de la viscosidad en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 700 rpm

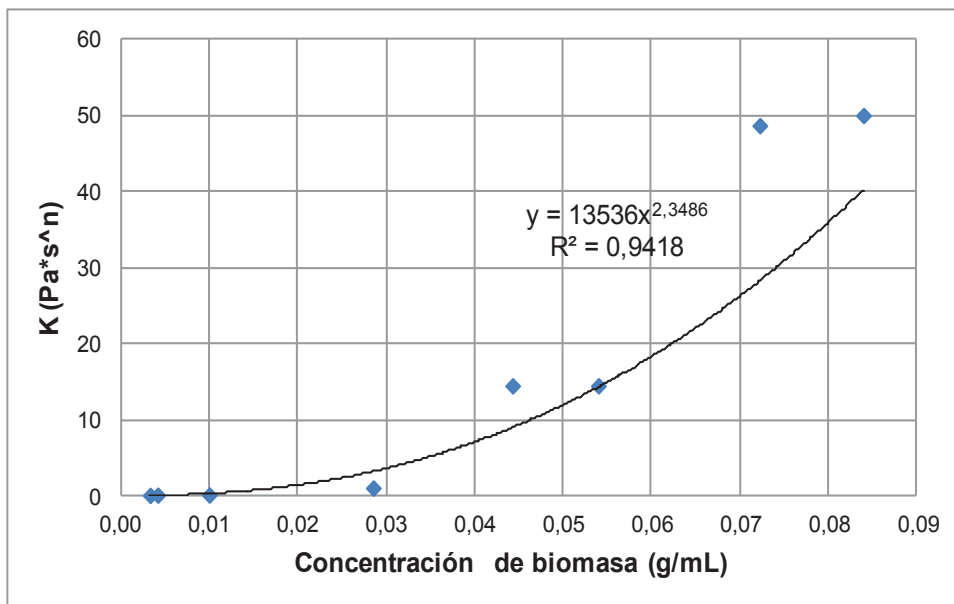


Figura 3.42. Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 700 rpm

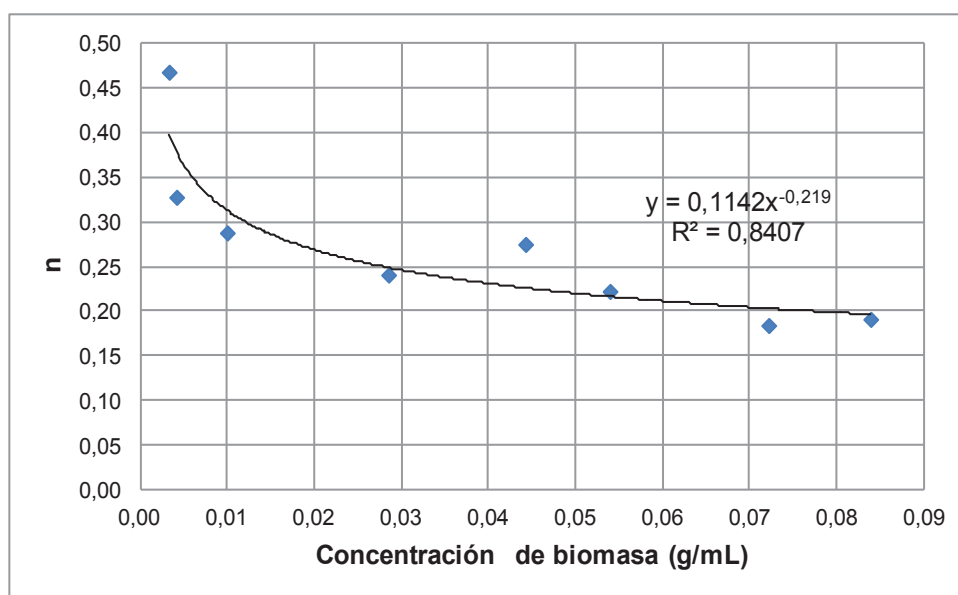


Figura 3.43. Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 700 rpm

En la Figura 3.43 se puede notar que el índice de comportamiento del fluido alcanza un valor final de la misma magnitud que en el caso cuando se lleva a cabo la fermentación en el reactor de 14 litros a 600 rpm, sin embargo la viscosidad final es menor, lo que se debe a la disminución del índice de consistencia, como se puede observar en la Figura 3.41 y Figura 3.42.

3.2.4.9. Variación del esfuerzo cortante (τ), viscosidad aparente (μ_a), índice de consistencia (K) e índice de comportamiento del fluido (n) a lo largo del proceso fermentativo a 800 rpm en el reactor de 14 litros

En la Figura 3.44, Figura 3.45, Figura 3.46 y Figura 3.47, se muestra la variación del esfuerzo cortante, de la viscosidad aparente del sistema, del índice de consistencia y del índice de comportamiento del fluido, a lo largo del proceso fermentativo en el reactor de 14 litros a 800 rpm.

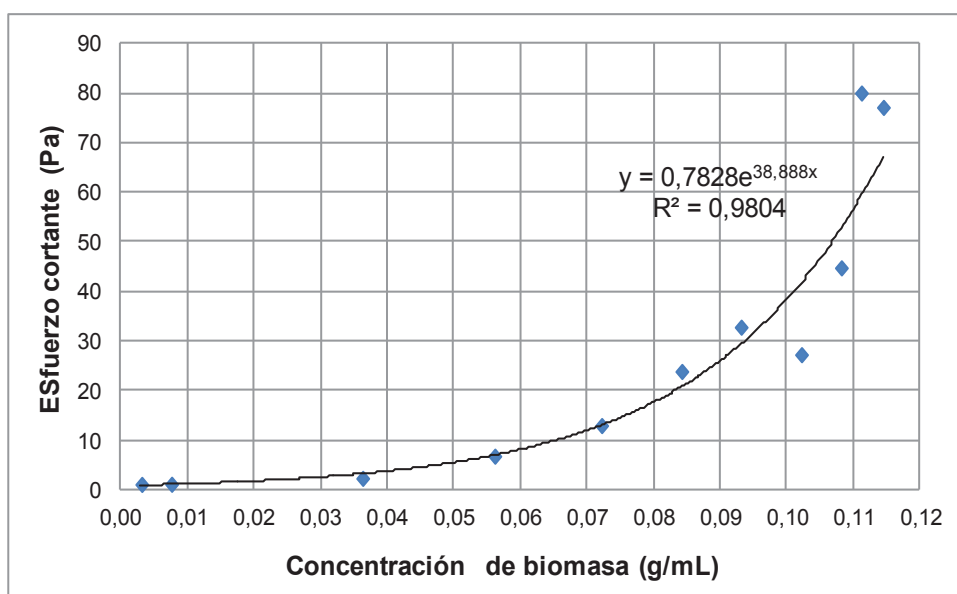


Figura 3.44. Variación del esfuerzo cortante en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 800 rpm

En la Figura 3.45 se puede observar que la regresión que ajusta a una curva exponencial a la curva de la viscosidad aparente en función de la concentración de biomasa, presenta un índice de correlación bajo, y que, el valor final de la viscosidad aparente es mucho menor que los obtenidos con las otras velocidades de agitación, lo que corrobora la atipicidad de los resultados obtenidos a 800 rpm.

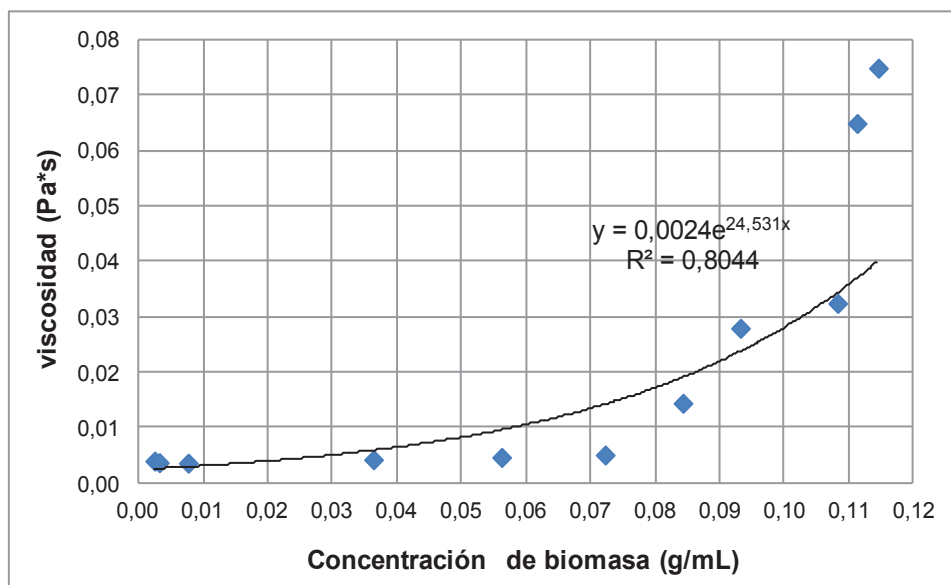


Figura 3.45. Variación de la viscosidad en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 800 rpm

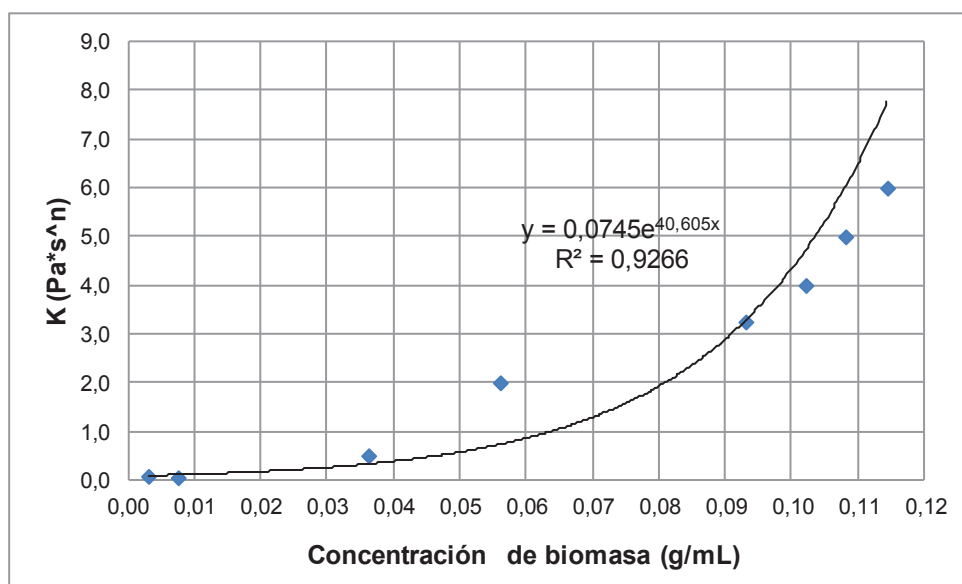


Figura 3.46. Variación del índice de consistencia en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 800 rpm

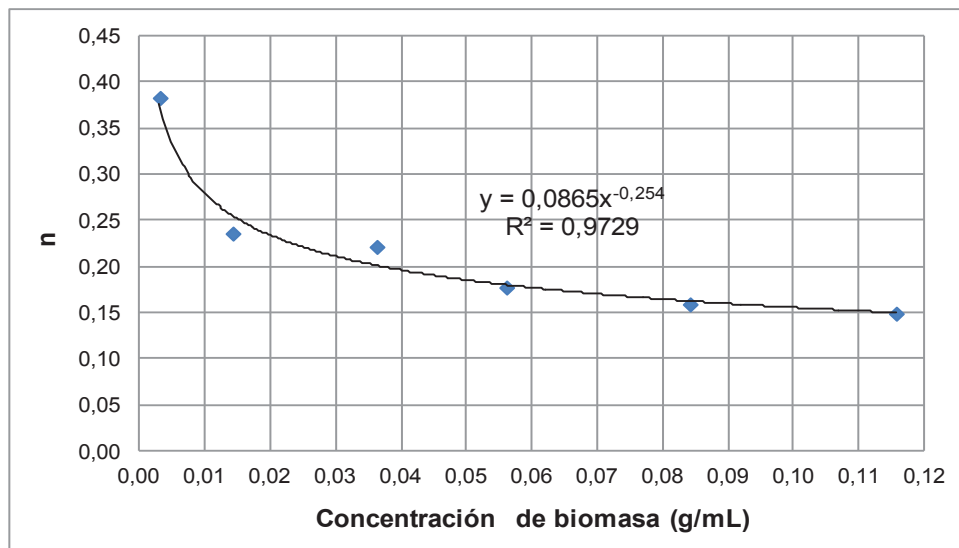


Figura 3.47. Variación del índice de comportamiento del fluido en función de la concentración de biomasa en el reactor de 14 litros a 800 rpm

3.2.4.10. Esfuerzo cortante (τ) en los reactores de 2 y 14 litros a 500, 600, 700 y 800 rpm

El esfuerzo cortante fue estudiado con mayor detalle debido a que puede modificar las características morfológicas del pellet.

Para esto, se consolidaron las variaciones del esfuerzo cortante en función del incremento de la concentración de biomasa para cada velocidad de agitación en los reactores de 2 y 14 litros. Estos resultados se muestran en la Figura 3.48 y Figura 3.49.

En la Figura 3.48 se puede observar que el esfuerzo cortante no aumenta a medida que se incrementa la velocidad de agitación, sino que es mayor a 500 rpm, sin que esta tendencia se mantenga a 600 rpm.

De esta aparente inconsistencia se puede inferir que el esfuerzo cortante es influenciado mayormente por la viscosidad aparente del medio, la misma que se debe a la estabilidad microbiana alcanzada a una determinada velocidad de agitación, y que, no puede ser predicha.

Esto quiere decir, que un medio con mayor concentración de biomasa será más viscoso –si la presencia de hifas, no lo aleja de su comportamiento general- y por ende, presentará más resistencia ante el movimiento del agitador, por lo que se requerirá más fuerza para obtener la velocidad de agitación deseada y por ende el esfuerzo cortante se incrementará.

Es por esto, que el esfuerzo cortante a 500 rpm es mayor que el que se obtiene a las velocidades de agitación mayores.

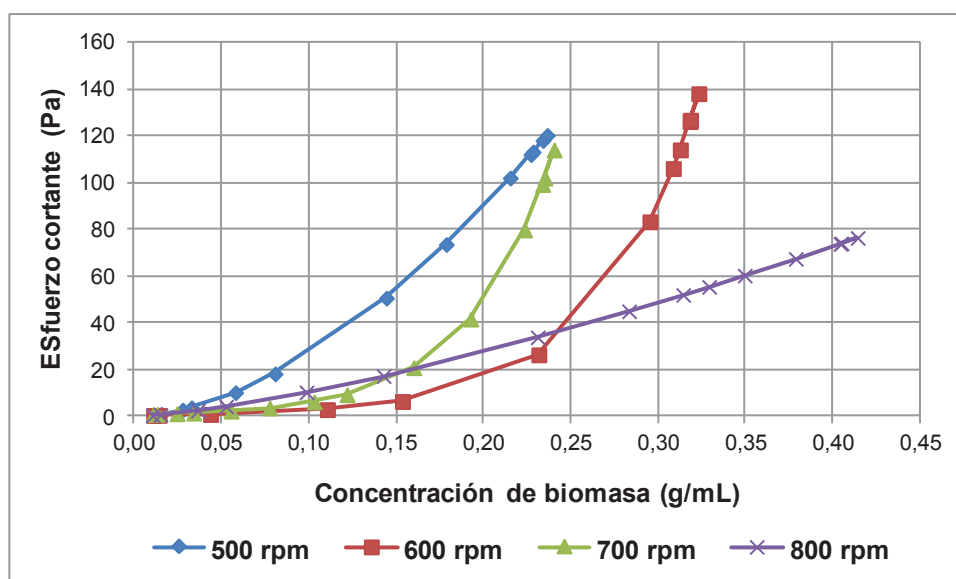


Figura 3.48. Efecto de la concentración de biomasa sobre el esfuerzo cortante en el reactor de 2 litros

En la Figura 3.49 se puede observar que hasta una concentración de aproximadamente 0,055 g/mL el esfuerzo cortante a 600 rpm es mayor que a 500 rpm, luego de lo cual se invierte esta tendencia hasta el término del proceso fermentativo, y el esfuerzo cortante para 500 rpm resulta mayor que el obtenido a las otras velocidades de agitación.

Si se compara la Figura 3.48 con la Figura 3.49 se puede notar que el esfuerzo cortante en el reactor de 14 litros a una misma concentración de biomasa es mucho mayor al que se tiene en el de 2 litros en todos los casos. Esto

aparentemente resulta en una inconsistencia, ya que por el mayor tamaño de la paleta del agitador se esperaría que el esfuerzo cortante sea menor.

Sin embargo, debido a que el medio obtenido en la mayor escala es más viscoso y que por ende se requiere más fuerza para que gire la turbina a una misma velocidad de agitación, el incremento del área de la paleta se vuelve poco relevante.

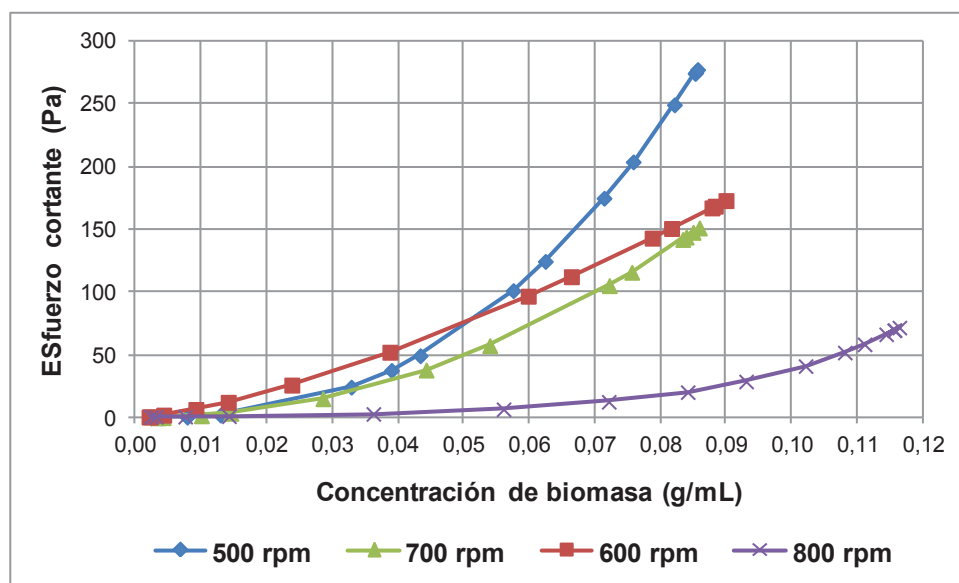


Figura 3.49. Efecto de la concentración de biomasa sobre el esfuerzo cortante en el reactor de 14 litros

3.2.5. RENDIMIENTO MICROBIANO EN FUNCIÓN DEL AZÚCAR CONSUMIDA

Los valores experimentales de los azúcares totales y reductores obtenidos en este trabajo se presentan en el Anexo IV, mientras que los valores de los rendimientos calculados en función de estos valores para cada velocidad de agitación y escala, se presentan en la Tabla 3.12.

De la Tabla 3.12 se puede observar que los rendimientos del reactor de 2 litros fueron mayores que los que se obtuvieron en el reactor de 14 litros. Este efecto se

pudo deber a afectaciones morfológicas debidas al esfuerzo cortante, que en el reactor de 14 litros, a igual número de revoluciones, fue mayor que en el de 2 litros, lo que resultó en un mayor consumo de azúcar y menor generación de biomasa por producción de hifas y baja coalescencia.

Tabla 3.12. Rendimiento microbiano en función del azúcar consumido en la fermentación para los reactores de 2 y 14 litros con velocidades de agitación altas

| Escala | Velocidad de agitación (rpm) | Azúcares consumidos (kg) | Biomasa generada (kg) | Concentración de biomasa (g/ml) | Rendimiento $Y_{m/o/s}$ (kgbiomasa/kgazúcares consumidos) |
|-----------|------------------------------|--------------------------|-----------------------|---------------------------------|---|
| 2 litros | 500 | 0,24 | 0,40 | 0,237 | 1,51 |
| | 600 | 0,26 | 0,54 | 0,319 | 1,99 |
| | 700 | 0,26 | 0,33 | 0,193 | 1,44 |
| | 800 | 0,26 | 0,69 | 0,405 | 2,61 |
| 14 litros | 500 | 1,73 | 1,11 | 0,086 | 0,45 |
| | 600 | 2,05 | 1,14 | 0,088 | 0,54 |
| | 700 | 2,34 | 1,08 | 0,084 | 0,44 |
| | 800 | 1,98 | 1,48 | 0,114 | 0,73 |

3.2.6. VALOR EXPERIMENTAL DE LA VELOCIDAD ESPECÍFICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO PARA TODOS LOS PROCESOS FERMENTATIVOS

3.2.6.1. Determinación experimental de la velocidad específica de crecimiento microbiano en el reactor de 2 Litros

Del análisis de la variación de la velocidad específica de crecimiento microbiano con respecto al tiempo fue posible determinar el valor de la constante cinética.

Los resultados de estos experimentos se muestran a continuación en la Figura 3.50, Figura 3.51, Figura 3.52 y Figura 3.53.

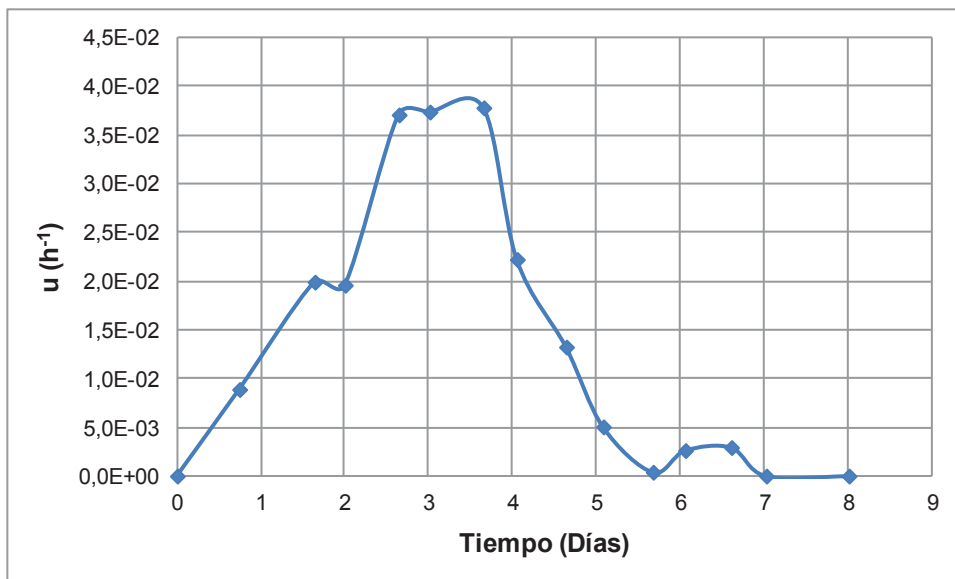


Figura 3.50. Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros con una velocidad de agitación de 500 rpm

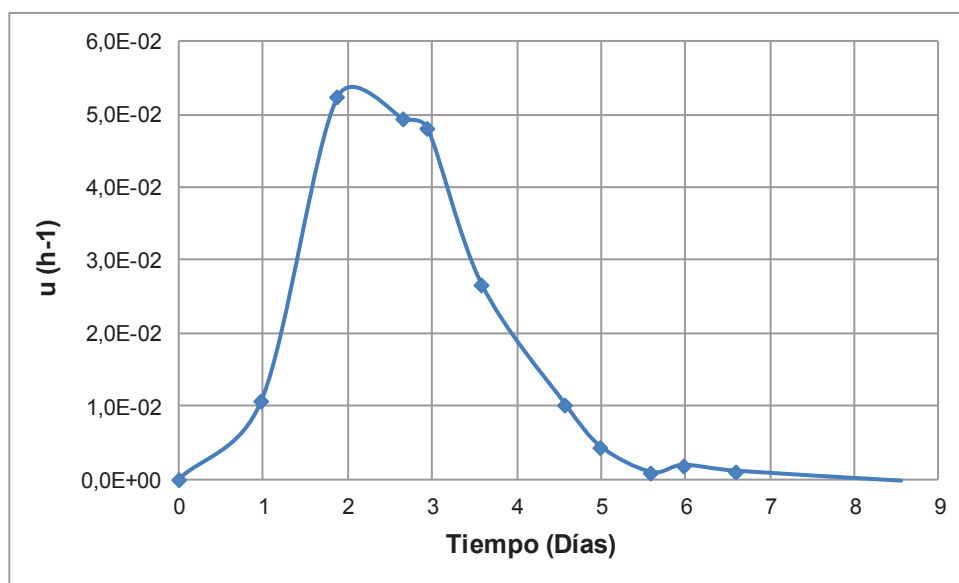


Figura 3.51. Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros con una velocidad de agitación de 600 rpm

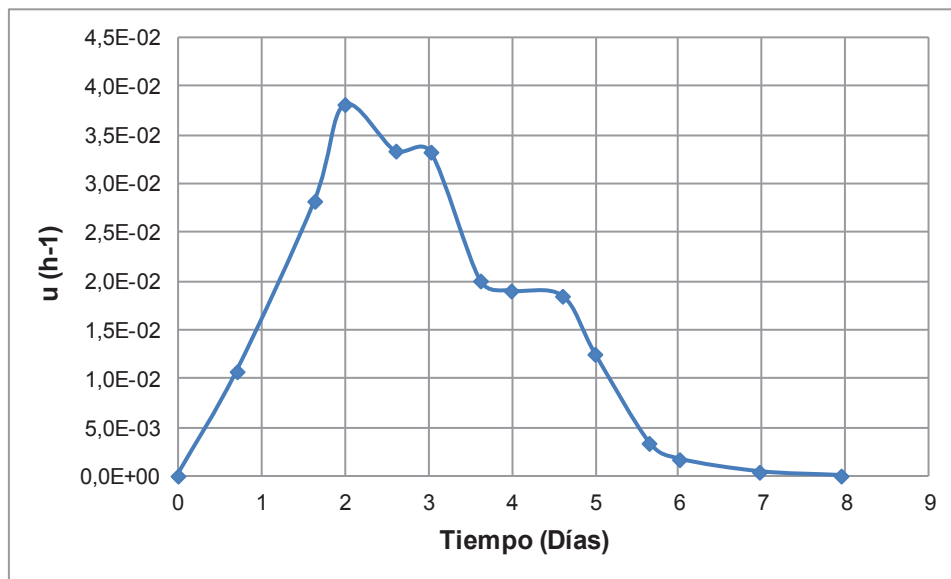


Figura 3.52. Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros con una velocidad de agitación de 700 rpm

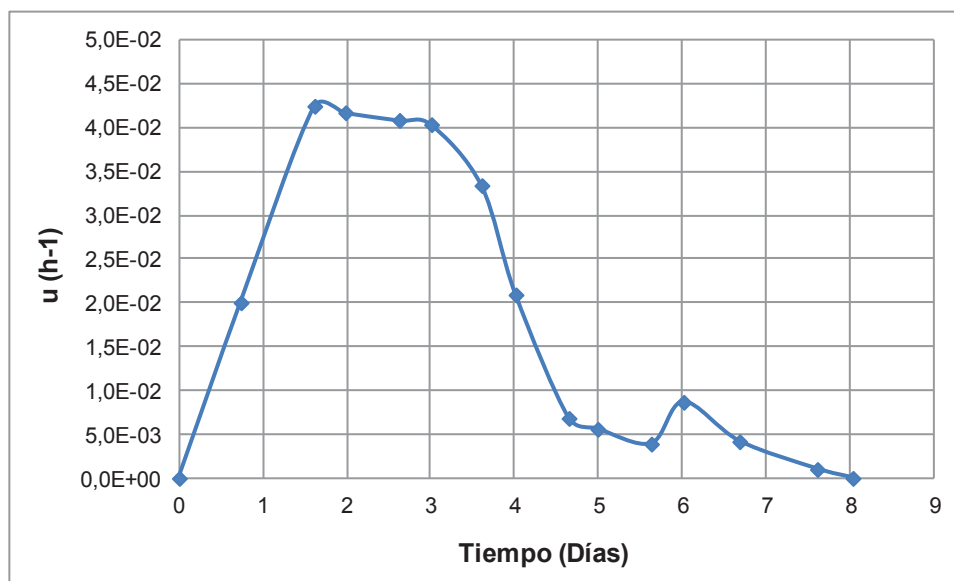


Figura 3.53. Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros con una velocidad de agitación de 800 rpm

El valor de la constante cinética para cada velocidad de agitación se obtuvo de las curvas de la velocidad específica de crecimiento microbiano. Estos datos fueron consignados en la Tabla 3.13.

En la Tabla 3.13 se puede observar que el mayor valor de la constante cinética en el crecimiento exponencial, y por ende el menor tiempo de generación celular, se

obtuvo al trabajar con una velocidad de agitación de 600 rpm. Por esta razón, y por las mencionadas y en la sección 3.2.3, sobre la morfología del pellet obtenido, se tomó esta velocidad de agitación como la más propicia para realizar el proceso de escalado.

Tabla 3.13. Tiempo de generación celular y valor de la constante cinética en el crecimiento exponencial en el reactor de 2 litros a 500, 600, 700 y 800 rpm

| Velocidad de agitación (rpm) | Tiempo de generación celular en el crecimiento exponencial (h) | Valor de la constante cinética en el crecimiento exponencial (h⁻¹) |
|-------------------------------------|---|--|
| 500 | 18,51 | 3,75E-02 |
| 600 | 13,88 | 5,00E-02 |
| 700 | 19,91 | 3,50E-02 |
| 800 | 16,76 | 4,14E-02 |

3.2.6.2. Determinación experimental de la velocidad específica de crecimiento microbiano en el reactor de 14 Litros

La determinación de la constante cinética para el reactor de 14 litros se realizó de igual forma que para el reactor de 2 litros. Sin embargo estos datos no se emplearon en el escalo, sino que únicamente permitieron estudiar el crecimiento microbiano en este reactor.

Las curvas de la velocidad específica de crecimiento microbiano se muestran en la Figura 3.54, Figura 3.55, Figura 3.56 y Figura 3.57.

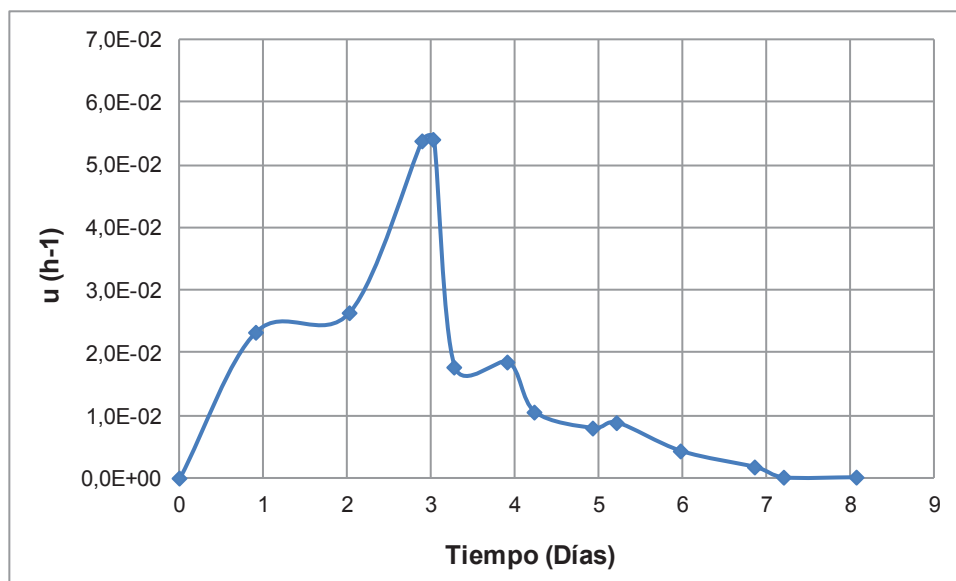


Figura 3.54. Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros con una velocidad de agitación de 500 rpm

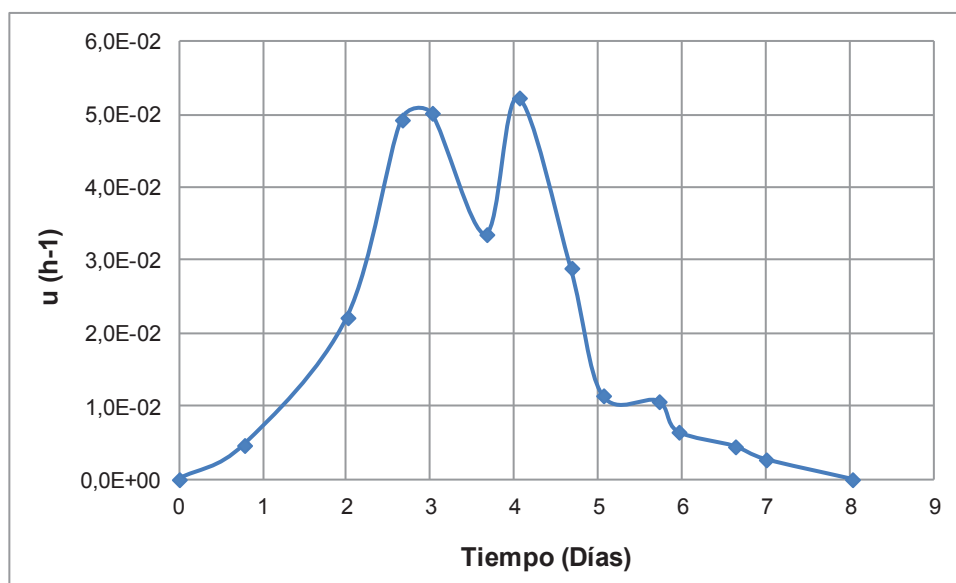


Figura 3.55. Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros con una velocidad de agitación de 600 rpm

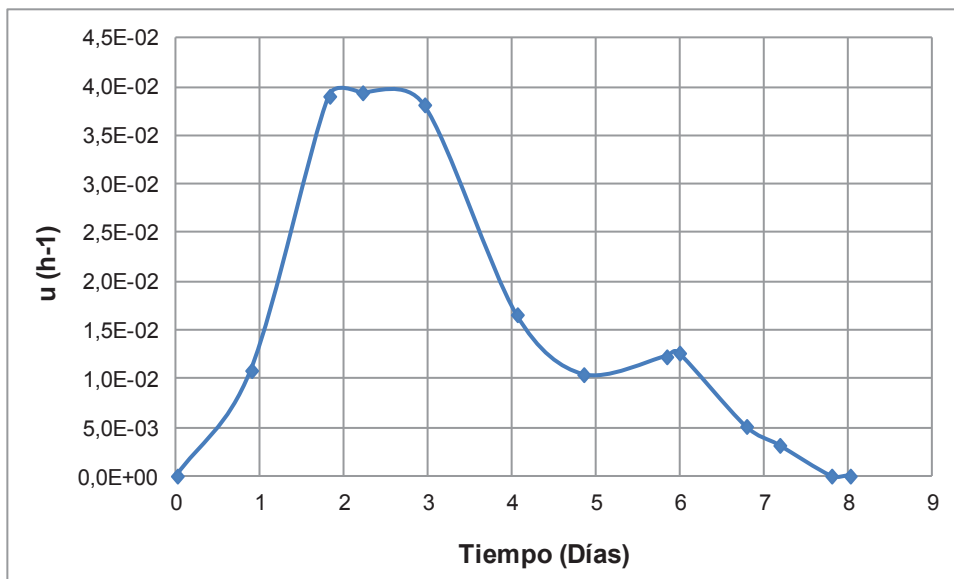


Figura 3.56. Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros con una velocidad de agitación de 700 rpm

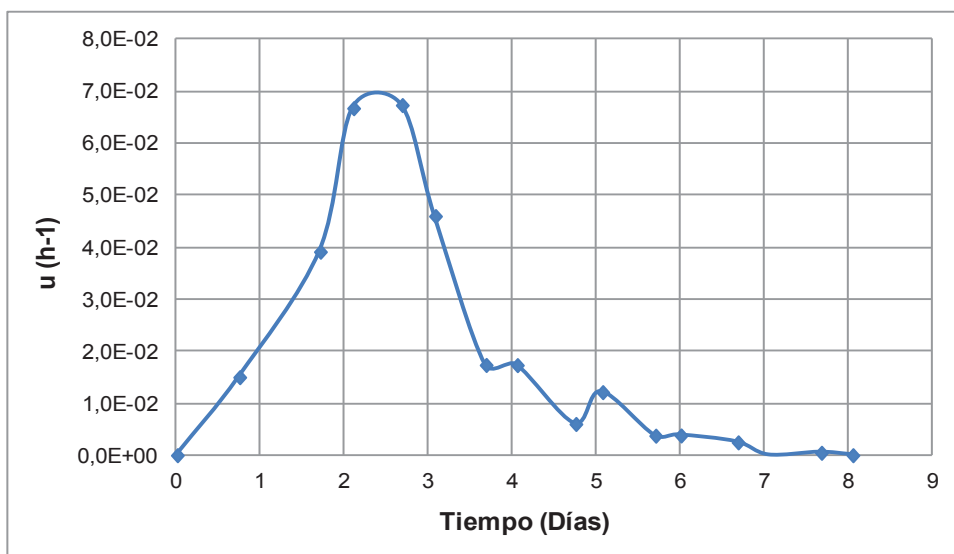


Figura 3.57. Velocidad específica de crecimiento microbiano durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros con una velocidad de agitación de 800 rpm

En las figuras precedentes se puede observar, que el valor máximo de la constante cinética se obtiene mayormente entre el segundo y el tercer día, exceptuándose el caso de la fermentación a 600 rpm.

De la Figura 3.54, Figura 3.55, Figura 3.56 y Figura 3.57, se procedió a tomar los máximos valores de la constante cinética para consignarlos en la Tabla 3.14.

Tabla 3.14. Tiempo de generación celular y valor de la constante cinética en el crecimiento exponencial en el reactor de 14 litros a 500, 600, 700 y 800 rpm

| Velocidad de agitación (rpm) | Tiempo de generación celular en el crecimiento exponencial (h) | Valor de la constante cinética en el crecimiento exponencial (h ⁻¹) |
|------------------------------|--|---|
| 500 | 12,83 | 5,40E-02 |
| 600 | 13,94 | 4,97E-02 |
| 700 | 17,84 | 3,89E-02 |
| 800 | 10,34 | 6,70E-02 |

En la Tabla 3.14 se puede notar que los valores de la constante cinética en el rango de 500 a 700 rpm disminuyen con la velocidad de agitación, el valor de la constante cinética a 800 rpm no sigue esta tendencia. Sin embargo esta desviación no se consideró en el análisis ya que consistentemente los resultados obtenidos a 800 rpm se caracterizaron por atipicidad.

Esta relación inversa entre la velocidad de agitación y la constante cinética podría deberse a una disminución de la estabilidad microbiana, ocasionada por el incremento del esfuerzo cortante que se estudió en la sección 3.2.4.10.

3.3. INFLUENCIA DE LA AGITACIÓN EN LA TRANSFERENCIA DE MASA Y TAMAÑO DEL PELLET

3.3.1. INFLUENCIA DE LA AGITACIÓN EN LA TRANSFERENCIA DE MASA

Con los valores de oxígeno disuelto obtenidos mediante el procedimiento descrito en la sección 2.3.1.1, se realizó la gráfica $\ln\left(\frac{C_g^* - C_{Lo}}{C_g^* - C_L}\right)$ versus $(t_2 - t_1)$, como se puede observar en las figuras del Anexo V.

De estas gráficas se obtuvieron los valores del coeficiente volumétrico de transferencia de masa a lo largo del proceso fermentativo, los mismos que se condensaron en el Anexo VI, mientras que las gráficas respectivas pueden

observarse a continuación en la Figura 3.58, Figura 3.59, Figura 3.60, Figura 3.61, Figura 3.62, Figura 3.63, Figura 3.64 y Figura 3.65.

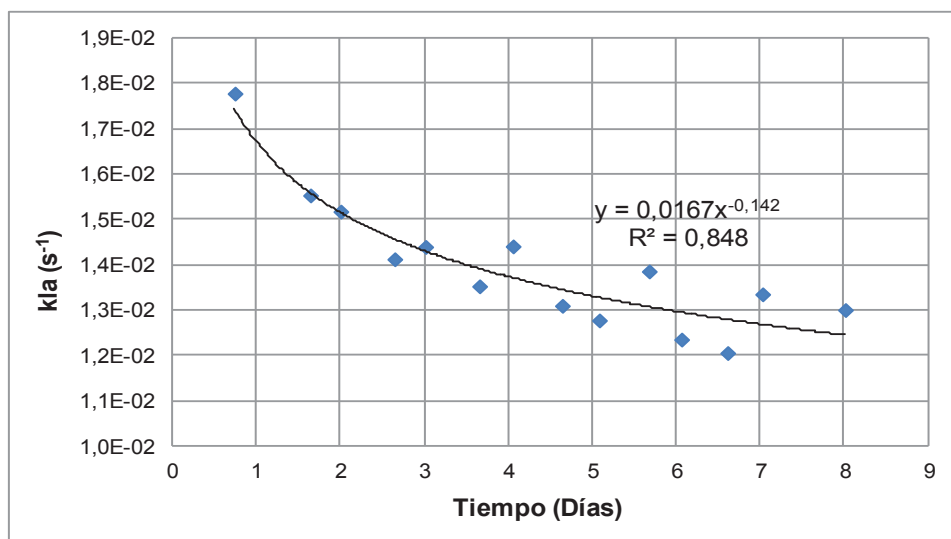


Figura 3.58. Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$ durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros a 500 rpm

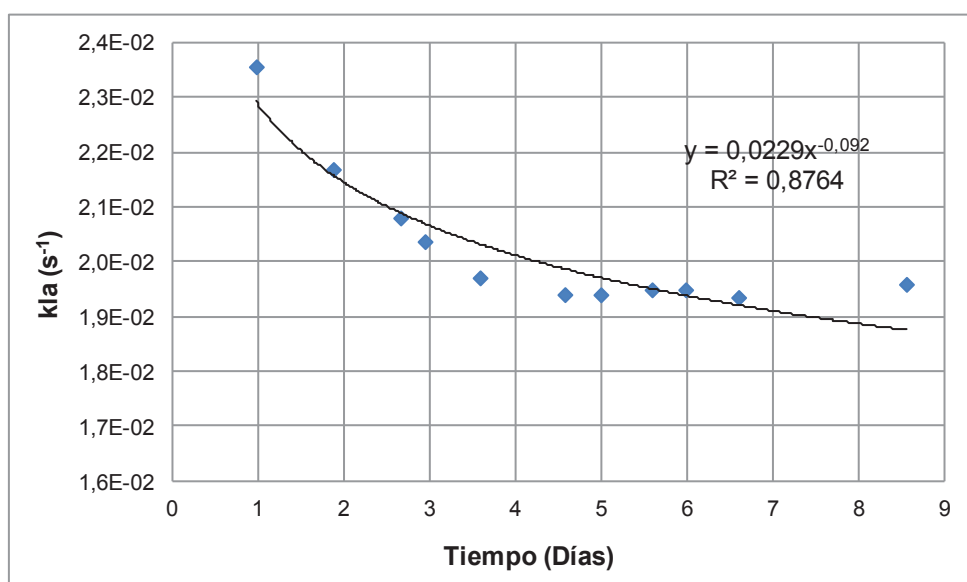


Figura 3.59. Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$ durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros a 600 rpm

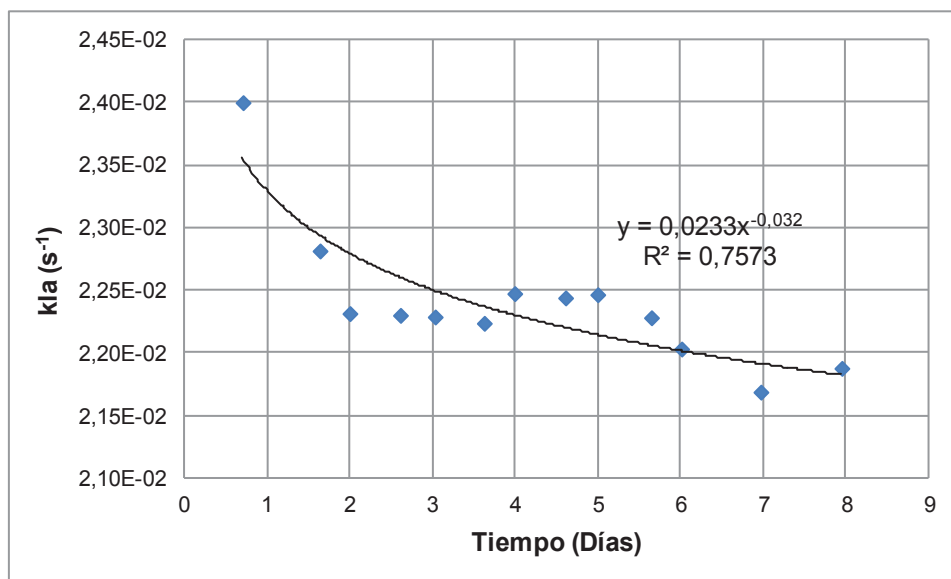


Figura 3.60. Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_La durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros a 700 rpm

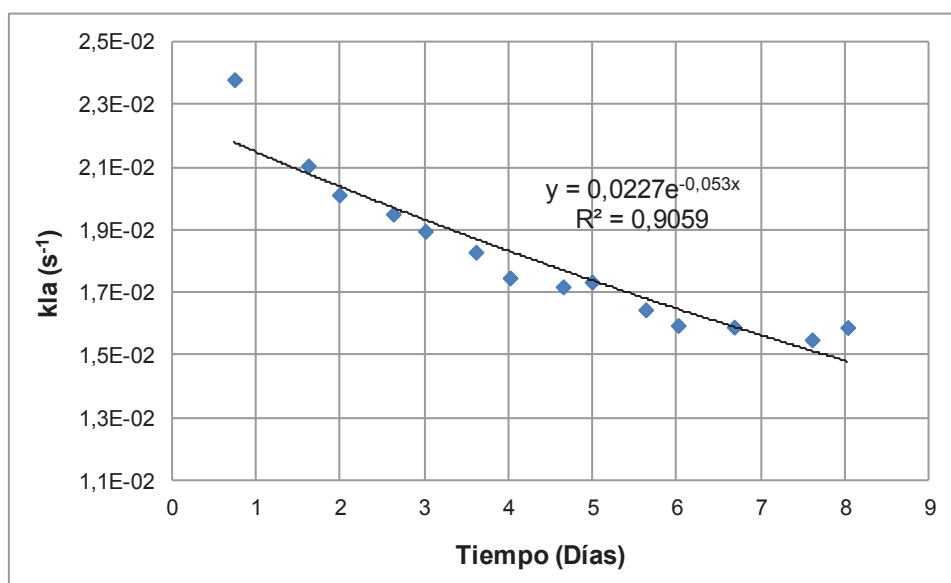


Figura 3.61. Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_La durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros a 800 rpm

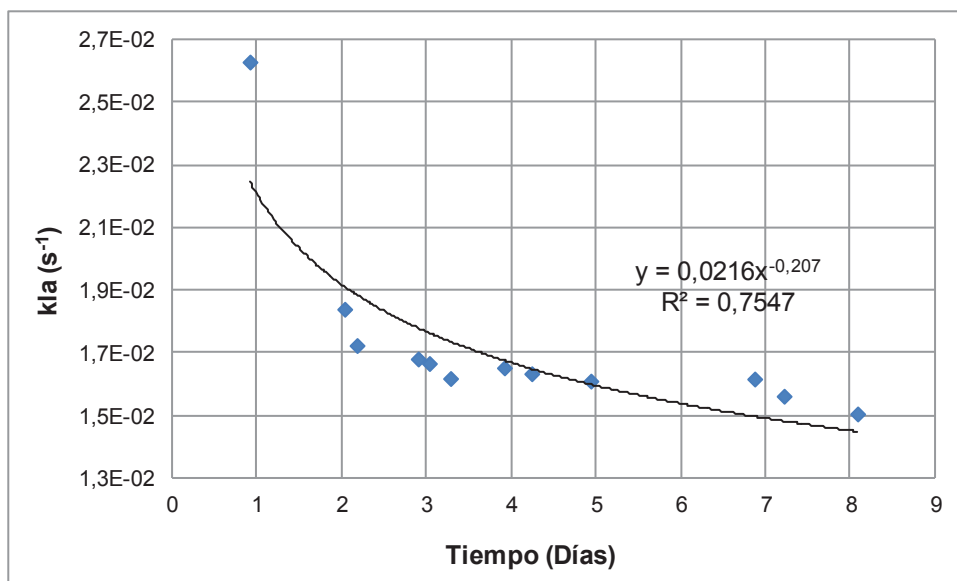


Figura 3.62. Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$ durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros a 500 rpm

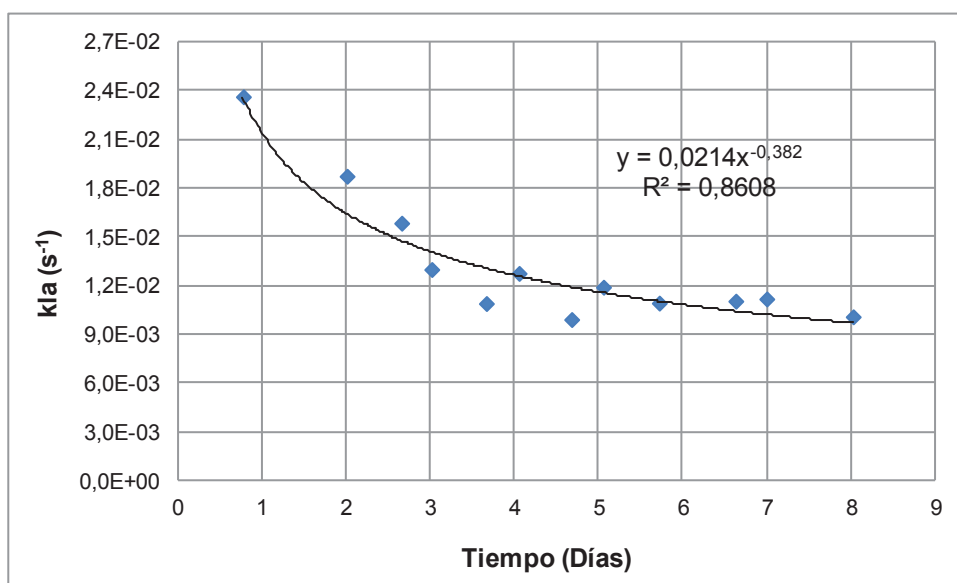


Figura 3.63. Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$ durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros a 600 rpm

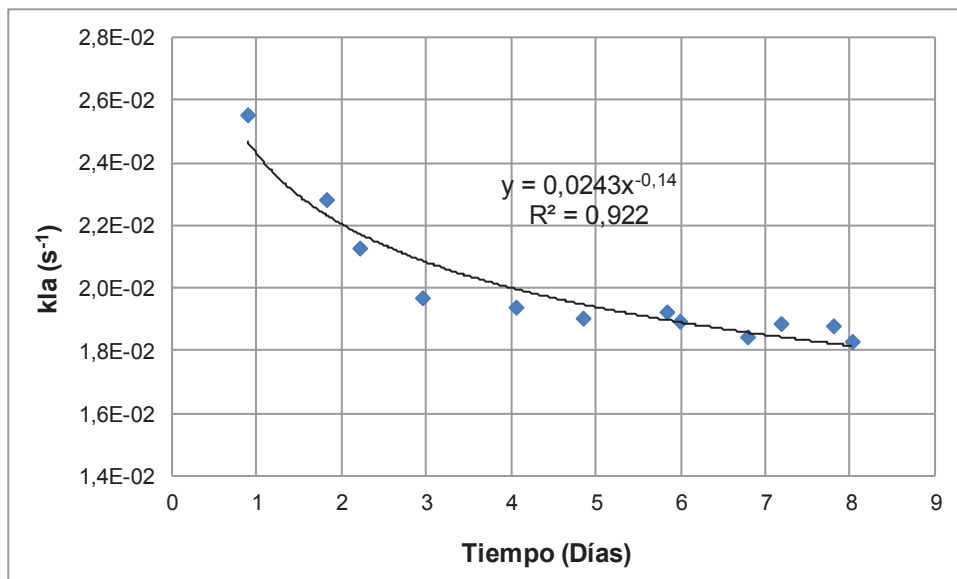


Figura 3.64. Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$ durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros a 700 rpm

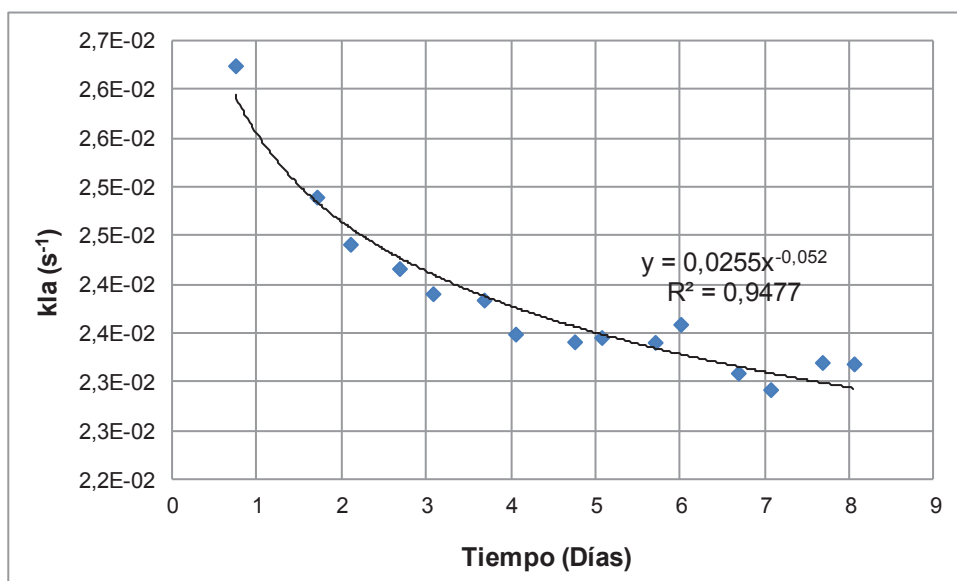


Figura 3.65. Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$ durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros a 800 rpm

En la Figura 3.58, Figura 3.59, Figura 3.60, Figura 3.61, Figura 3.62, Figura 3.63, Figura 3.64 y Figura 3.65 se puede observar que el coeficiente volumétrico de transferencia de masa en el rango de agitación de 500 a 700 rpm en las dos escalas presenta una disminución potencial, mientras que esta disminución para 800 rpm en la menor escala fue exponencial y en la mayor escala potencial,

tendencias que indican que el coeficiente de transferencia de masa disminuye fuertemente a medida que se incrementa el tiempo de fermentación.

A fin de estimar la influencia de la viscosidad en el coeficiente de transferencia de masa, se podría introducir la ecuación de la variación de la viscosidad en el modelo matemático, o considerar el valor más alto de la viscosidad y su correspondiente coeficiente de transferencia de masa, por considerarse estas condiciones como las más drásticas para la transferencia de masa.

3.3.2. INFLUENCIA DE LA AGITACIÓN EN EL TAMAÑO DEL PELLET

Como se estudió en la sección 3.2.2, la velocidad de agitación tuvo una fuerte influencia en el tamaño y la morfología del pellet. Esto se pudo deber a que una agitación deficiente no permitiría que las hifas formaran nuevos pellets, mientras que una velocidad de agitación excesiva impediría la estabilidad microbiana.

Además, cuando la velocidad de agitación fue demasiado baja la transferencia de oxígeno y nutrientes hasta el centro del pellet sería deficitaria, lo que podría haber generado la muerte microbiana antes de la culminación del proceso fermentativo.

3.4. VELOCIDAD DE CRECIMIENTO DEL PELLET EN RELACIÓN CON LA CONCENTRACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO EN EL MEDIO

Según Linden, *et al.*, (2002) el oxígeno disuelto en el medio de cultivo está directamente relacionado con la velocidad del crecimiento microbiano. (p. 69).

A este respecto, es importante indicar que, la velocidad de crecimiento microbiano, que es sumamente importante, no equivale a la *velocidad de formación del pellet*.

Por este motivo, fue necesario estimar la tasa de crecimiento del pellet para establecer las condiciones óptimas que obtengan el menor de los máximos (estrategia mini - max) de la velocidad de formación del pellet.

En la Figura 3.66 se presentan las velocidades de formación del pellet a lo largo del tiempo para los procesos fermentativos realizados en la escala de 2 litros a 500, 600, 700 y 800 rpm, donde se puede observar que el mínimo máximo corresponde al experimento realizado a 600 rpm, y que la zona de los máximos se encuentra entre aproximadamente el segundo y el tercer día del proceso fermentativo.

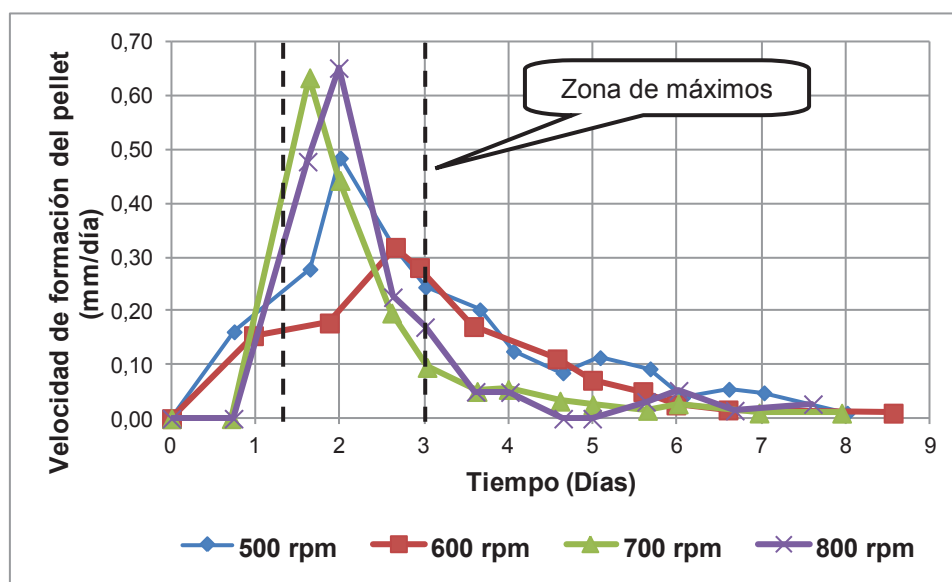


Figura 3.66. Velocidades de formación del pellet durante el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros para todas las velocidades de agitación

La diferencia entre los máximos obtenidos a estas velocidades de agitación puede observarse con más claridad en la curva azul de la Figura 3.67.

El mínimo máximo que se observa en la Figura 3.67 a 600 rpm se debe a que a esta velocidad de agitación se obtuvo un pellet más estable, compacto, y de menor diámetro. Estas características, obtienen -como ya se ha mencionado- una transferencia de masa alta, como se puede observar en la Figura 3.68. Cabe recalcar que en la Figura 3.67 no se consideró los resultados obtenidos a 800

rpm, ya que como se ha mencionado a lo largo de este trabajo, se consideraron atípicos en ambas escalas.

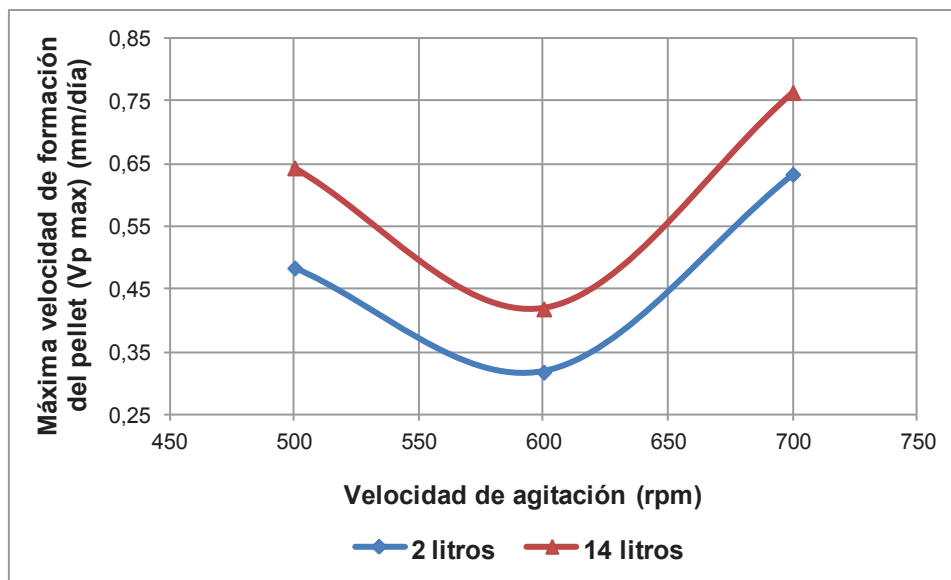


Figura 3.67. Valores máximos de la velocidad de formación del pellet a 500, 600 y 700 rpm en los reactores de 2 y 14 litros

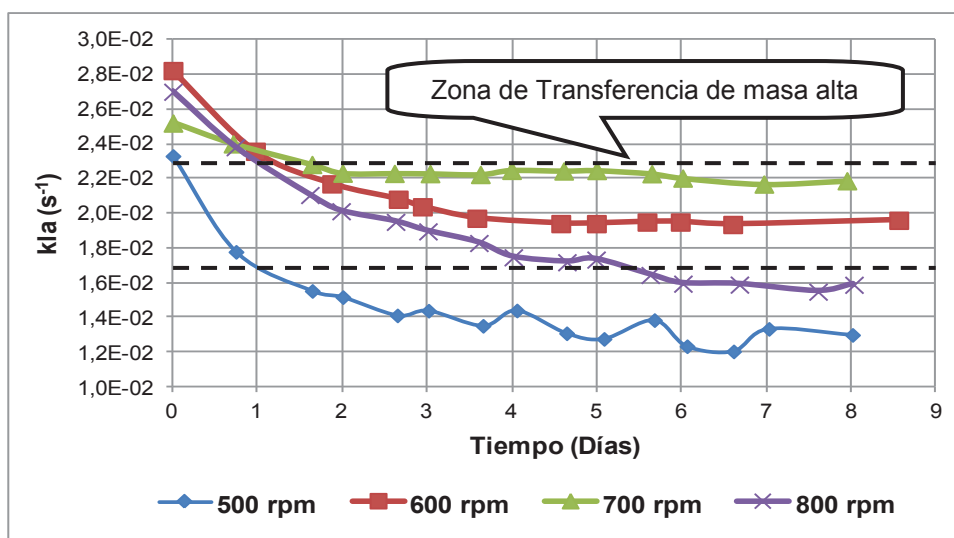


Figura 3.68. Coeficiente de transferencia de masa para todas las velocidades de agitación en el reactor de 2 litros

En la Figura 3.69 se puede observar que para la escala de 14 litros, se obtiene la máxima velocidad de formación del pellet a las velocidades de agitación de 500 y 600 rpm, al tercer día de fermentación. También pueden observarse valores máximos de velocidad de formación del pellet a 700 y 800 rpm, al segundo día de

fermentación, que obtuvieron, sin embargo, pellets menos compactos, al igual que en la escala menor.

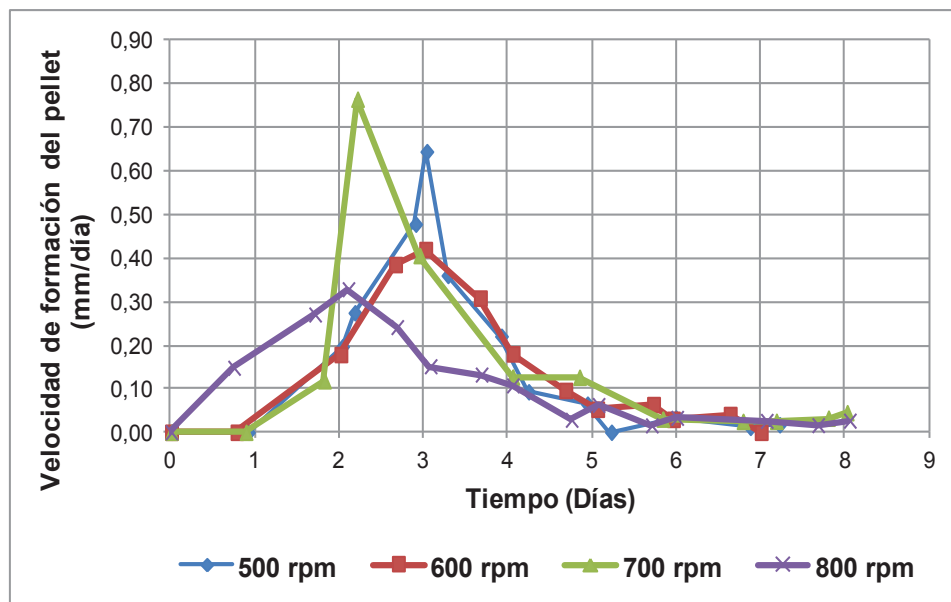


Figura 3.69. Velocidades de formación del pellet durante el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros para todas las velocidades de agitación

En la Figura 3.67 y en la Figura 3.69 se puede observar que a 600 rpm se obtiene el mínimo valor de velocidad de formación del pellet en ambas escalas, y que esto obtiene, así mismo, las mejores características del pellet.

Sin embargo de lo mencionado, en la Figura 3.70 se puede apreciar que en el reactor de 14 litros, la mejor transferencia de masa no se da a 600 rpm, sino que por el contrario, esta transferencia es la menor. Esto se pudo deber a la incidencia de las hifas libres en el medio, que a 600 rpm en el reactor de 14 litros fueron abundantes, y por ende, pudieron haber disminuido la transferencia de masa.

Como se puede observar en la Figura 3.70 y en la Figura 3.71, el coeficiente volumétrico de transferencia de masa varía sustancialmente entre el primer y tercer día de la fermentación, luego de lo que se su variación prácticamente es cero. Esto se debe a que pasado este tiempo la velocidad de formación del pellet decae y por ende se disminuye la cantidad de hifas libres en el medio, que son las que mayormente interfieren en la transferencia de oxígeno del medio.

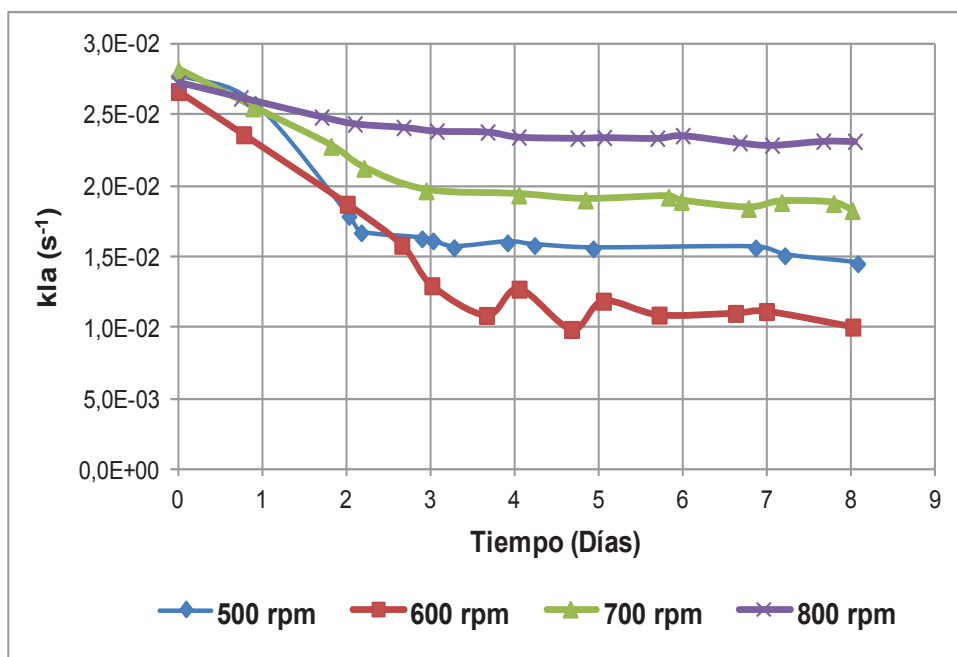


Figura 3.70. Coeficiente de transferencia de masa para todas las velocidades de agitación en el reactor de 14 litros

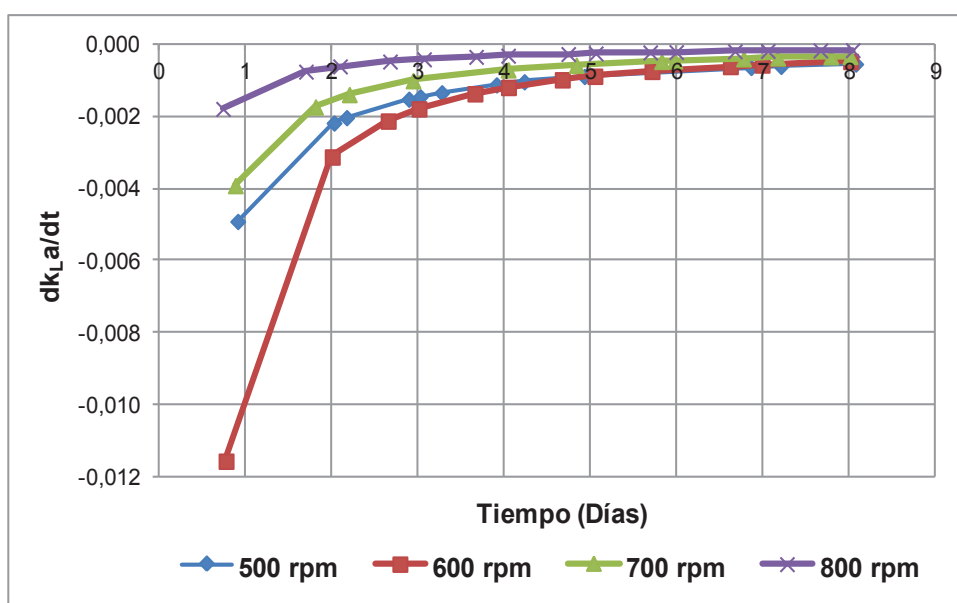


Figura 3.71. Tasa de cambio del coeficiente de transferencia de masa $k_{L,a}$ durante la fermentación en el reactor de 14 litros a 500, 600, 700 y 800 rpm

3.5. MODELO MATEMÁTICO PARA LA REPRESENTACIÓN DE LA RELACIÓN ENTRE EL COEFICIENTE k_{La} DE TRANSFERENCIA DE MASA DE LA FERMENTACIÓN, LA AIREACIÓN Y LA VELOCIDAD DE AGITACIÓN EN LOS 2 REACTORES

En el presente estudio se empleó el modelo matemático planteado en la sección 2.5.3.

En este modelo el criterio de escalado fue el de mantener constante el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, por lo que, a pesar de haber determinado la variación de la viscosidad a lo largo del proceso fermentativo, y como se mencionó en la sección 3.3.1, se tomó el máximo valor de la viscosidad y su correspondiente coeficiente k_{La} , condiciones que representan el escenario más drástico para la transferencia de masa.

Estos valores, para las dos escalas, así como también los de la potencia y los de la potencia por unidad de volumen se presentan en la Tabla 3.15.

Tabla 3.15. Potencia, potencia por unidad de volumen, viscosidad aparente máxima y coeficiente volumétrico de transferencia de masa para las fermentaciones realizadas a 500, 600, 700 y 800 rpm en las escalas de 2 y 14 litros, con una tasa de aireación de 0,7 vvm

| Escala | Velocidad de agitación (rpm) | Velocidad superficial del aire (m/s) | Potencia (Kw) | Potencia por unidad de volumen (Kw/m ³) | Viscosidad aparente máxima (Pa*s) | Coficiente volumétrico de transferencia de masa (s ⁻¹) |
|-----------|------------------------------|--------------------------------------|---------------|---|-----------------------------------|--|
| 2 litros | 500 | 5,23E-03 | 0,144 | 84,78 | 5,00E-01 | 1,21E-02 |
| | 600 | | 0,147 | 86,72 | 5,50E-01 | 1,95E-02 |
| | 700 | | 0,154 | 90,36 | 1,43E-01 | 2,19E-02 |
| | 800 | | 0,178 | 104,90 | 1,29E-01 | 1,57E-02 |
| 14 litros | 500 | 3,97E-03 | 0,151 | 11,74 | 6,00E-01 | 1,46E-02 |
| | 600 | | 0,166 | 12,89 | 6,50E-01 | 1,12E-02 |
| | 700 | | 0,191 | 14,83 | 5,00E-01 | 1,96E-02 |
| | 800 | | 0,214 | 16,58 | 7,50E-02 | 2,37E-02 |

En la tabla anterior se puede apreciar que la potencia medida en las 2 escalas es similar y se incrementa con el aumento de la velocidad de agitación y con el incremento de la escala, lo que se puede observar de mejor manera en la Figura 3.72.

Sin embargo de que el cambio en la potencia entre las escalas no es muy marcado, la influencia del volumen de trabajo hace que la diferencia en la potencia por unidad de volumen sea muy significativa. Esto se pudo deber a un sobre dimensionamiento del motor.

Cabe recalcar que la potencia se midió a lo largo del proceso fermentativo, pero debido a que esta no varió significativamente en ninguna de las escalas se la consideró constante.

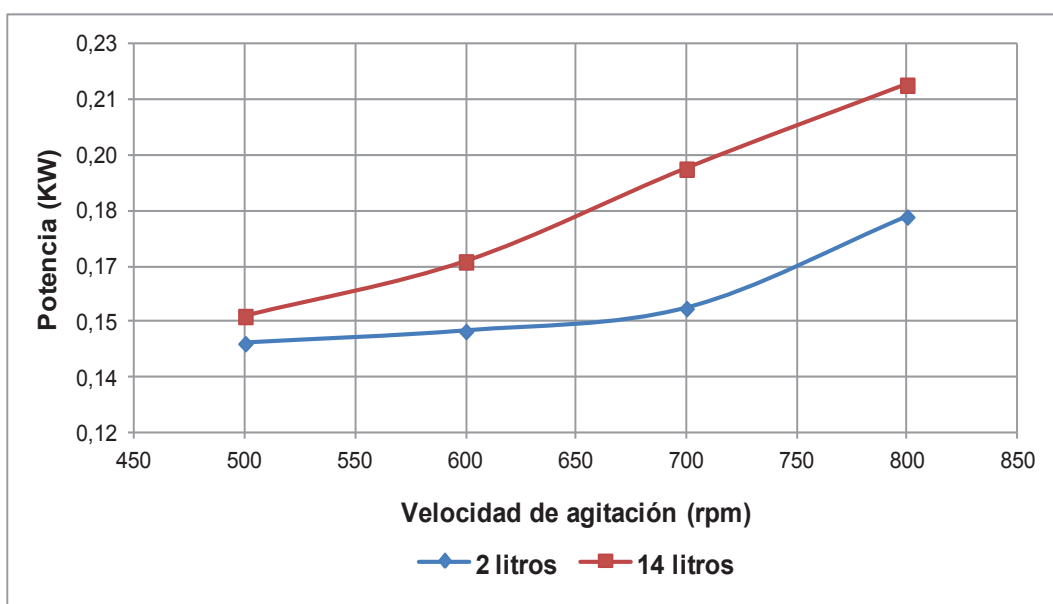


Figura 3.72. Potencia en el reactor de 2 y 14 litros para 500, 600, 700 y 800 rpm

Los parámetros compilados en la Tabla 3.15 se relacionan en el proceso de escalado mediante la ecuación 2.10, de la sección 2.5.2, que es la expresión que se empleó en este estudio a fin de llevar a cabo el escalado del proceso.

Los coeficientes de escalado de la ecuación 2.10 para las dos escalas fueron determinados mediante una regresión multinomial con la ayuda del programa

estadístico Statgraphics® Centurion XV, como se indicó en la sección 2.6.1. Estos resultados se presentan en la Tabla 3.16.

Tabla 3.16. Coeficientes de escalado para las dos escalas

| Coeficientes de escalado | Reactor de 2 litros | Relación del <i>coeficiente e</i> con los otros coeficientes | Reactor de 14 litros | Relación del <i>coeficiente e</i> con los otros coeficientes |
|--------------------------|---------------------|--|----------------------|--|
| b | 0,163626 | 6,52 | 0,041587 | 35,07 |
| c | 0,430364 | 2,48 | 0,777313 | 1,88 |
| e | 1,067322 | 1,00 | 1,458381 | 1,00 |
| f | -0,169224 | 6,31 | -0,118656 | 12,29 |

En la tabla anterior se puede observar que en el reactor de 2 litros el valor absoluto del *coeficiente e* – que es el coeficiente que actúa sobre la velocidad superficial del aire- es 6,5 veces superior al valor absoluto del *coeficiente b*, 2,5 veces que el del *coeficiente c* y 6,3 veces que el del *coeficiente f*, mientras que en el reactor de 14 litros, el valor absoluto del *coeficiente e* es 35,0 veces superior al valor absoluto del *coeficiente b*, aproximadamente 2,0 veces que el del *coeficiente c* y 12,3 veces que el del *coeficiente f*.

Estas relaciones indican que en las dos escalas la aireación del sistema tiene mayor incidencia sobre el coeficiente volumétrico de transferencia de masa $k_L a$, en comparación con los otros parámetros de escalado (potencia por unidad de volumen y viscosidad).

Además de lo mencionado, se puede apreciar en la Tabla 3.16, que el *coeficiente f*, que es el que actúa sobre la viscosidad aparente, es negativo en ambos casos, lo que indica que la viscosidad tiene un efecto adverso sobre la transferencia de oxígeno al medio; es decir, que cuando la viscosidad del medio es mayor, la transferencia de oxígeno es menor, y viceversa.

La variación del coeficiente *b* entre las dos escalas, se debe a que este parámetro depende especialmente de la geometría del agitador, que se halla representada en la Tabla 3.17.

Tabla 3.17. Parámetros del agitador

| Parámetros | Escala | |
|----------------------------|----------|-----------|
| | 2 Litros | 14 Litros |
| Ancho de la paleta (cm) | 0,93 | 1,83 |
| Alto de la paleta (cm) | 0,74 | 1,46 |
| Diámetro del agitador (cm) | 3,72 | 7,32 |
| Gravedad (m/s^2) | 9,8 | 9,8 |

3.5.1. SELECCIÓN DE LA REGIÓN DE MAYOR PRODUCTIVIDAD

Para seleccionar la velocidad de agitación que obtuvo el menor diámetro y mayor número de pellets, y la mayor concentración de biomasa en la escala de 2 litros – y por ende la velocidad de escalado- se construyeron los gráficos diámetro, número de pellet y concentración de biomasa vs. k_{La} , que se muestran en la Figura 3.73, Figura 3.74 y Figura 3.75.

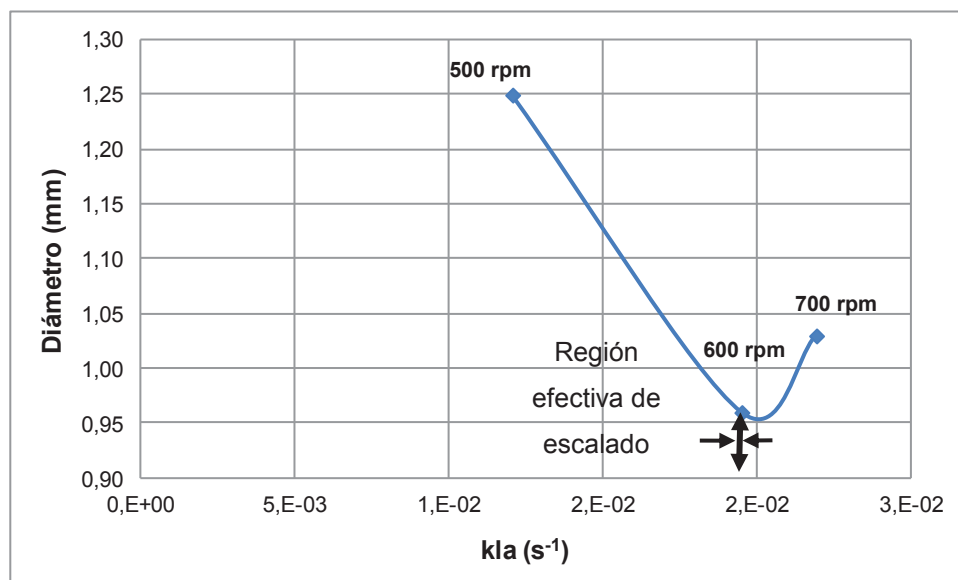


Figura 3.73. Variación del diámetro del pellet en el reactor de 2 litros para 500, 600 y 700 rpm

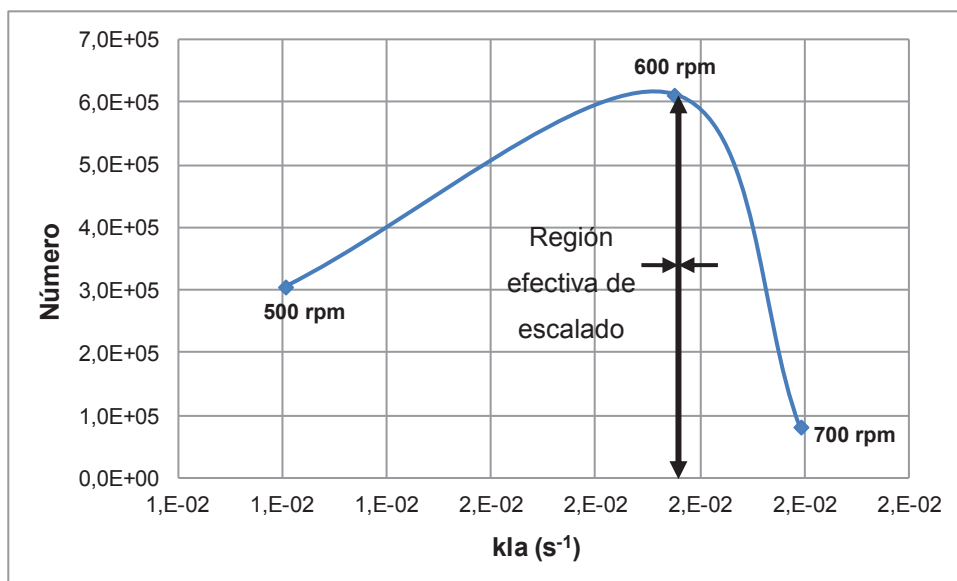


Figura 3.74. Variación del número de pellets en el reactor de 2 litros para 500, 600 y 700 rpm

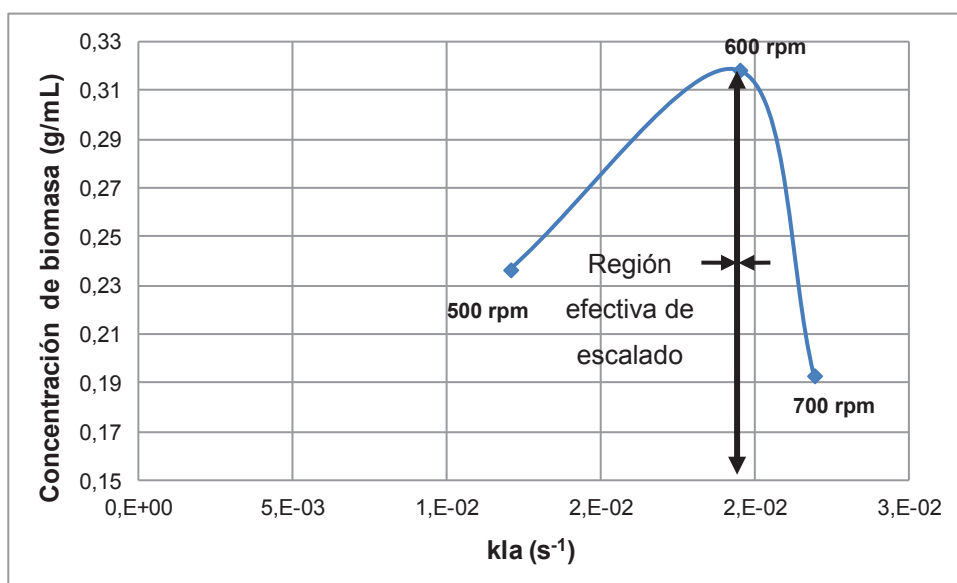


Figura 3.75. Variación de la concentración de biomasa en el reactor de 2 litros para 500, 600 y 700 rpm

En los gráficos mencionados, se puede observar que la máxima concentración de biomasa, el mayor número de pellets y el menor diámetro de pellet se produjeron a 600 rpm, con un coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_{La} equivalente a $1,9510^{-2} \text{ s}^{-1}$. Como el criterio de escalado que se empleó en este trabajo fue el de mantener constante el coeficiente k_{La} en las dos escalas, el valor de $1,9510^{-2} \text{ s}^{-1}$ fue el que se empleó para escalar de los 2 litros a los 14 litros.

3.5.2. RESULTADOS OBTENIDOS DE LA SIMULACIÓN DIGITAL

El modelo matemático descrito en la sección 2.5.3 y la simulación digital se utilizaron para estimar la velocidad de agitación que debía emplearse en la escala de 14 litros, a fin de escalar el diámetro del pellet y por ende su concentración de biomasa.

Estos resultados se pueden observar en la Figura 3.76, Figura 3.77, Figura 3.78, Figura 3.79 y Figura 3.80.

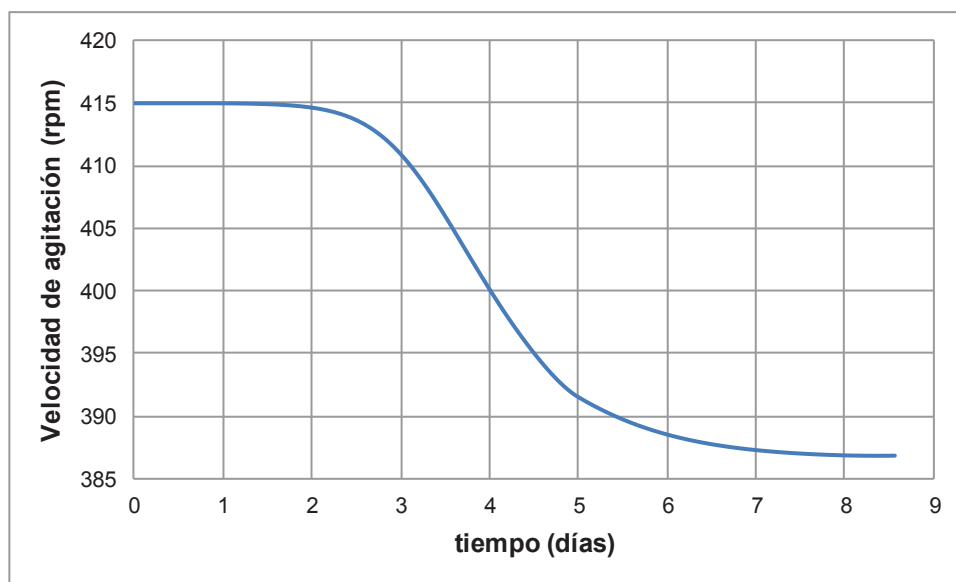


Figura 3.76. Velocidad de agitación para el escalado, obtenida de la simulación digital

Como se puede observar en la figura anterior, la velocidad simulada de agitación varía desde 415 rpm hasta 387 rpm a través de los 8 días simulados.

En la curva de la Figura 3.77 es interesante observar que la tendencia de la variación de la concentración de biomasa con el tiempo es opuesta a la tendencia de la variación de la velocidad de agitación. Esto corrobora de manera objetiva la influencia que presenta la agitación sobre el crecimiento microbiano.

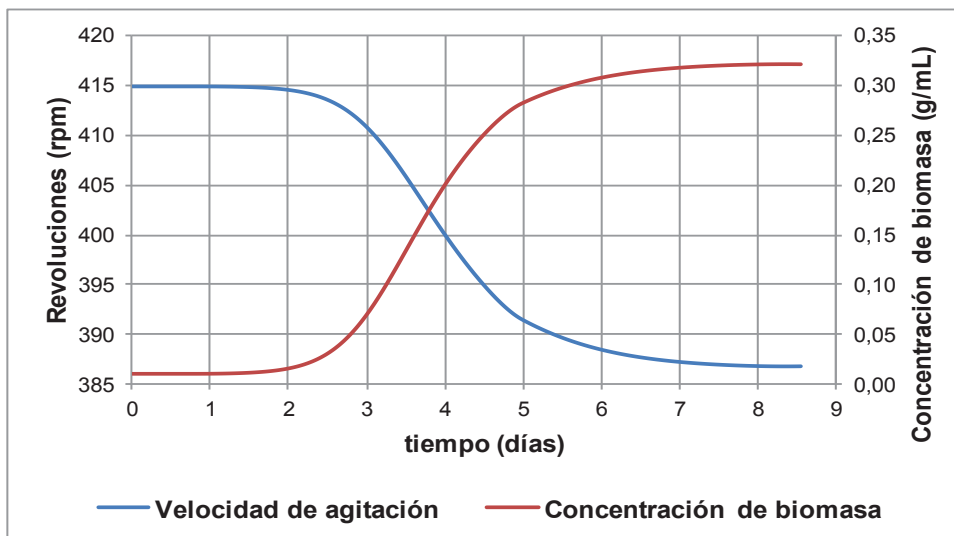


Figura 3.77. Velocidad de agitación y concentración de biomasa obtenida de la simulación digital

En la experimentación, con el reactor de 14 litros se debió haber reproducido el perfil de velocidades de agitación que prescribió el modelo, que se muestra en la Figura 3.76. Sin embargo, como el equipo experimental no disponía un control automático de set point variable, la variación de la velocidad de agitación se tuvo que implementar de manera manual y ajustar el valor de la velocidad de agitación manualmente, mediante un tacómetro. Debido a que la precisión del tacómetro del fermentador New Brunswick empleado fue de ± 20 rpm, se debió ajustar valores discretos, como se indica mediante el trazo superpuesto en la Figura 3.78.

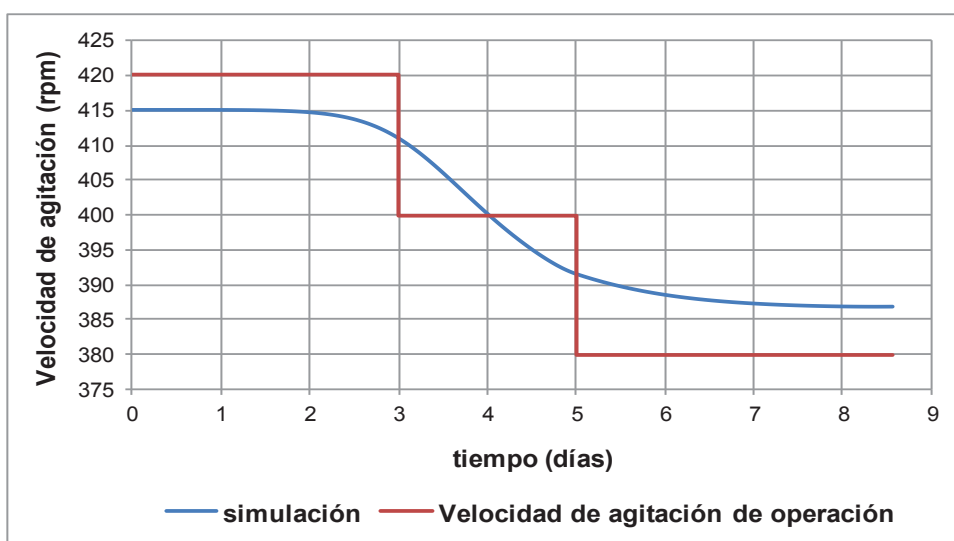


Figura 3.78. Velocidad de agitación de la simulación y la empleada en la fermentación

Como se ha indicado en secciones anteriores de este trabajo, el diámetro del pellet constituye un parámetro importantísimo dentro del aspecto de la producción y de la productividad. Por esta razón, se consideró muy relevante el establecer una concordancia entre la variación del diámetro del pellet y los resultados del modelo.

Esto se muestra en la Figura 3.79, pudiéndose observar que la desviación entre el un conjunto y el otro es pequeña, lo que se corrobora mediante el cálculo del estimador que se muestra en la Tabla 3.18.

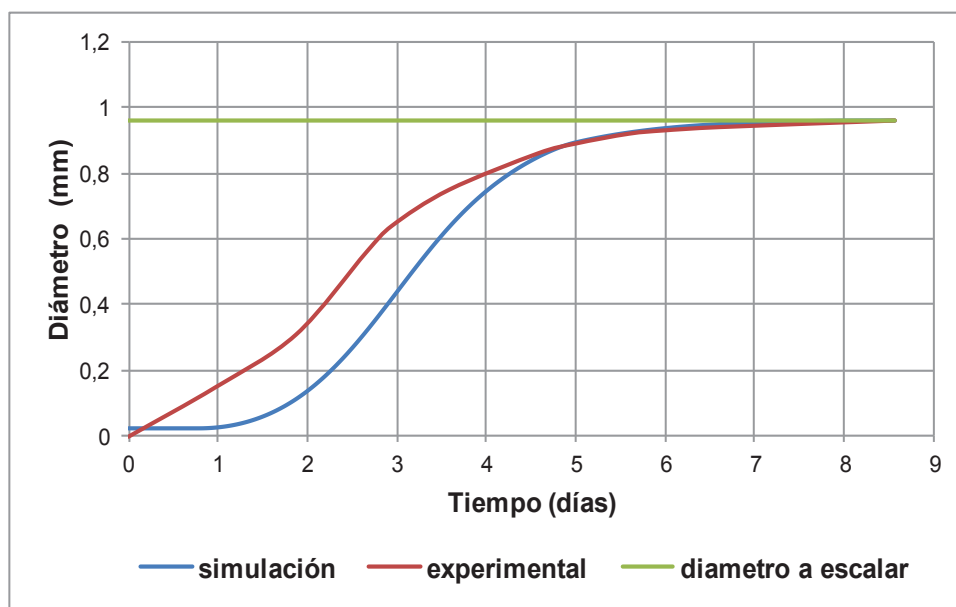


Figura 3.79. Variación del diámetro del pellet experimental y de la simulación digital

En la figura anterior se puede observar que la curva del incremento del diámetro de pellet obtenida de la simulación digital presenta una desviación respecto de la curva experimental durante los tiempos correspondientes a los 4 primeros días de la fermentación, y que luego las dos curvas se superponen, y coinciden en el valor del diámetro con el que se desea realizar el escalado.

Para analizar la significación de la desviación entre los valores experimentales y los valores simulados se procedió a calcular el estimador chi cuadrado de la forma indicada en la sección 2.6.3. Los resultados tanto del valor del estimador calculado como del esperado se observan en la Tabla 3.18.

Tabla 3.18. Estimador de comparación entre el diámetro y la concentración experimental con el diámetro y la concentración obtenidos de la simulación, respectivamente

| Parámetros comparados | Estimador | |
|---|-------------------------------------|--------------------------------|
| | Valor esperado (Grados de libertad) | Valor calculado (Chi cuadrado) |
| Diámetro experimental- Diámetro de la simulación | 11 | 0,432 |
| Concentración experimental- Concentración de la simulación | 11 | 0,156 |

En la tabla anterior se puede observar que el valor calculado del estimador para el diámetro del pellet es cercano a cero y mucho menor que el esperado, por lo que se infiere que los valores obtenidos del diámetro experimental y el diámetro simulado pertenecen a un mismo conjunto. Por este motivo, se considera que la simulación es adecuada para el escalado.

Al igual que con el diámetro del pellet, se estableció una concordancia entre la variación de la concentración de biomasa y los resultados de la simulación, como se puede observar en la Figura 3.80.

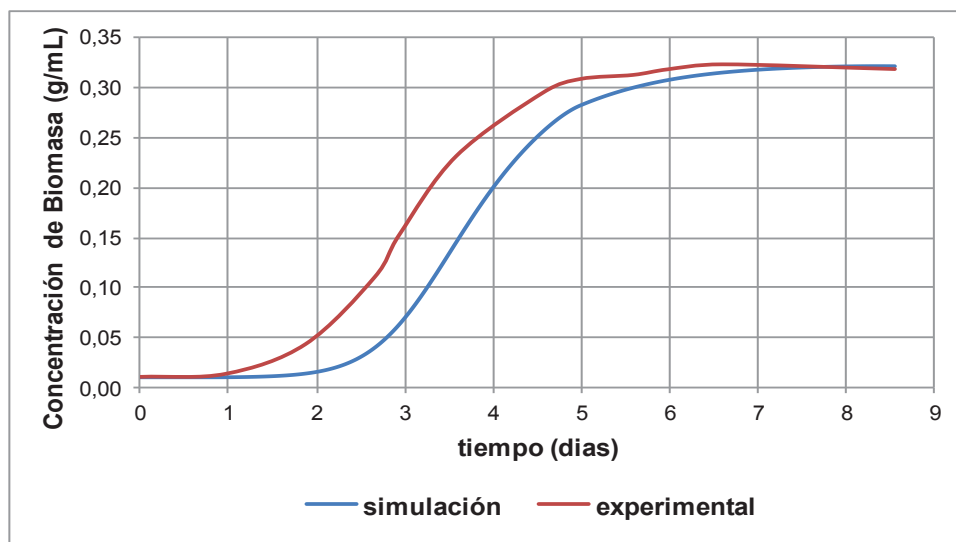


Figura 3.80. Variación de la concentración de biomasa experimental y de la simulación digital

En la anterior figura, se puede apreciar que la curva del incremento de la concentración de biomasa obtenida de la simulación digital presenta una

desviación respecto de la curva experimental desde el primer día hasta aproximadamente el sexto día de la fermentación, y que luego las dos curvas se superponen, y coinciden en el valor de la concentración de biomasa que se desea escalar.

La desviación que se obtiene entre estas curvas no es significativa, ya que, al igual que lo ocurrido con el diámetro del pellet, y como se puede observar en la Tabla 3.18, el valor del estimador calculado es mucho menor que el esperado, por lo que se puede considerar que los datos experimentales y los obtenidos de la simulación pertenecen a un solo conjunto. Por este motivo, al igual que en el caso anterior, se estima que el modelo matemático y la simulación digital son adecuadas para el proceso de escalado.

3.6. VERIFICACIÓN DE LA IDONEIDAD DE LOS PARÁMETROS DE ESCALADO OBTENIDOS DEL MODELO MATEMÁTICO PARA EL CRECIMIENTO DEL PELLETT EN LOS DOS REACTORES MEDIANTE LA FERMENTACIÓN SUMERGIDA DE SACAROSA CON ASPERGILLUS NIGER

Para validar la velocidad de agitación obtenida de la simulación digital y el coeficiente volumétrico de transferencia de masa (k_{La}) con el que se llevó a cabo el escalado, se realizó una fermentación en las escalas de 2 y 14 litros, respectivamente. Para estos fines, se trabajó a 600 rpm en el reactor de 2 litros y a las condiciones que se indican en la Tabla 3.19 para el reactor de 14 litros.

Tabla 3.19. Condiciones para el escalado en el reactor de 14 litros

| Parámetros | Valor | Unidades |
|--|----------------------|-----------------|
| Velocidad de agitación | 420-380 | rpm |
| Coefficiente volumétrico de transferencia de masa k_{La} | $1,95 \cdot 10^{-2}$ | s^{-1} |
| Flujo volumétrico de aire | 0,7 | vvm |

3.6.1. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE ESCALADO

Los parámetros mencionados y los factores que relacionan dichos parámetros obtenidos se muestran en la Tabla 3.20. Allí se puede observar que el valor del factor que relaciona los coeficientes volumétricos para ambas escalas es 1,00, lo que indica que en este estudio se cumplió el criterio de escalado empleado, que establece que el coeficiente volumétrico de transferencia de masa ($k_L a$) debe ser constante para todas las escalas.

Tabla 3.20. Parámetros de escalado obtenidos en el proceso de escalado desde el reactor de 2 litros hasta el reactor de 14 litros

| Parámetros y factores de escalado | Reactor de 2 litros | Reactor de 14 litros | |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------|
| | Valor | Valor | Factor |
| Coefficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (s^{-1}) | $1,948 \cdot 10^{-2}$ | $1,950 \cdot 10^{-2}$ | 1,00 |
| Velocidad de agitación (rpm) | 600 | 420-380 | 0,70-0,63 |
| Potencia por unidad de volumen (KW/m ³) | 87,15 | 10,24 | 0,12 |
| Flujo de aire (L/min) | 1,19 | 9,03 | 7,58 |
| Velocidad superficial de aire (m/min) | 0,31 | 0,24 | 0,76 |

En la tabla anterior, se observa que para llevar a cabo el proceso de escalado se requiere emplear una menor velocidad de agitación en el reactor de 14 litros, que en el reactor de 2 litros, y que el factor de relación para este parámetro fluctúa entre 0,70 y 0,63 debido al rango de variación de las velocidades de agitación que se emplean en el reactor de 14 litros.

Además de esto, se puede apreciar que cuando se incrementa la escala, tanto la potencia por unidad de volumen, así como la velocidad superficial del aire disminuyen, mientras que el flujo volumétrico de aire se incrementa.

El incremento del flujo volumétrico de aire es compensado con la disminución de la velocidad de agitación, de modo que se obtenga la misma transferencia de masa en las dos escalas y por ende se cumpla el criterio de escalado que requiere la constancia del valor de $k_L a$.

3.6.2. ANÁLISIS DE LA CONCENTRACIÓN DE BIOMASA, DEL DIÁMETRO DE PELLET Y DEL COEFICIENTE VOLUMÉTRICO DE TRANSFERENCIA DE OXÍGENO OBTENIDOS EN EL ESCALADO

Para comparar la concentración de biomasa, el diámetro de pellet y el coeficiente de transferencia de oxígeno entre las dos escalas después de haber realizado el escalado, se realizaron las gráficas respectivas, que se muestran a continuación.

En la Figura 3.81 se puede apreciar que el diámetro del pellet varía con el tiempo de la fermentación de manera idéntica en las dos escalas, con desviaciones que son despreciables, y que llega a un valor de $0,957 \pm 0,006$ mm al séptimo día de fermentación. Esto indica un proceso de escalado exitoso.

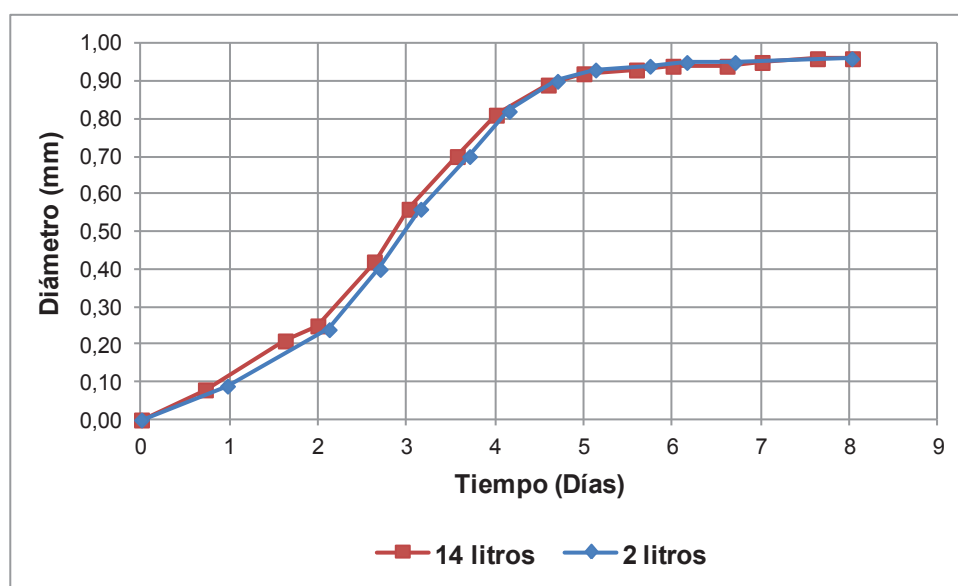


Figura 3.81. Incremento del diámetro de pellet a lo largo del proceso fermentativo en el reactor de 2 y 14 litros

En la Figura 3.82 se puede observar que en las dos escalas la concentración de biomasa varía con el tiempo de la fermentación de manera idéntica, con desviaciones que son despreciables, y que llega a un valor estable de $0,319 \pm 0,001$ g/mL a partir del 5,5 día.

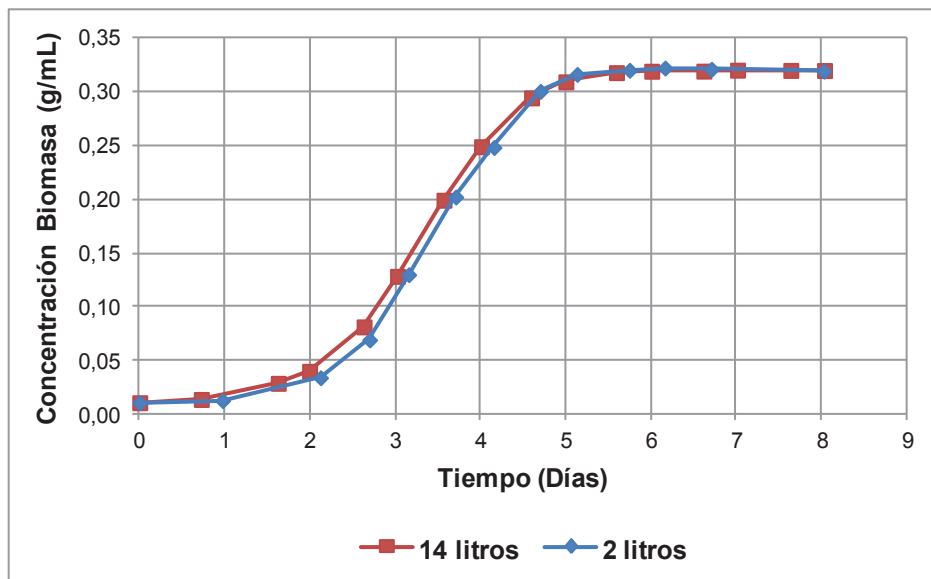


Figura 3.82. Incremento de la concentración de biomasa a lo largo del proceso fermentativo en el reactor de 2 y 14 litros

Como se puede observar en la Figura 3.83, la variación del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno en el reactor de 14 litros es la misma que se da en el reactor de 2 litros, con pequeñas desviaciones que no repercuten en el valor general de dicho coeficiente

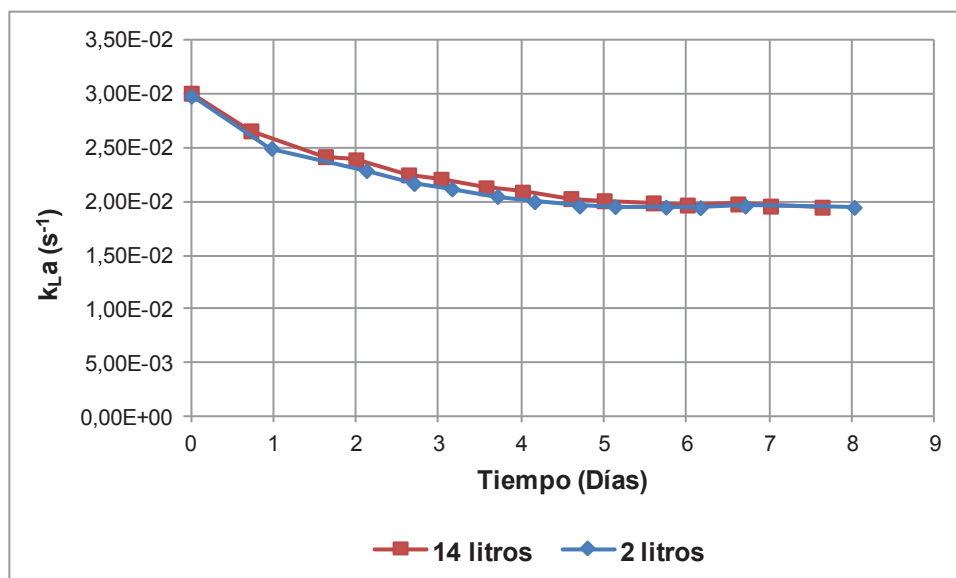


Figura 3.83. Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa a lo largo del proceso fermentativo en el reactor de 2 y 14 litros

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

1. El mejor medio de cultivo para el crecimiento del pellet estuvo constituido por la siguiente composición: 150g/L de Sacarosa, 2,40 de NH_4NO_3 y 0,919 de KH_2PO_4 .
2. Las variables de operación que permitieron obtener en los erlenmeyers el mayor número de pellets con el menor diámetro y la mayor concentración de biomasa fueron las siguientes: pH 6,5; $(4,20 \pm 0,55) \cdot 10^6$ esporas.
3. Se obtuvo una mejor estabilidad del pellet al inocular directamente el reactor con las esporas de *Aspergillus niger* y no con el pellet previamente obtenido como se sugería en De Argáez.
4. No fue factible realizar fermentaciones a 60, 100, 120 y 140 rpm debido a la poca transferencia de masa y mala formación del pellet.
5. La velocidad de agitación que permitió realizar el proceso de escalado a partir del reactor de 2 litros fue 600 rpm.
6. El diámetro de pellet a partir del cual se realizó el escalado del reactor de 2 litros al de 14 litros fue de 0,96 mm.
7. El mayor valor de la constante cinética, así como también el mayor rendimiento de la biomasa producida en función del azúcar consumido en el reactor de 2 litros se obtuvo a 600 rpm.
8. Las condiciones óptimas de formación del pellet se dieron para la menor velocidad de formación en el intervalo de 1,5 a 3 días, en la escala de 2 litros.

9. El mantenimiento del valor del coeficiente volumétrico de transferencia de masa en $1,95 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$, constituyó un adecuado criterio de escalado.
10. El rango de velocidad de agitación implementado para el escalado que fue de 420 a 380 rpm, fue adecuado.

4.2. RECOMENDACIONES

1. Estudiar el efecto de cada uno de los componentes de los distintos medios de cultivo sobre el crecimiento microbiano, tamaño y compactación del pellet.
2. Realizar fermentaciones sumergidas con una cepa certificada de *Aspergillus niger* productora de ácido cítrico, siguiendo los parámetros descritos en este trabajo, a fin de determinar la eficiencia de esta producción.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguado, J. (1999). *Ingeniería de la industria alimentaria* (Vol. 1).
2. Ali, S., Ikram-ul-Haq., Iqbal, J y Qadeer, M. (2003). The kinetic basis of the role of Ca⁺⁺ ions for higher yield of citric acid in a repeated-batch cultivation system. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 19(8), 817-823.
3. Almudena, A. y Ochoa, F. (1999). *Desarrollo de modelos cinéticos para bioprocesos: aplicación a la producción de xantano*. Madrid: Universidad Complutense de Madrid.
4. Anaya, A. y Pedroza H. (2008). Escalamiento, el arte de la ingeniería química. *Redalyc*, 31-39.
5. Austin, G. T. (1988). *Manual de Procesos Químico en la Industria* (Primera en español ed., Vol. 3). Colombia: McGraw-Hill.
6. Baltz, R. H., Davies, J. E. y Demain, A. L. (2010). *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology* (tercera ed.). Washington DC, USA: ASM Press.
7. BANCO CENTRAL DEL ECUADOR, 2012, *Base de datos estadísticos de comercio exterior del Banco Central*, Dirección General de Estudios, Dirección de Estadística Económica.
8. Baron, G. y Lejeune, R. (1988). Modeling the Exponential Growth of Filamentous Fungi During Batch Cultivation. *BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING*, 60(2), 169-179.

9. Baron, G., Lejeune, R. (1997). Simulation of growth of a Filamentous Fungus in 3 dimensions. *Biotechnology and Bioengineering*, 53, 139-150.
10. Brown, C.M; Campbell, I. y Priest, F.G. (1989). *Introducción a la biotecnología*. Zaragoza, España: Acribia.
11. Byung-Hwan Um y Hanley, T. R. (2008). A CFD model for predicting the flow patterns of viscous fluids in a bioreactor under various operating conditions. *Korean J. Chem. Eng*, 25(5), 1094-1102.
12. Cadavid, A. (2006). Caracterización de una cepa nativa de *Aspergillus niger* y evaluación de la producción de ácido cítrico. *Revista Universidad Eafit*(128), 33.
13. Carrillo, L. y Alfredo, E. (2009). *Biotecnología de alimentos*. Argentina: El Cid Editor.
14. Casaus, M. (2005). *Aislamiento e identificación de bacterias lácticas de origen cárnico productoras de bacteriocinas: caracterización bioquímica y genética de la enterocina P de Enterococcus faecium P13 y de la enterocina B de Enterococcus faecium T136*. Madrid, España: Universidad Complutense de Madrid.
15. Chávez, M., González, O., Sánchez, G., Luz, M., Rodríguez G., Elezar, A. y Silva, E. (2005). Mathematical description of bikaverin production in a fluidized bed bioreactor. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 21(5), 683-688.
16. Chhabra y Richardson. (2008). *Non-Newtonian flow and applied Rheology: Engineering Applications*. Hungría: Elsevier Ltd.

17. Cortés, G. D. y Jáuregui-Haza, U. (2006). Hidrodinámica en tanques agitados con turbinas de disco con paletas planas. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquía*(38), 97-113.
18. Coulson, J. M. y Richardson, J. F. (1982). *Chemical Engineering: Chemical Reactor Design, Biochemical Reaction engineering Including Computational Techniques and Control* (segunda ed., Vol. 3). Gran Bretaña: Wheaton & Co. Ltd., Exeter.
19. Coulson, J. M. y Richardson, J. F. (1984). *Chemical Engineering, Fluid flow, Heat transfer and Mass transfer* (tercera ed., Vol. 1). Gran Bretaña: Wheaton & Co. Ltd, exeter.
20. De Argáez, E. (1969). *Fermentación cítrica de melaza de caña*. (Proyecto previo a la obtención del título de Ingeniero Químico no publicado). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.
21. Dionisio, S. (2008). *Manual de prácticas de laboratorio de microbiología I y II: diversidad y estructura de los microorganismos*. México: Universidad Autónoma de Guerrero.
22. Doran, P. M. (1998). *Principios de ingeniería de los bioprocesos*. Zaragoza, España: Acribia.
23. Espallargas, D. (2011). *Estadística Matemática. En: Selección de guías de estudio: Contabilidad y finanzas*. Cuba: Editorial Universitaria.
24. Fellows, P. (2000). *Tecnología del procesado de los alimentos: principios y práctica* (Segunda ed.). Zaragoza, España: Acribia S. A.
25. Femi-Ola, T.O., Oluyeye, J.O., Gbadebo, A.O. (2009). Citric Acid production from pineapple waste. *Continental Journal Microbiology*, 3, 1-5.

26. García, D. y Jáuregui-Haza, U. (2006). Hidrodinámica en tanques agitados con turbinas de disco con paletas planas. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquía*(38), 97-113.
27. Garrido, J., Gómez, R. y Schnabel, I., J. (1988). Garrido, J., GómezFactores que afectan la producción de ácido cítrico en cultivo sumergido por *Aspergillus niger* 110. *Interferón y Biotecnología*, 5(1), 18-30.
28. Godínez, S y Calderon, M. (2002). Utilización de sustratos naturales en la propagación de cepas de hongos filamentosos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 12(2), 52-57.
29. Gonzales, R. A. (2000). *Principios básicos de escalado*. Matanzas, Cuba: Editorial Universitaria del Ministerio de educación superior de la República de Cuba.
30. Guerra, G. Izurieta, B. Páez, M. (2011). Escalado de la producción industrial de levadura de panificación usando dos reactores modelo y un bio-reactor prototipo. *Revista Politécnica*, 30(1), 1-9.
31. Harper, J. C. y El-Sahrigi, A. F. (1965). Viscosimetric behaviour of tomato concentrates. *Journal Food Science*, 30, 470-476.
32. Henao, I., Correa, M. y Marín, G. (2006). Evaluación de métodos de conservación para *Aspergillus Niger* con actividad enzimática amilolítica. *Red Universitas Scientiarum*, 11(2), 51-60.
33. Ikram-ul-Haq, A., Qadeer, M. y Iqbal, J. (2003). The kinetic basis of the role of Ca⁺⁺ ions for higher yield of citric acid in a repeated-batch cultivation system. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 19(8), 817-823.

34. Jangnow, G. y Wolfgang, D. (1991). *Biotechnología - Introducción con experimentos modelos*. Stuttgart, Alemania: Ferdinand Enke Verlag.
35. Jorgensen, A. (1948). *Micro-organisms and Fermentation*. Londres: Charles Griffin.
36. Kavanagh, K. (2011). *Fungi Biology and Applications* (segunda ed.). Somerset, USA: Wiley.
37. Khachatourians, G. G. y Arora, D. K. (2001). *Applied Mycology and Biotechnology, Volume 1 : Agriculture and Food Production*. New York, USA: Elsevier Science & Technology.
38. Kim, J.; Lebeault, J. y Reuss, M. (1983). Comparative study on rheological properties of mycelial in filamentous and pelleted forms. *Applied Microbiology and Biotechnology*(18), 11-16.
39. Kirimura, K., Yusa, S. y Rugsaseel, S. (1999). Amylose-like polysaccharide accumulation and hyphal cell-surface structure in relation to citric acid production by *Aspergillus niger* in shake culture. *Appl. Microbiology Biotechnology*(52), 421-428.
40. Leveau, J. y Bouix, M. (2000). *Microbiología industrial, los microorganismos de interes industrial*. Zaragoza, España: Acribia.
41. Levenspiel, O. (2004). *Ingeniería de las reacciones químicas*. Mexico: Limusa Wiley.
42. Lim, J. S., Kim, J. H., Kim, C. y Kim S. W. (2002). Morphological and rheological properties of culture broth of *Cephalosporium acremonium* M25. *Korea-Australia Rheology Journal*, 14(1), 11-16.

43. Linden, J., Matthey, M. y Kristiansen, B. (2002). *Citric Acid Biotechnology*. Londres, Inglaterra: Taylor & Francis Ltd.
44. López, C., Zuluaga, A., Herrera, S. y Medina, I. (2006). Producción de ácido cítrico con *Aspergillus niger* NRRL 2270 a partir de suero de leche. *DYNA*, 1(150), 39-57.
45. Madigan, M. T., Martinko, J. M. y Parker, J. (2003). *Brock, Biología de los microorganismos* (décima ed.). Madrid, España: Pearson Prentice Hall.
46. Marshall, K. C. y Alexander, M. (1960). Growth characteristics of fungi and actinomycetes. *J. Bacteriol*(80), 412-416.
47. Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31-426.
48. Mosier, N. S. y Ladisch, M. R. (2009). *Modern Biotechnology : Connecting Innovations in Microbiology and Biochemistry to Engineering Fundamentals* (Vol. 9). Hoboken, Estados Unidos: Wiley.
49. Ola Gomaa, M. y Heba El Bialy, A. (2009). Pellet Morphology, Broth Rheology and Statin Production in Submerged Fermentation of *P. citrinum*. *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry*, 4(2), 75-83.
50. Páez, M. A. (2011). Escalado de la producción industrial de levadura de panificación usando dos reactores modelo y un bio-reactor prototipo. 142.
51. Paul, E. L., Atiemo-Obeng, V. A. y Kresta, S. M. (2004). *Handbook of Industrial Mixing : Science and Practice*. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, Incorporated.

52. Petersen, N., Stocks, S. y Gernaey, K. . (2007). Modelling Rheological Characteristics of Filamentous Fermentation Broth. *Novozymes*, 1-29.
53. Pirt, S. J. (1966). A theory of the mode of growth of fungi in the form of pellets in submerged culture. *Proc. R. Soc.*(166), 369—373.
54. Prescott, L., Harley, J. y Klein, D. (2004). *Microbiología* (Quinta ed.). Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana.
55. Prescott, S. (1960). *Microbiología Industrial*. Madrid, España: Aguilar.
56. Quintero, R. (1981). *Ingeniería Bioquímica*. México: Alambra.
57. Rao, M. A., Cooley, H.J. y Vitali, A.A. (1984). Flow properties of concentrated juices at low temperatures. *Food Technology*, 38, 113-119.
58. Saravacos, G. D. (1970). Effect of temperature on viscosity of fruit juices and purees. *Journal food science*, 35, 122-125.
59. Stanbury, P. (1995). *Principles of fermentation technology*. Gran Bretaña: Butterworth Heinemann.
60. Tought, A. y Prosser, J. (1996). Experimental verification of a mathematical model for pelleted growth of *Streptomyces coelicolor* A3(2) in submerged batch culture. *Microbiology*, 142, 639-648.
61. Trevan, M.D.; Boffey, S.; Goulding, K.H. y Stanbury, P. (1990). *Biotecnología: Principios biológicos* (Vol. 142). Zaragoza, España: Acribia.

62. Treybal, R. E. (1988). *Operaciones de Transferencia de Masa* (segunda ed.). México: Mc Graw-Hill.
63. Wang, D.I.C, Cooney, C. L., Demain, A. L., Dunnill, P., Humphrey, A.E. y Lilly, M.D. (1979). *Fermentation and enzyme technology*. New York, Estados Unidos: John Wiley & Sons.
64. Yahumila, H. C. (2006). Aislamiento y caracterización de hongos en documentos de la Biblioteca Nacional José Martí. Bibliotecas. *Anales de Investigación*(2), 1-6.
65. Zlokarnik, M. (2006). *Scale-up in Chemical Engineering*. Alemania: WILEY-VCH Verlag GTmbH Co KGaA.

ANEXOS

ANEXO I

CURVAS DE PRODUCTIVIDAD CON UNA DESVIACIÓN A LA VELOCIDAD DE AGITACIÓN DE 800 RPM PARA EL REACTOR DE 2 LITROS

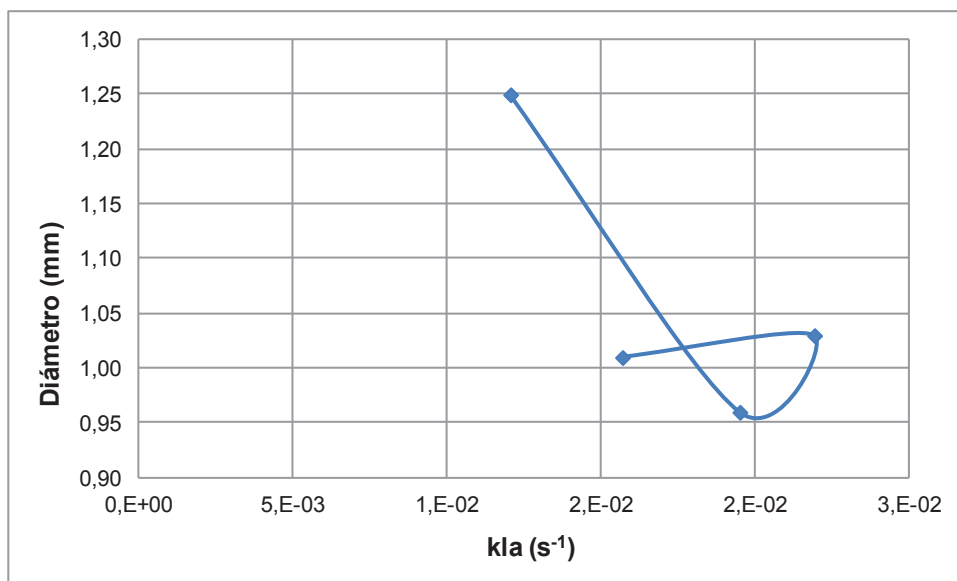


Figura AI.1. Curva de productividad del diámetro de pellet en función del coeficiente volumétrico de transferencia de masa

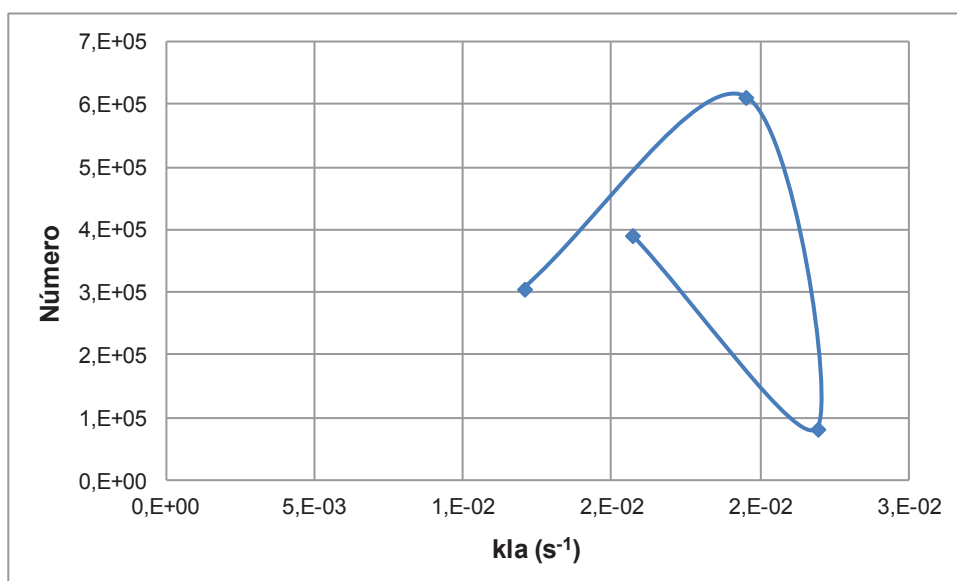


Figura AI.2. Curva de productividad del número de pellets en función del coeficiente volumétrico de transferencia de masa

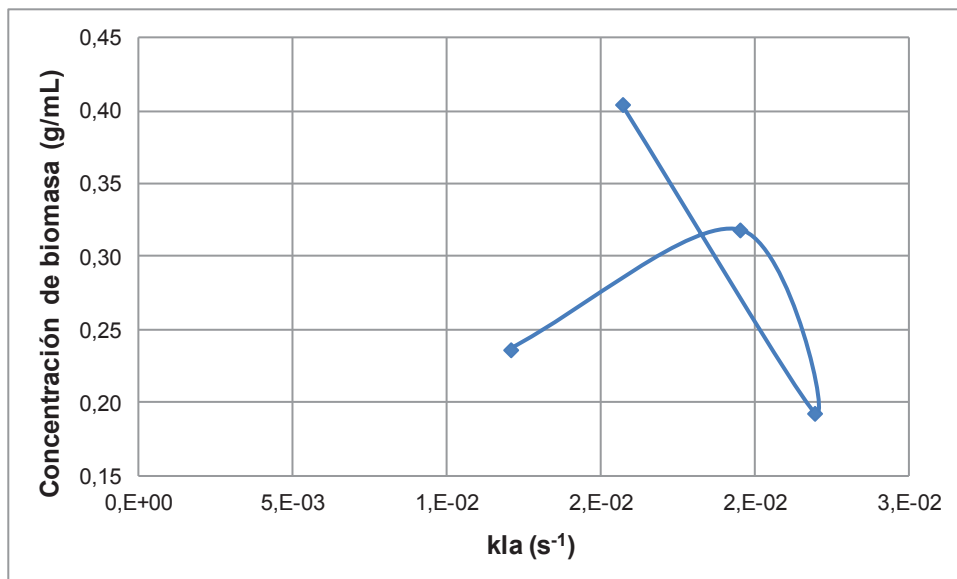
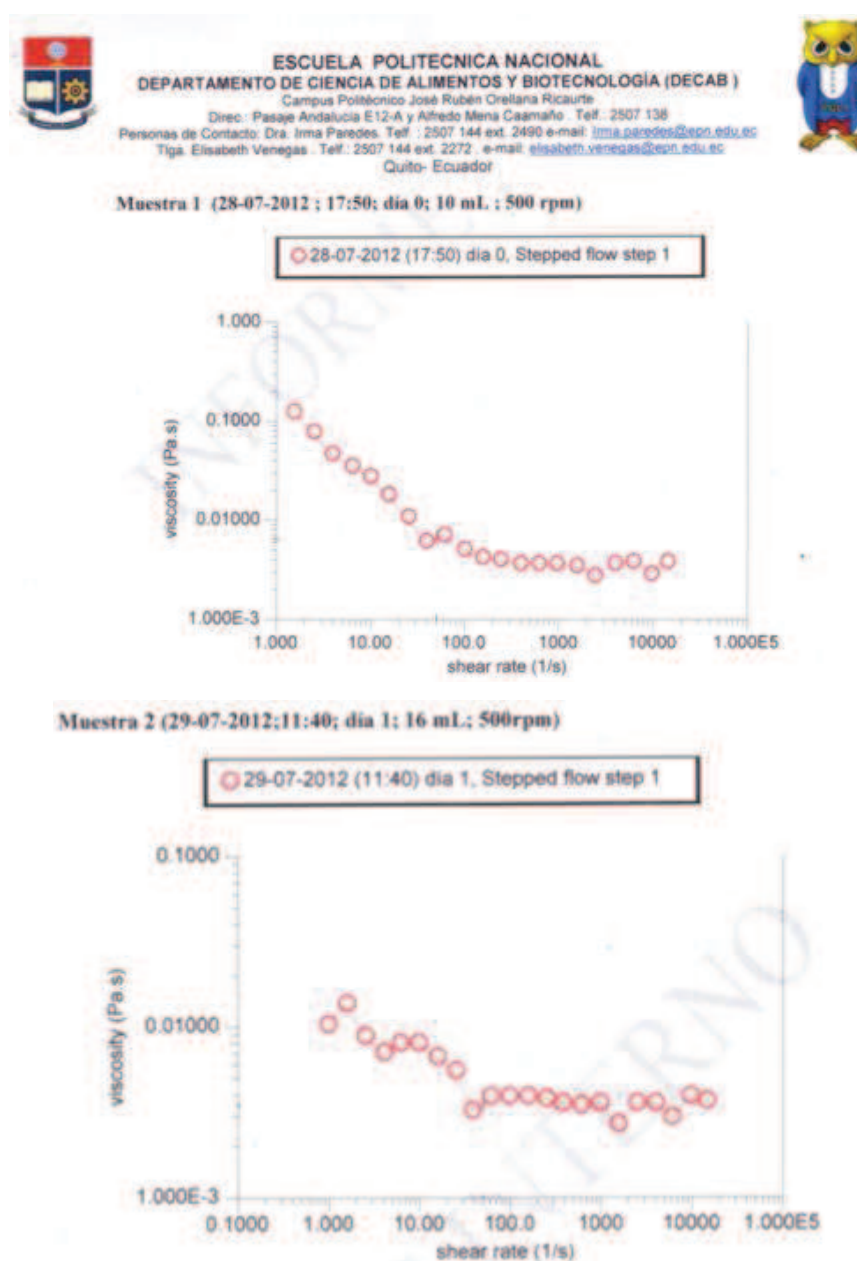


Figura A1.3. Curva de productividad de la biomasa en función del coeficiente volumétrico de transferencia de masa

ANEXO II

RESULTADOS DE LA REOLOGÍA DEL MEDIO A LO LARGO DEL PROCESO FERMENTATIVO A 500, 600, 700 Y 800 RPM, EN LAS 2 ESCALAS

RESULTADOS DE LA REOLOGÍA DEL MEDIO A LO LARGO DEL PROCESO FERMENTATIVO REALIZADO EN EL REACTOR DE 2 LITROS A 500 RPM

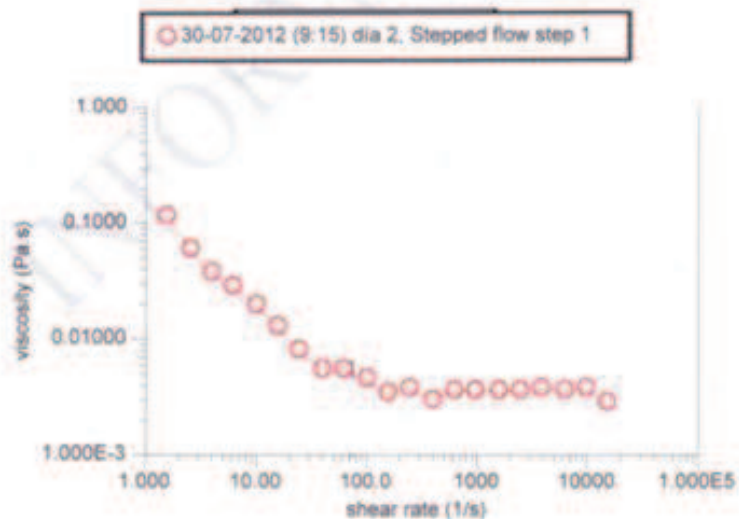




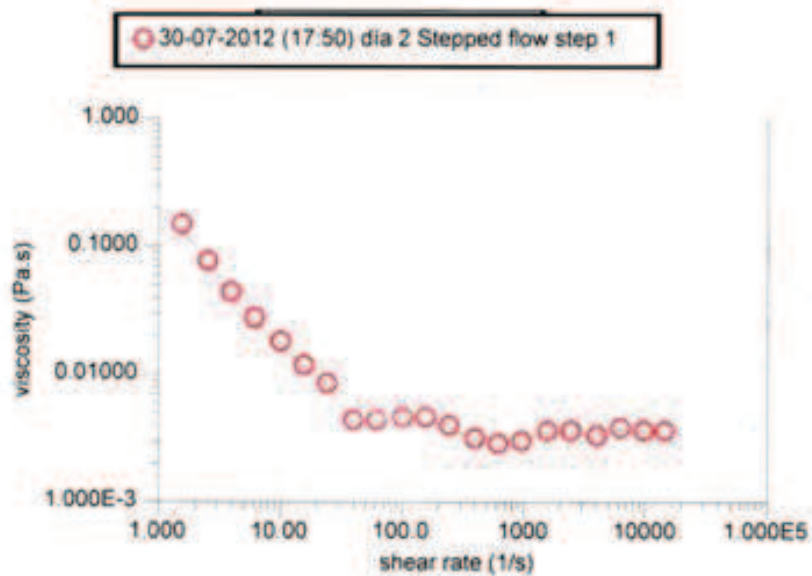
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGIA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orrellana Ricaurte
 Direc. Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Casamaño. Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 3 (30-07-2012; 9:15; día 2; 13 mL; 500rpm)



Muestra 4 (30-07-2012;17:55; día 2; 12 mL; 500rpm)

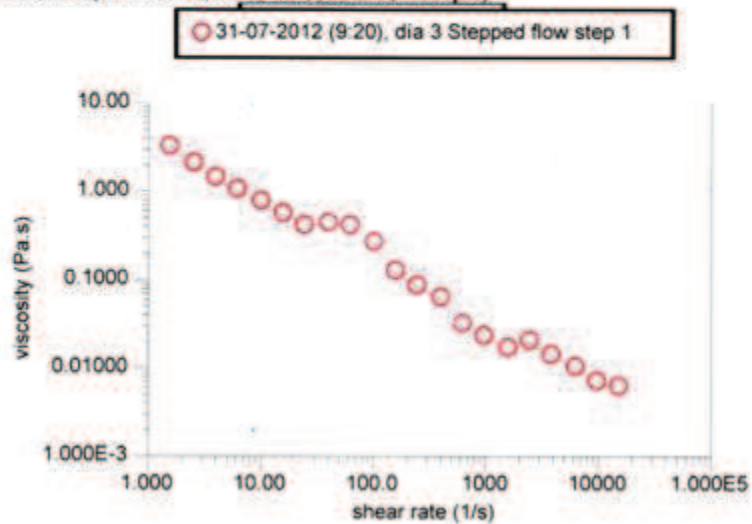




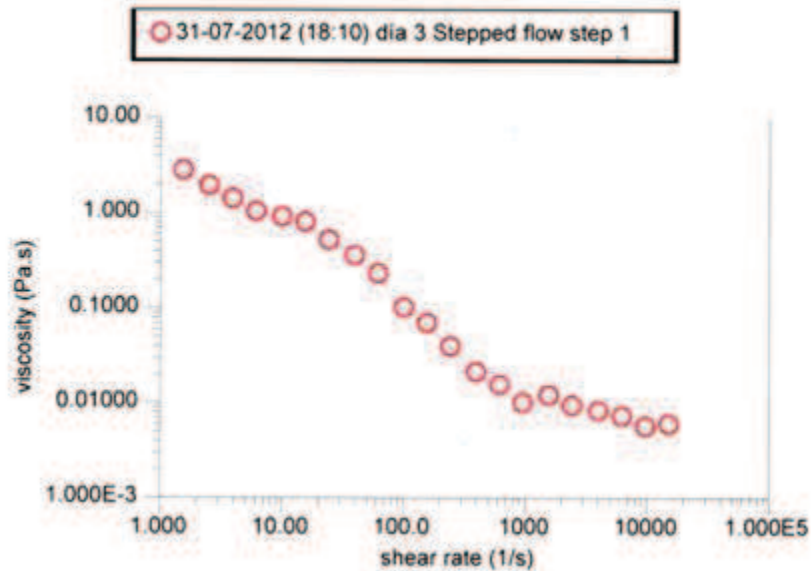
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc. Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 5 (31-07-2012; 9:20; día 3; 13 mL; 500rpm)



Muestra 1 (31-07-2012; 18:10; día 3; 13 mL; 500rpm)

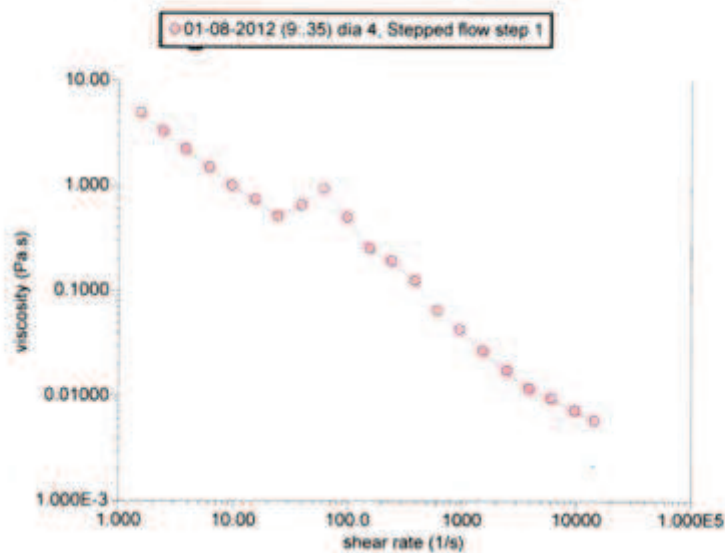




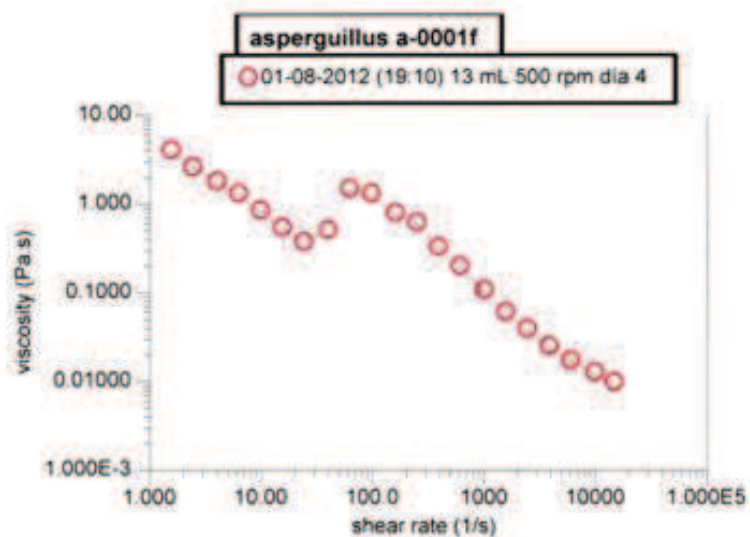
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc. Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 2 (01-08-2012; 9:35; día 4; 13 mL; 500rpm)



Muestra 1 (01-08-2012; 19:10; 13mL; 500 rpm; día 4)

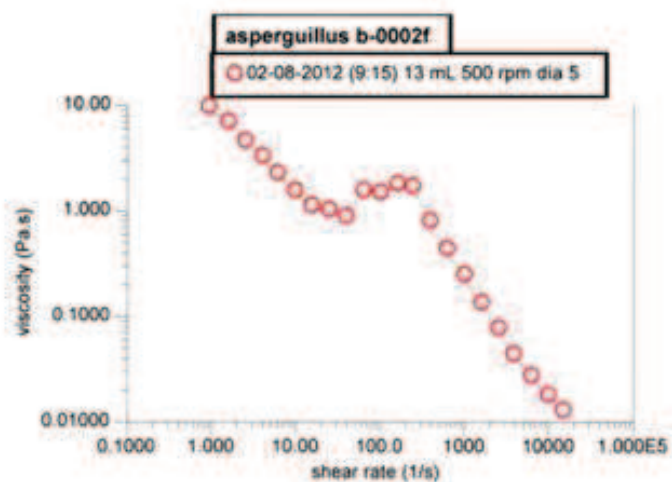




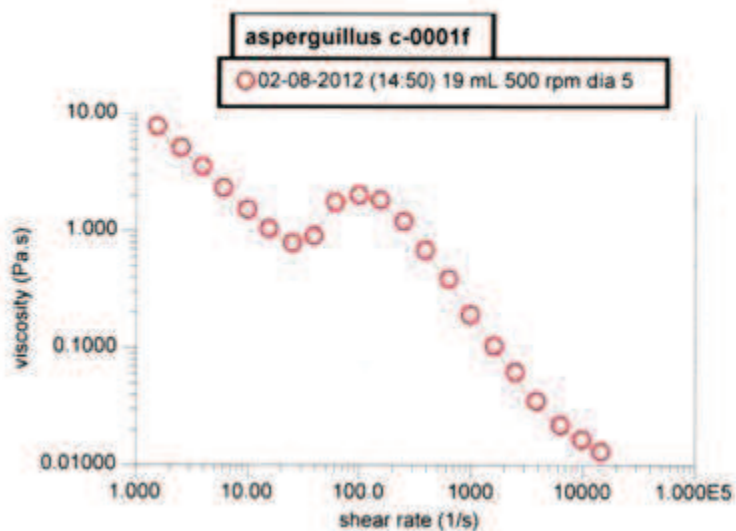
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mená Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 2 (02-08-2012; 9:15; 13mL; 500 rpm; día 5)



Muestra 3 (02-08-2012; 19:50; 19mL; 500 rpm; día 5)

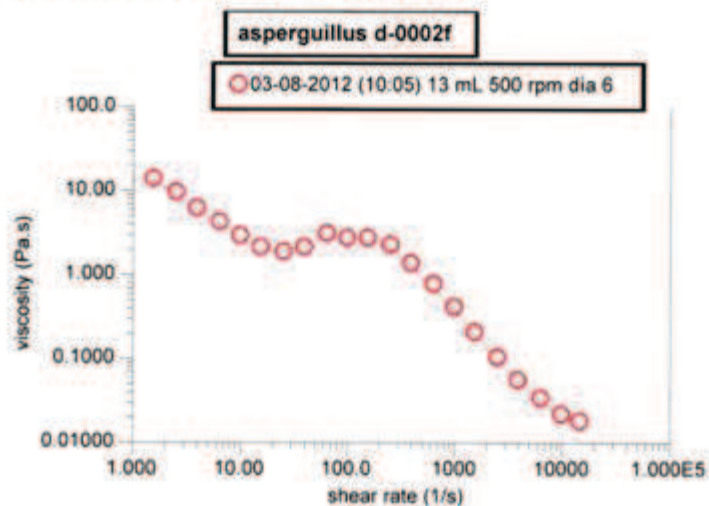




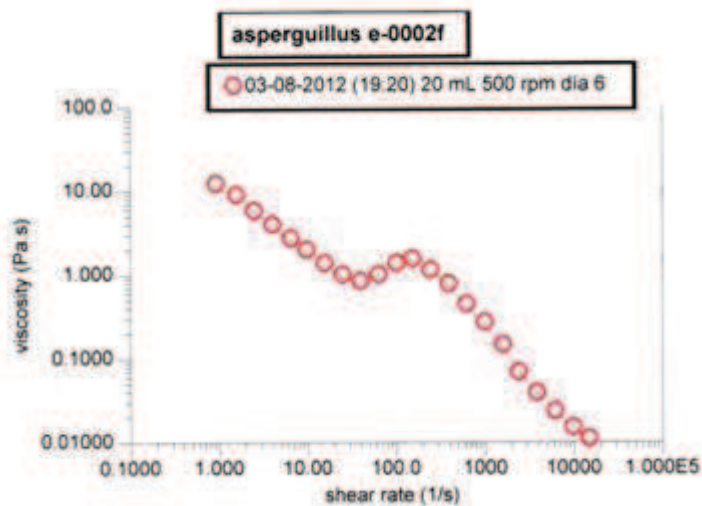
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño - Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272 e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 4 (03-08-2012; 10:05; 13mL; 500 rpm; día 6)



Muestra 5 (03-08-2012; 19:20; 20mL; 500 rpm; día 6)



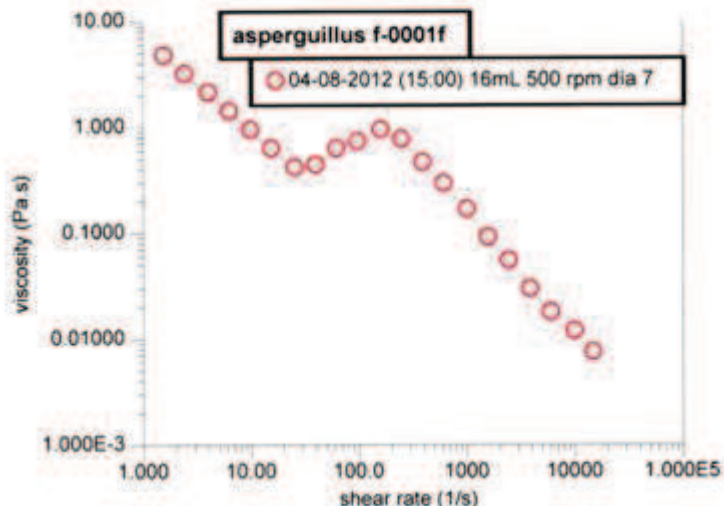


ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)

Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño. Telf.: 2507 138
Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
Tiga. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
Quito- Ecuador



Muestra 6 (04-08-2012; 15:00; 16mL; 500 rpm; día 7)



COMENTARIOS:

Se corrió de 0.01 rad/s ya que el sistema no podía estabilizar las condiciones a velocidades muy bajas y hasta 150 rad/s debido a que la muestra se esparcía luego de esta velocidad.

PROFESIONAL RESPONSABLE
DEL ANÁLISIS O TRABAJO

Ing. Elena Coyago

QUEJAS Y SUGERENCIAS

El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en forma escrita hasta 8 días después de la entrega del informe. En el DECAB se mantiene un registro de quejas y sugerencias con el fin de mejorar el Servicio al Cliente.

El laboratorio no se responsabiliza por el muestreo realizado antes de la entrega de las muestras al DECAB, pero si se responsabiliza de las muestras recibidas, tal como se las entrega.

RESULTADOS DE LA REOLOGÍA DEL MEDIO A LO LARGO DEL PROCESO FERMENTATIVO REALIZADO EN EL REACTOR DE 2 LITROS A 600 RPM



ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño. Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272 e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS O TRABAJO

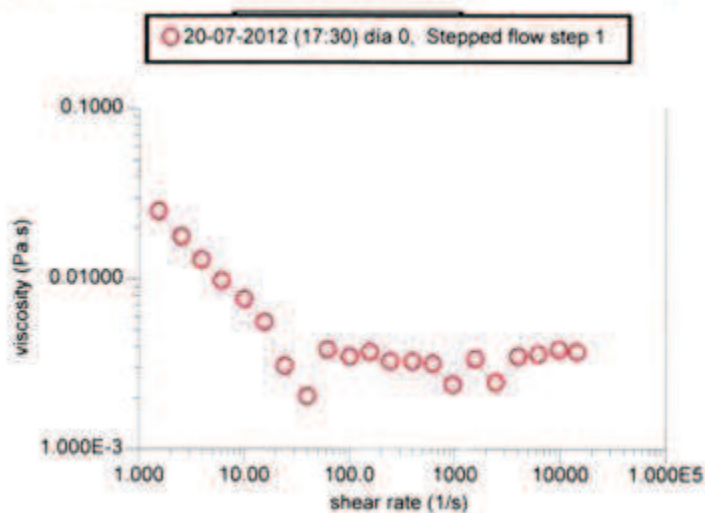
RESULTADOS

Gap: 200 μm

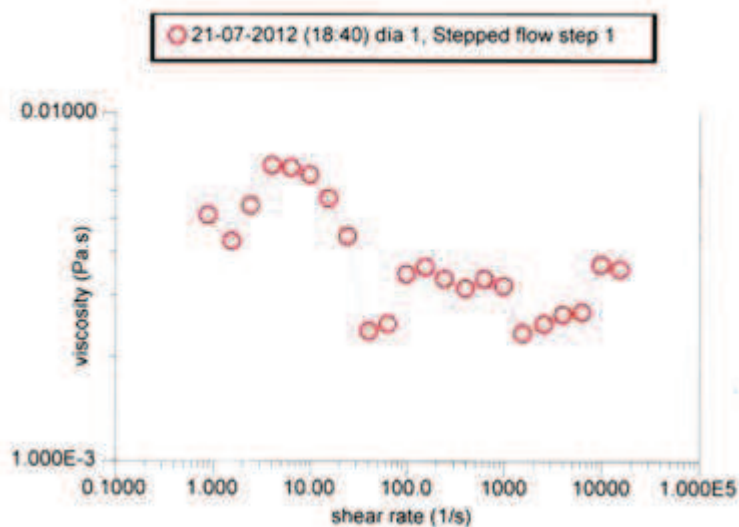
Temperatura: 28 °C (Especificado por el cliente)

Geometría: Plato – Plato

Sin código (20-07-2012 ; 17:30; día 0; 8,5 mL ; 600 rpm)



Sin código (21-07-2012; 18:40; día 1; 8,5 mL; 600rpm)

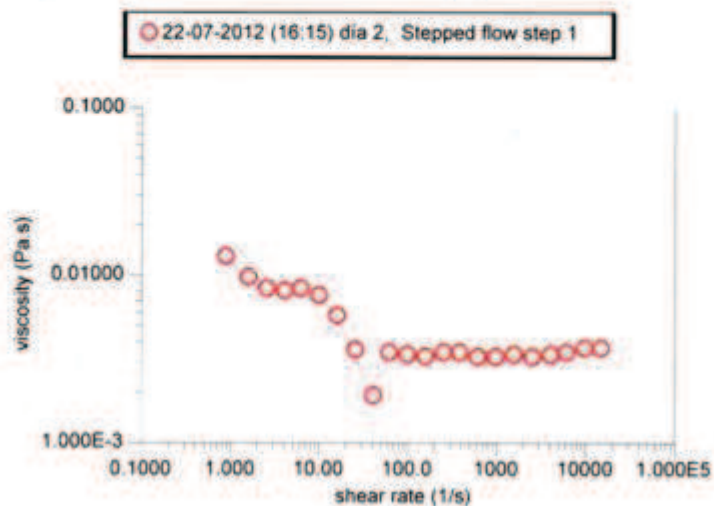




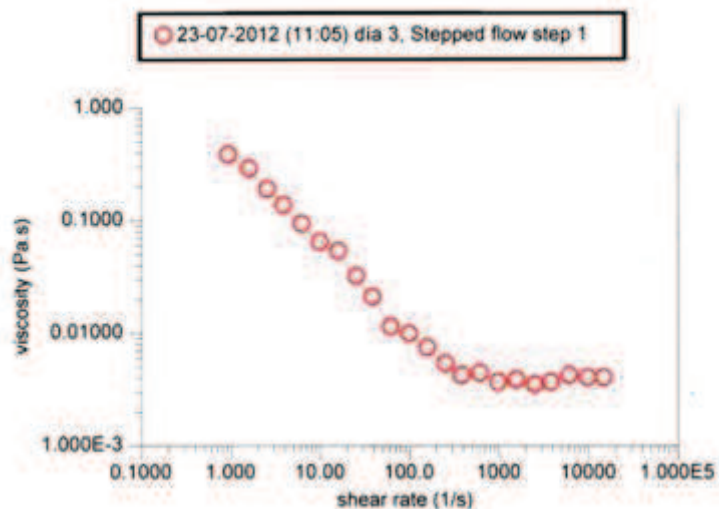
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño · Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes · Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas · Telf.: 2507 144 ext. 2272 · e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito · Ecuador



Sin código (22-07-2012; 16:15; día 2; 8,5 mL; 600rpm)



Sin código (23-07-2012; 11:05; día 3; 8,5 mL; 600rpm)



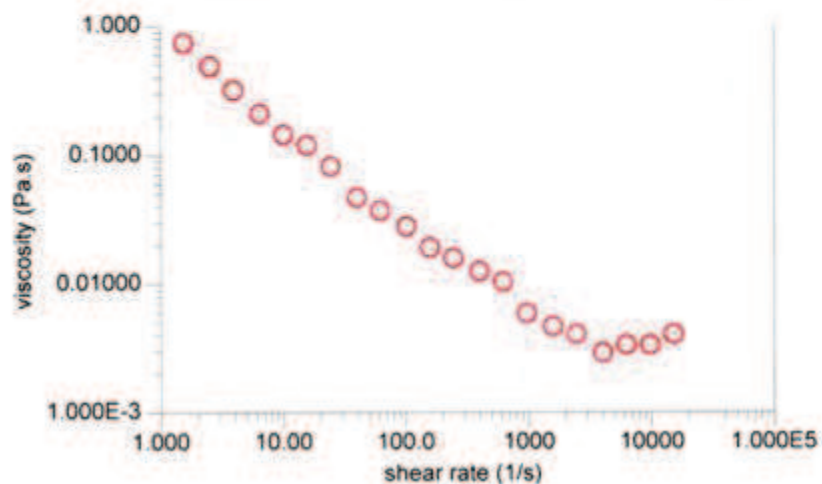


ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño. Telf: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga: Elisabeth Venegas. Telf: 2507 144 ext. 2272 e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



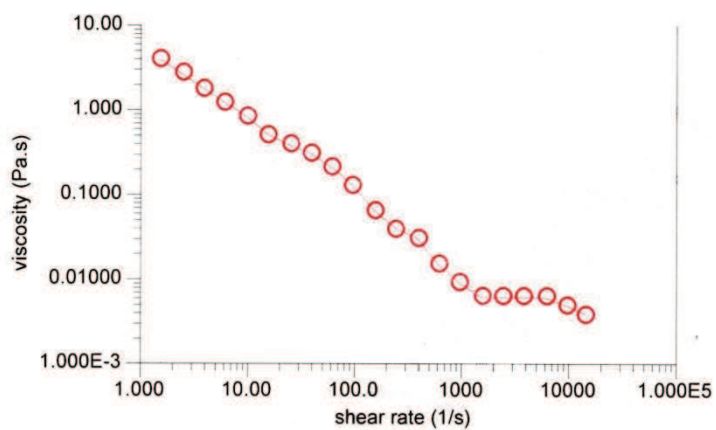
Sin código (23-07-2012 ; 17:55; día 3; 11 mL ; 600 rpm; 8 L/ min)

○ 23-07-2012 (17:55) día 3, Stepped flow step 1



Sin código (24-07-2012; 9:20; día 4; 18 mL; 600rpm; 8L/min)

○ 24-07-2012 (9:20) día 4, Stepped flow step 1

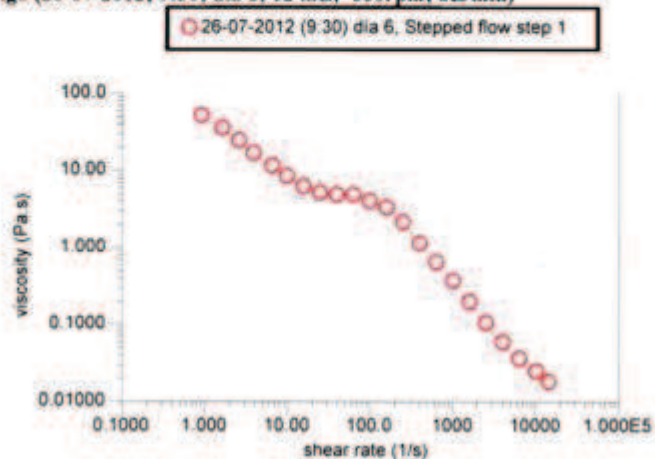




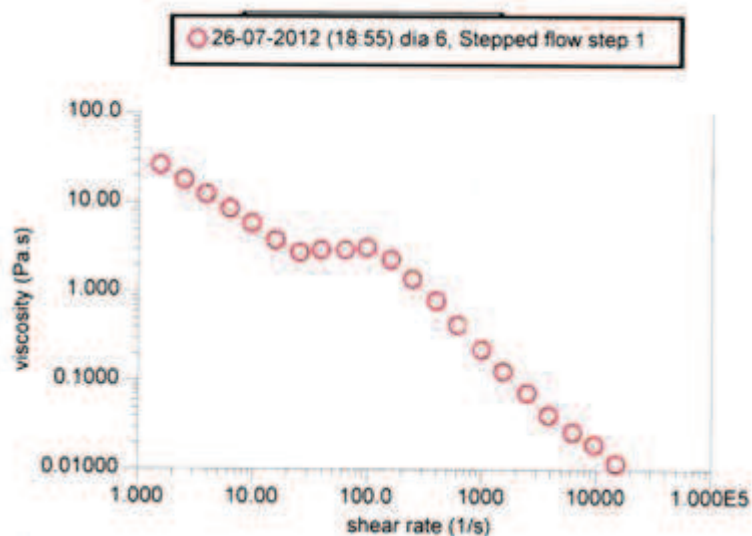
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño, Telf: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes, Telf: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita Elisabeth Venegas, Telf: 2507 144 ext. 2272, e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Sin código (26-07-2012; 9:30; día 6; 12 mL; 600rpm; 8L/min)



Sin código (26-07-2012;18:55; día 6; 12 mL; 600rpm; 8L/min)



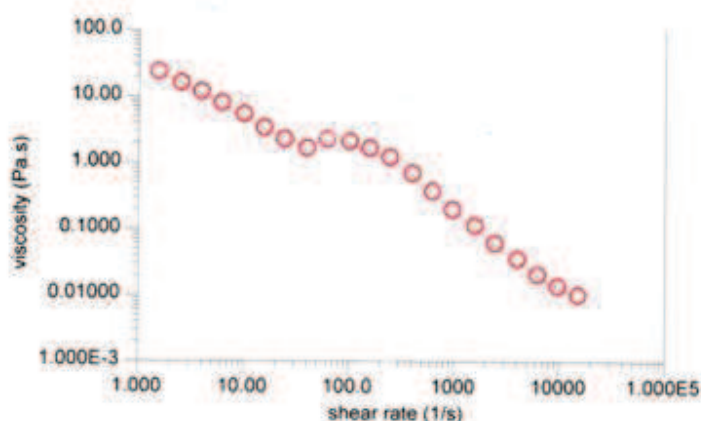


ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño. Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tigo: Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



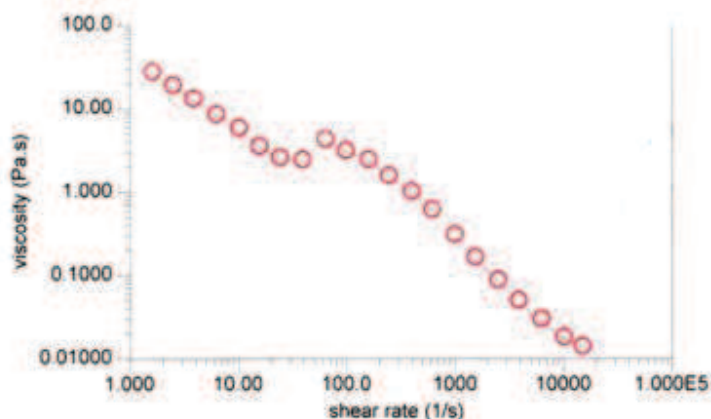
Sin código (27-07-2012; 9:45; día 7; 15 mL; 600rpm; 8L/min)

○ 27-07-2012 (9.45) día 7 Stepped flow step 1



Sin código (28-07-2012; 18:45; día 8; 15 mL; 600rpm; 8L/min)

○ 28-07-2012 (18.45) día 8, Stepped flow step 1



COMENTARIOS:

Se corrió de 0.01 rad/s ya que el sistema no podía estabilizar las condiciones a velocidades muy bajas y hasta 150 rad/s debido a que la muestra se esparcía luego de esta velocidad.

PROFESIONAL RESPONSABLE
 DEL ANÁLISIS O TRABAJO

Elena Coyago

Ing. Elena Coyago

QUEJAS Y SUGERENCIAS

El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en forma escrita hasta 8 días después de la entrega del informe. En el DECAB se mantiene un registro de quejas y sugerencias con el fin de mejorar el Servicio al Cliente.

El laboratorio no se responsabiliza por el muestreo realizado antes de la entrega de las muestras al DECAB, pero si se responsabiliza de las muestras recibidas, tal como se las entrega.

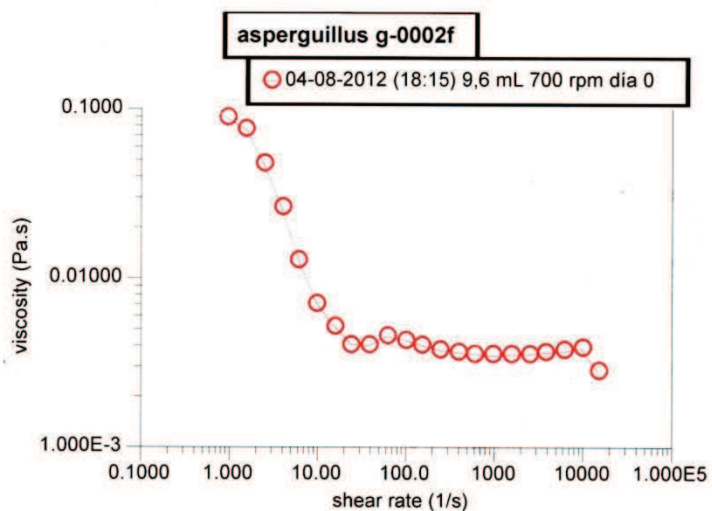
RESULTADOS DE LA REOLOGÍA DEL MEDIO A LO LARGO DEL PROCESO FERMENTATIVO REALIZADO EN EL REACTOR DE 2 LITROS A 700 RPM



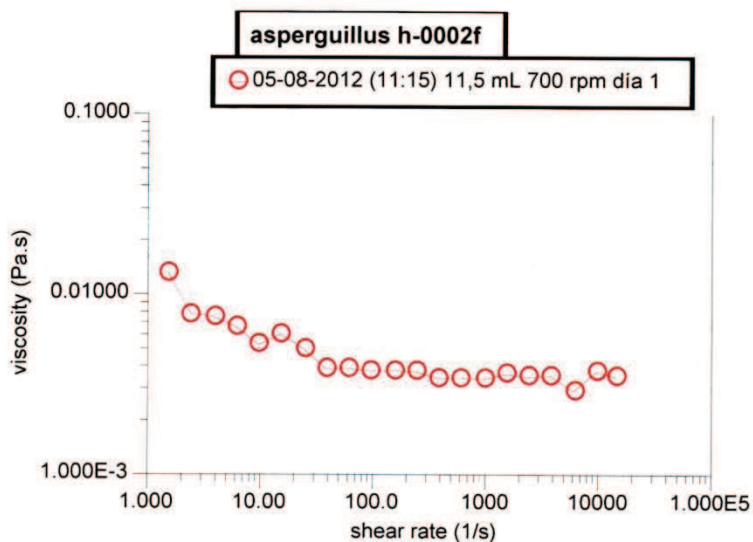
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma_paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 7 (04-08-2012; 18:15; 9.6mL; 700 rpm; día 0)



Muestra 8 (05-08-2012; 11:15; 11.5mL; 700 rpm; día 1)

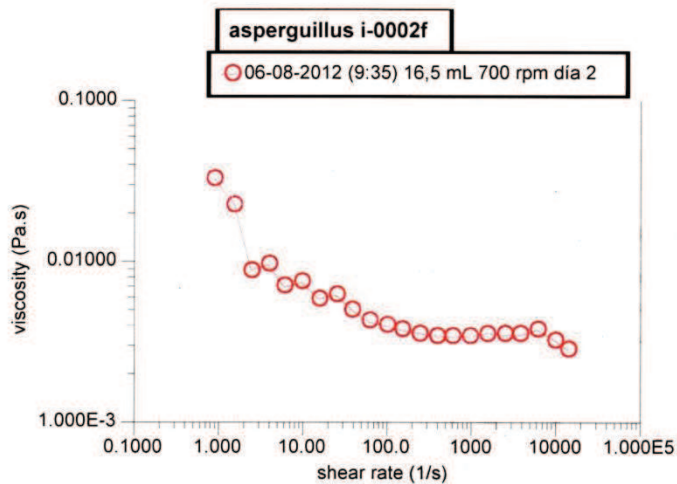




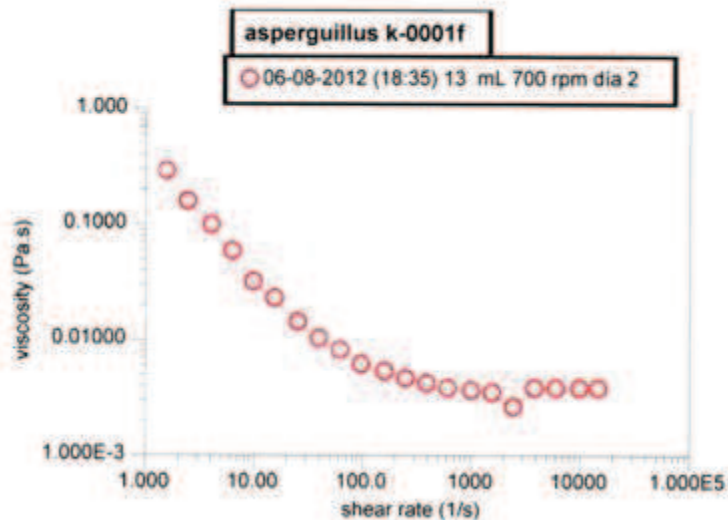
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 9 (06-08-2012; 9:35; 16.5mL; 700 rpm; día 2)



Muestra 1 (06-08-2012; 18:35; 13mL; 700 rpm; día 2)

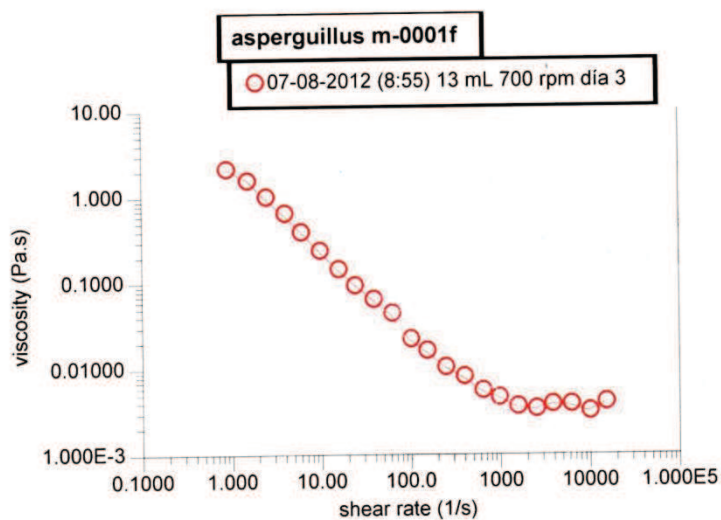




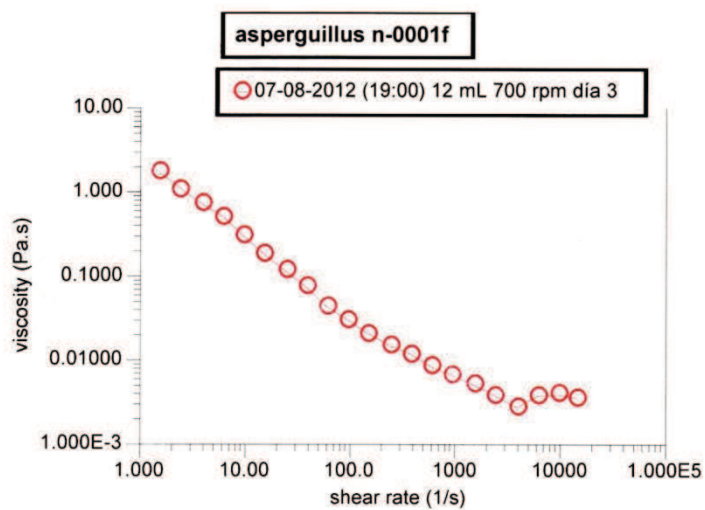
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 2 (07-08-2012; 8:55; 13mL; 700 rpm; día 3)



Muestra 1 (07-08-2012; 19:00; 12mL; 700 rpm; día 3)

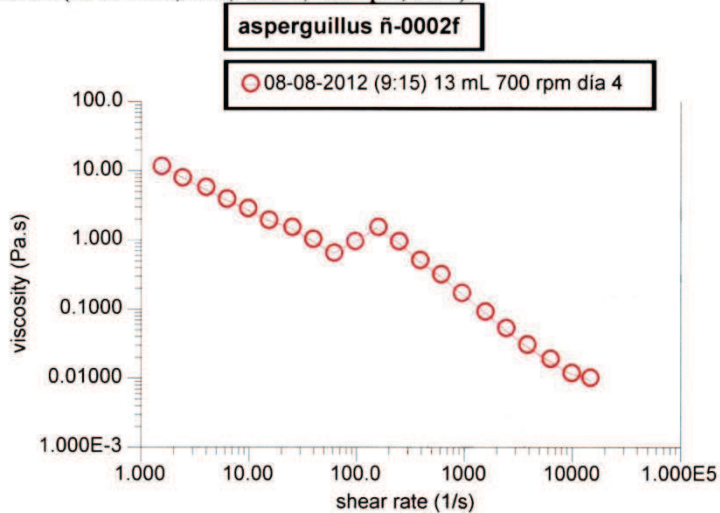




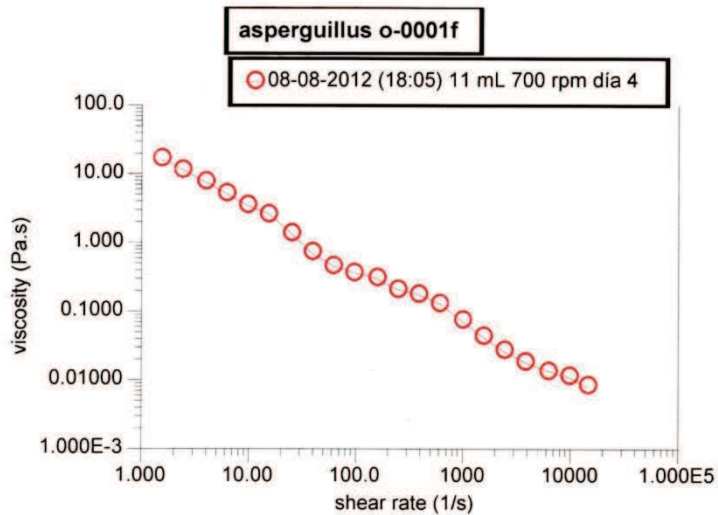
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 2 (08-08-2012; 9:15; 13mL; 700 rpm; día 4)



Muestra 1 (08-08-2012; 18:05; 11mL; 700 rpm; día 4)

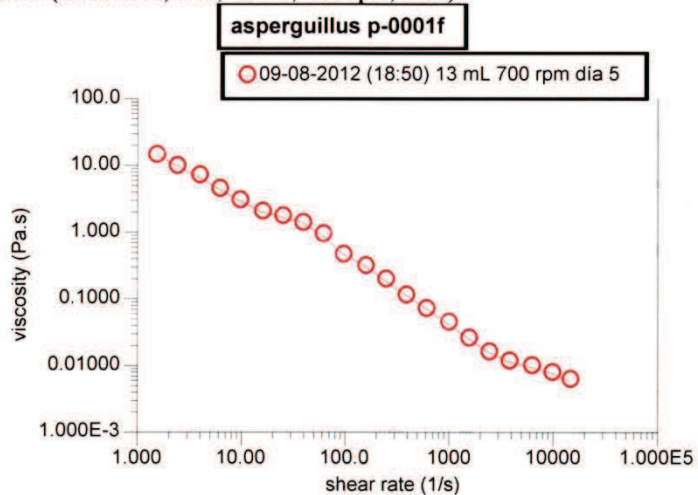




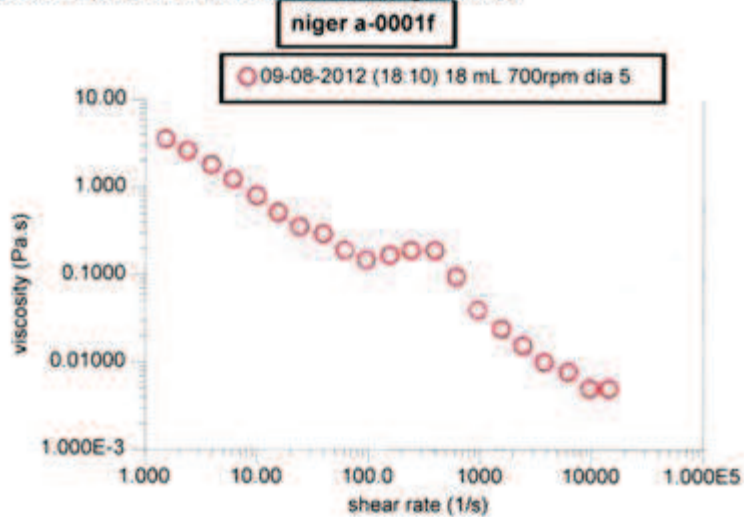
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 2 (09-08-2012; 8:50; 13mL; 700 rpm; día 5)



Muestra 1 (09-08-2012 ; 18:10 ; 18 mL; 700 rpm ; día 5)



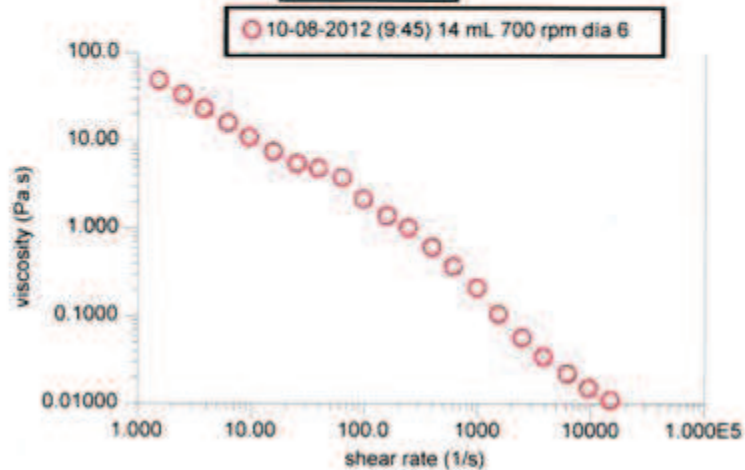


ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc. Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño. Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272 e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



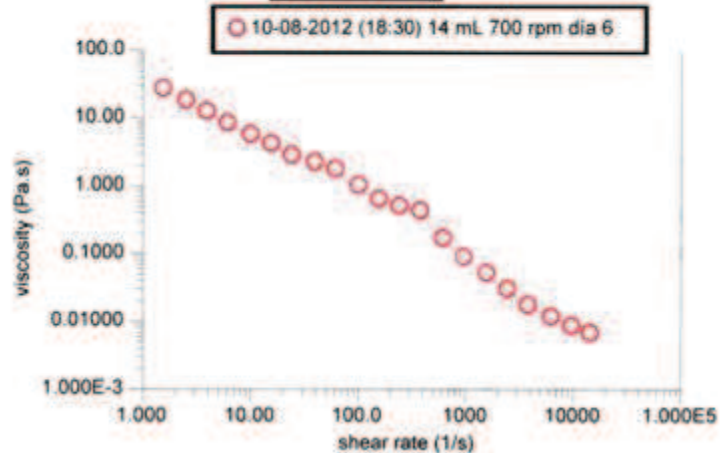
Muestra 2 (10-08-2012; 9:45; 14mL ; 700rpm ; día 6)

niger b-0001f



Muestra 3 (10-08-2012; 18:30; 14mL ; 700 rpm ; día 6)

niger c-0001f

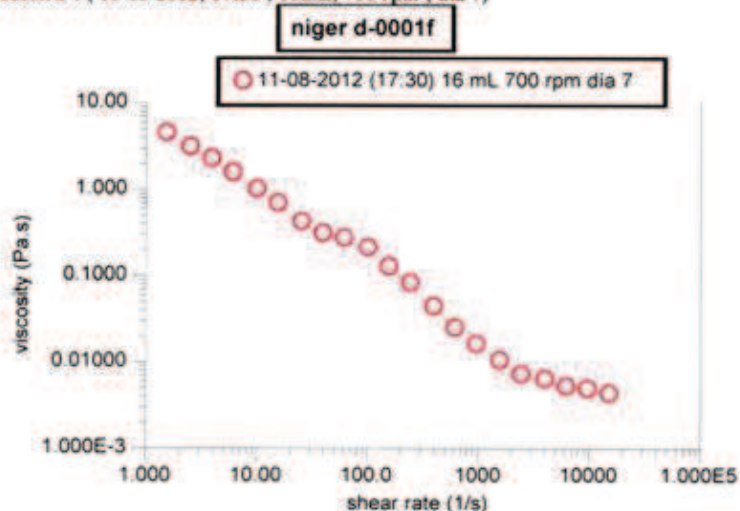




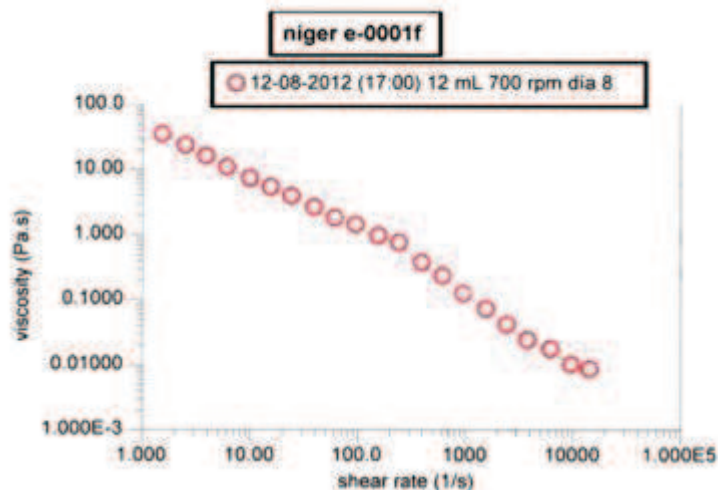
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
 DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGIA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño. Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2450 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 4 (11-08-2012; 17:30 ; 16mL; 700 rpm ; día 7)



Muestra 5 (12-08-2012; 17:00 ; 12 mL; 700 rpm ; día 8)



COMENTARIOS:

Se corrió de 0.01 rad/s ya que el sistema no podía estabilizar las condiciones a velocidades muy bajas y hasta 150 rad/s debido a que la muestra se esparcía luego de esta velocidad.

PROFESIONAL RESPONSABLE
 DEL ANÁLISIS O TRABAJO

Ing. Elena Coyago

QUEJAS Y SUGERENCIAS

El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en forma escrita hasta 8 días después de la entrega del informe. En el DECAB se mantiene un registro de quejas y sugerencias con el fin de mejorar el Servicio al Cliente.

El laboratorio no se responsabiliza por el muestreo realizado antes de la entrega de las muestras al DECAB, pero si se responsabiliza de las muestras recibidas, tal como se las entrega.

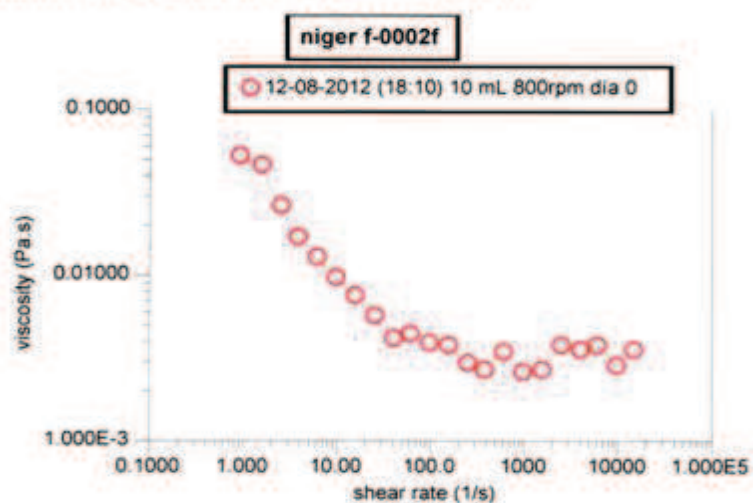
RESULTADOS DE LA REOLOGÍA DEL MEDIO A LO LARGO DEL PROCESO FERMENTATIVO REALIZADO EN EL REACTOR DE 2 LITROS A 800 RPM



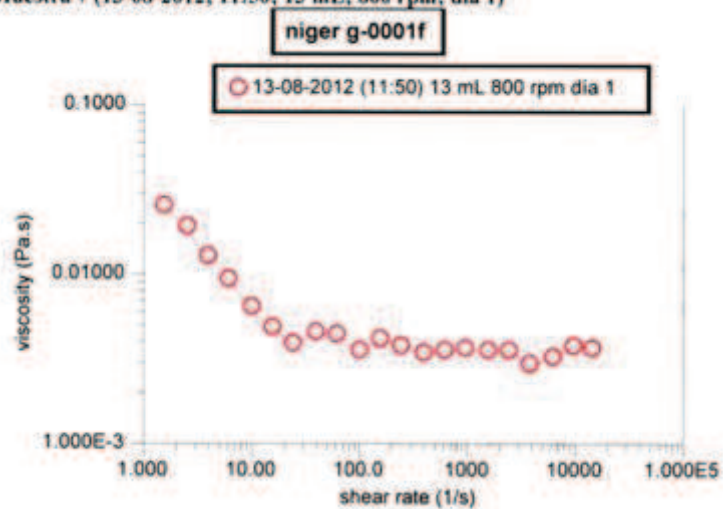
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño · Telf: 2507 138.
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes, Telf: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga: Elisabeth Venegas · Telf: 2507 144 ext. 2272 · e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 6 (12-08-2012; 18:10; 10 mL ; 800 rpm ; día 0)



Muestra 7 (13-08-2012; 11:50; 13 mL; 800 rpm; día 1)



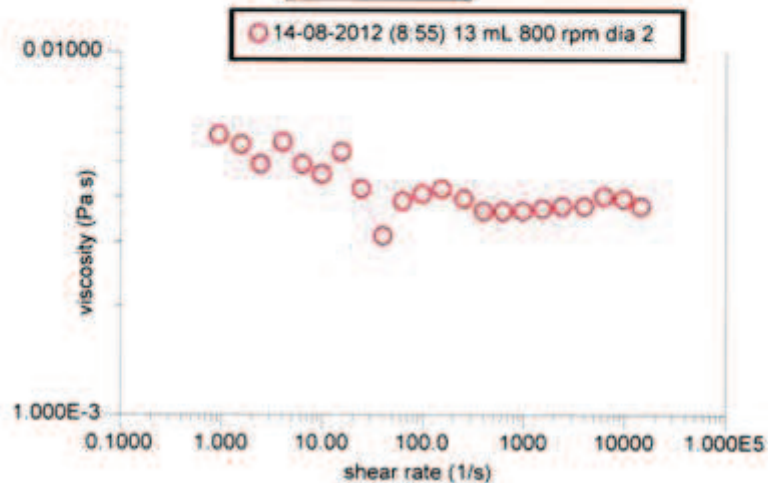


ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño. Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272 e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



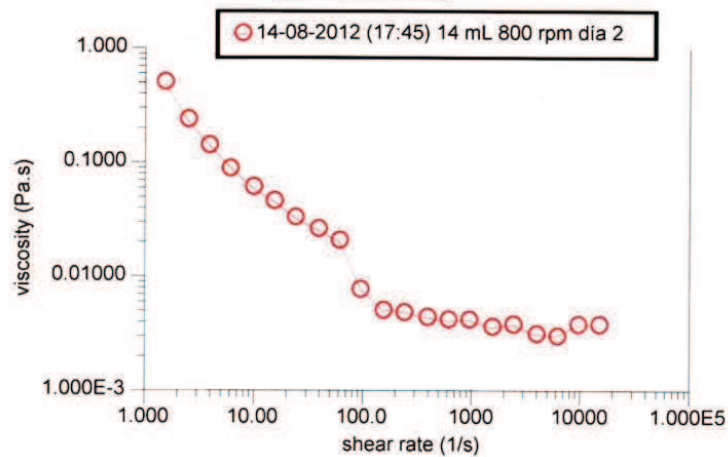
Muestra 8 (14-08-2012; 8:55 ; 13 mL; 800rpm; día 2)

niger h-0003f



Muestra 1 (14-08-2012; 17:45; 14 mL; 800 rpm día 2)

niger i-0001f



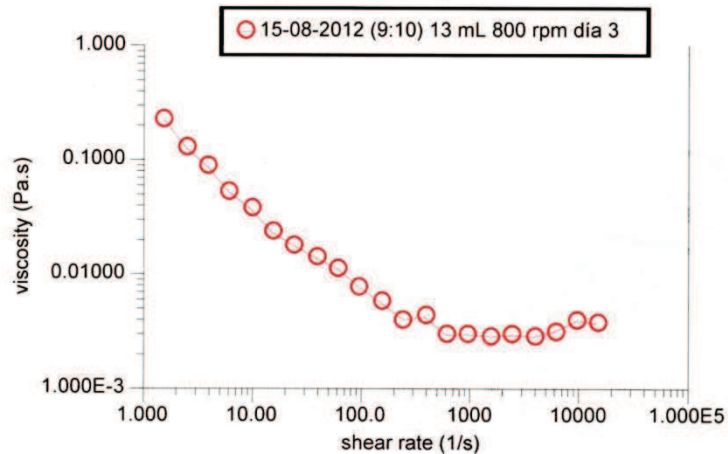


ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



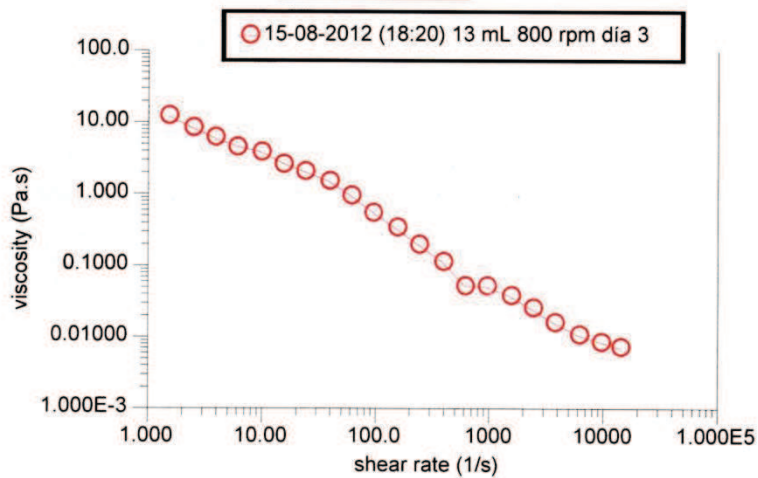
Muestra 2 (15-08-2012; 9:10; 13mL; 800 rpm día 3)

niger k-0001f



Muestra 3 (15-08-2012; 18:20; 13 mL; 800 rpm; día 3)

niger m-0002f

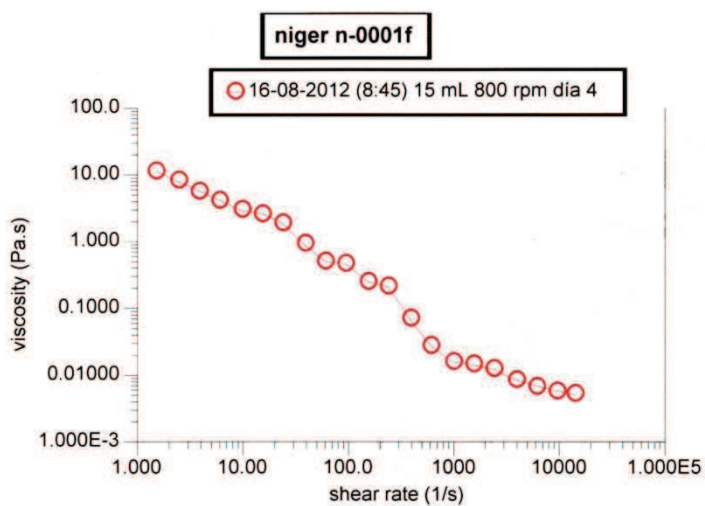




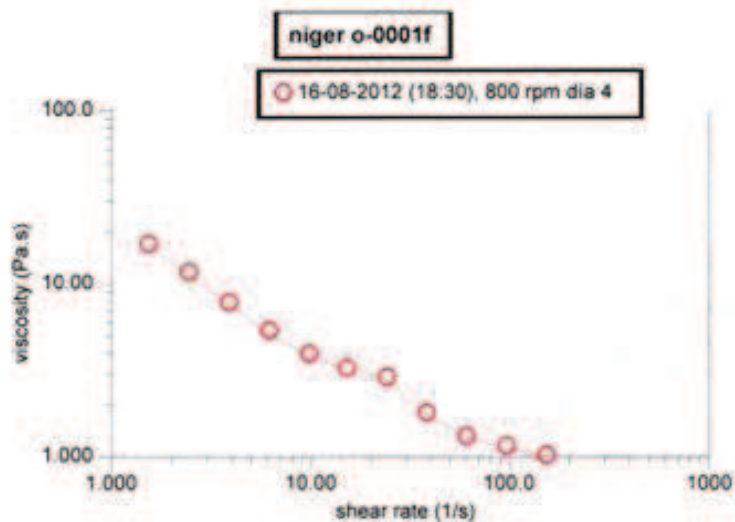
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 4 (16-08-2012; 8:45; 15 mL; 800 rpm; día 4)



Muestra 1 (16-08-2012; 18:30 ; 13 mL; 800 rpm; día 4)

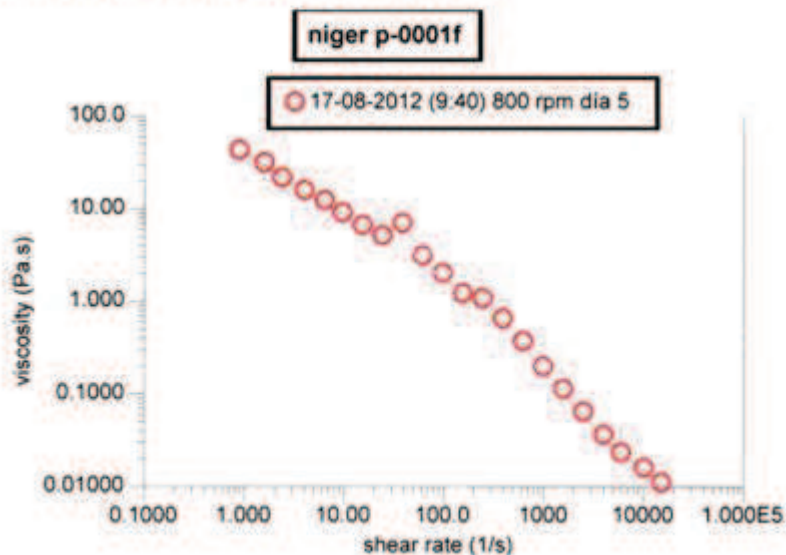




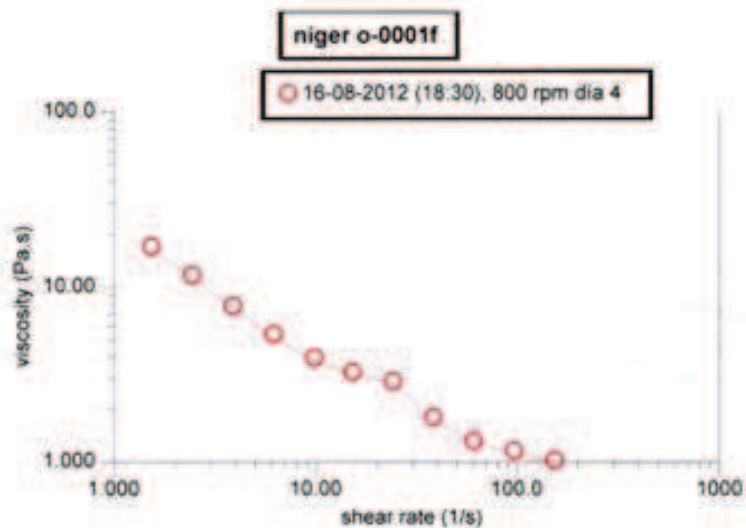
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño. Telf.: 2507 136
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tga. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 2 (17-08-2012; 9:40 ; 11 mL; 800 rpm; día 5)



Muestra 1 (16-08-2012; 18:30 ; 13 mL; 800 rpm; día 4)

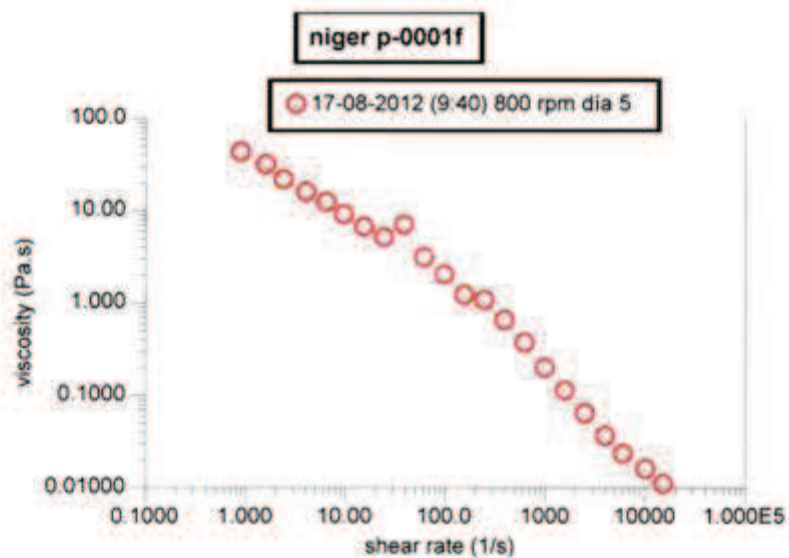




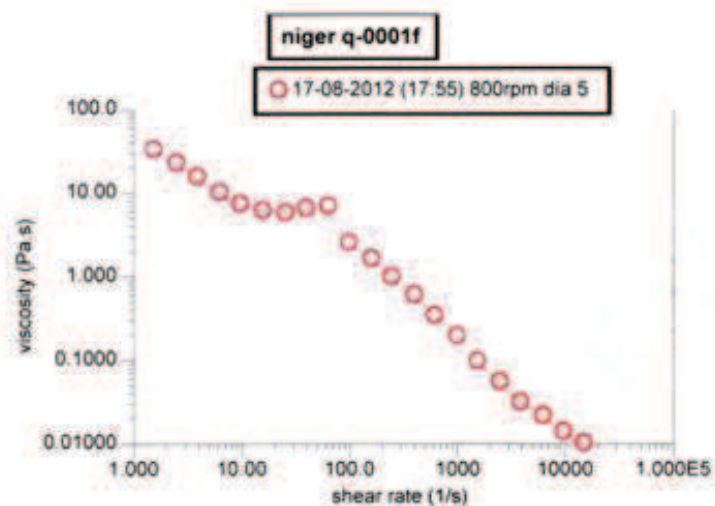
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGIA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño - Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes, Telf.: 2507 144 ext: 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita. Elisabeth Venegas, Telf.: 2507 144 ext: 2272 e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 2 (17-08-2012; 9:40 ; 11 mL; 800 rpm; día 5)



Muestra 3 (17-08-2012; 17:55; 13 mL; 800 rpm; día 5)

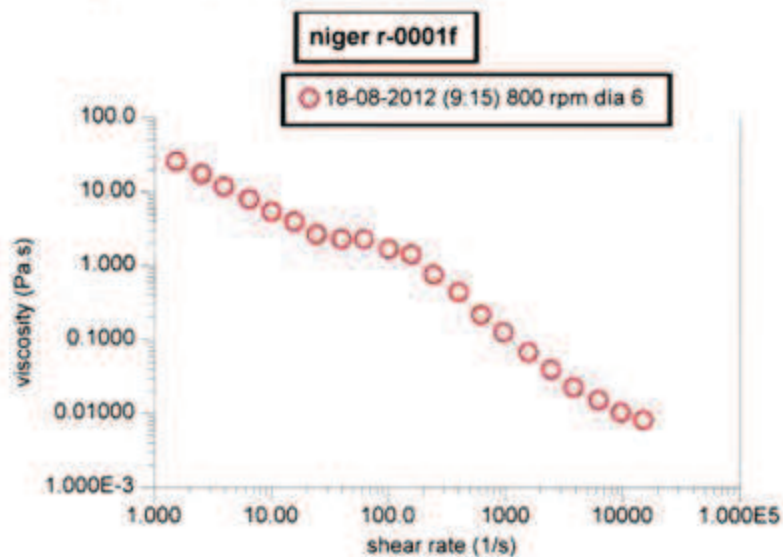




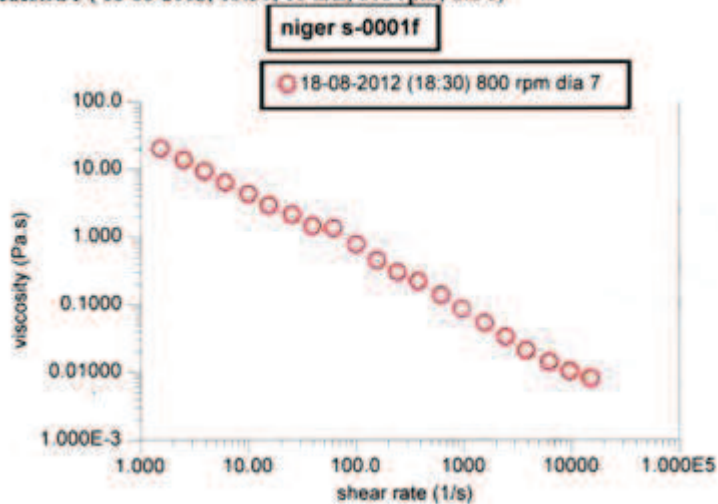
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc. Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tigo. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 4 (18-08-2012; 9:15; 12 mL; 800 rpm; día 6)



Muestra 5 (18-08-2012; 18:30; 10 mL; 800 rpm; día 6)

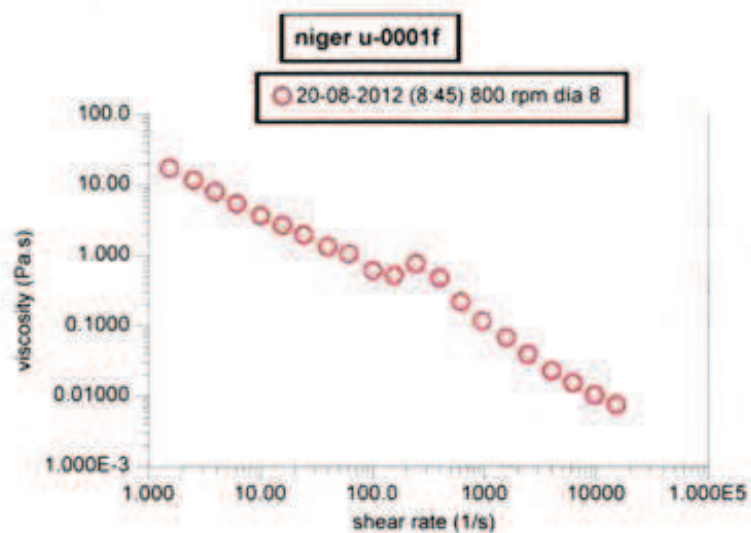
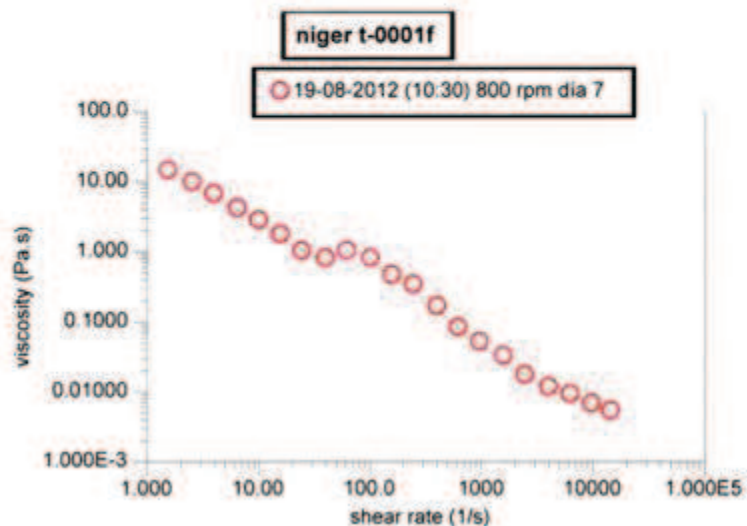




ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño · Telf: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes · Telf: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita. Elisabeth Venegas · Telf: 2507 144 ext. 2272 · e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 6 (19-08-2012; 10:30; 11 mL; 800 rpm; día 7)





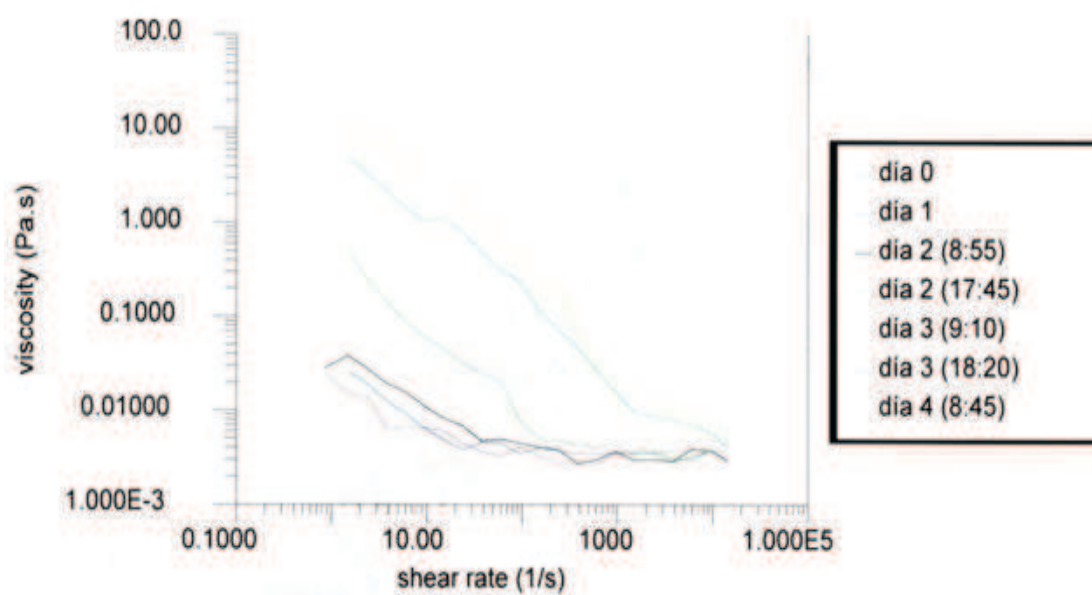
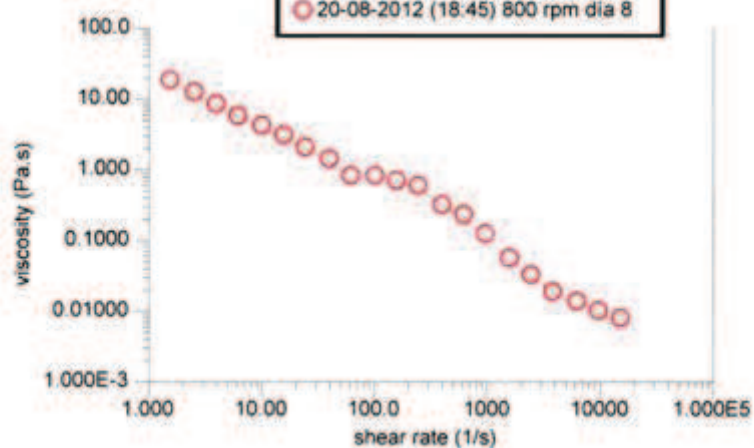
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 8 (20-08-2012; 18:45; 10 mL; 800 rpm; día 8)

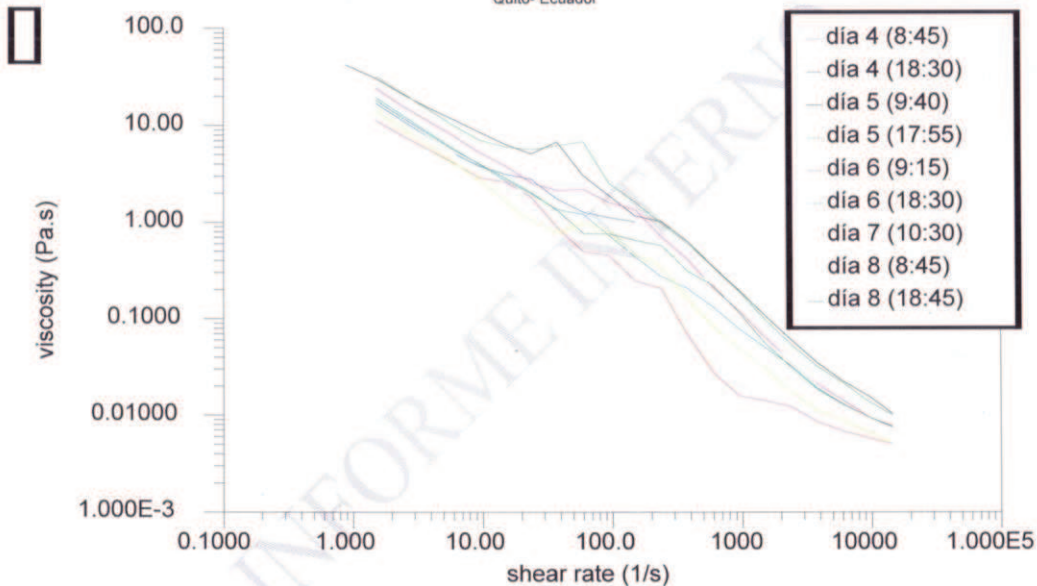
niger v-0002f

○ 20-08-2012 (18:45) 800 rpm día 8





ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Rical
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño. 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irpa@epn.edu.ec
 Tga. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272. e-mail: elisabeth@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



COMENTARIOS:

Se corrió de 0.01 rad/s ya que el sistema no podía estabilizar las condiciones a velocidades muy bajas y hasta 150 rad/s debido a que la muestra se esparcía luego de esta velocidad.

PROFESIONAL RESPONSABLE
 DEL ANÁLISIS O TRABAJO

Elena Coyago

Ing. Elena Coyago

QUEJAS Y SUGERENCIAS

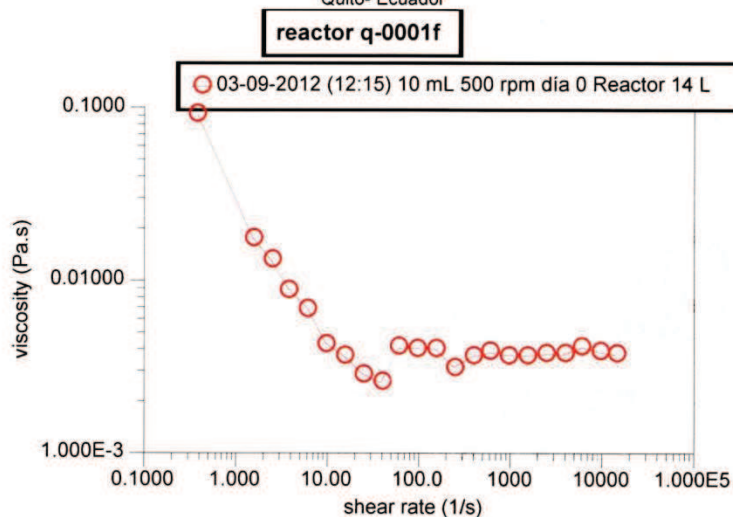
El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en forma escrita hasta 8 días después de la entrega del informe. En el DECAB se mantiene un registro de quejas y sugerencias con el fin de mejorar el Servicio al Cliente.

El laboratorio no se responsabiliza por el muestreo realizado antes de la entrega de las muestras al DECAB, pero sí se responsabiliza de las muestras recibidas, tal como se las entrega.

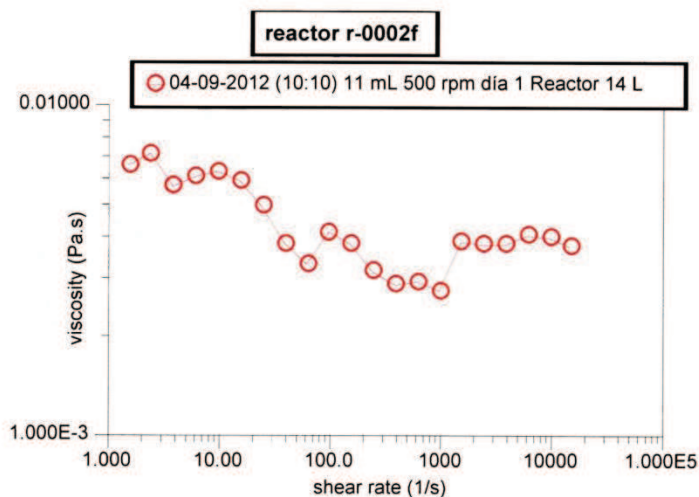
RESULTADOS DE LA REOLOGÍA DEL MEDIO A LO LARGO DEL PROCESO FERMENTATIVO REALIZADO EN EL REACTOR DE 14 LITROS A 500 RPM



ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 6 (04-09-2012; 10:10; 11 mL; 500 rpm; día 1; Reactor 14 L)

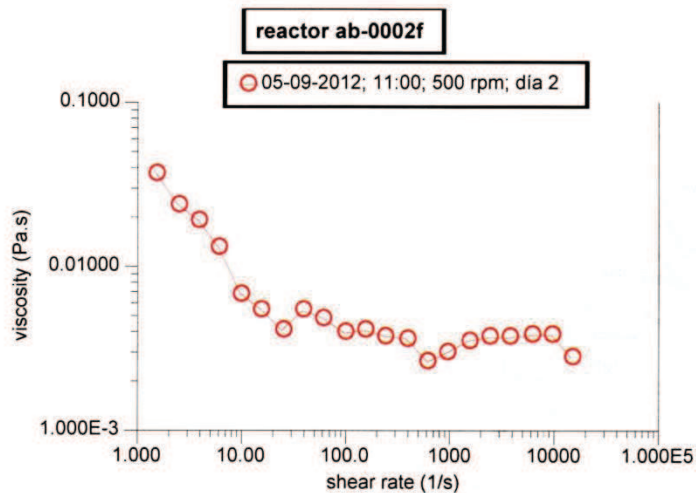




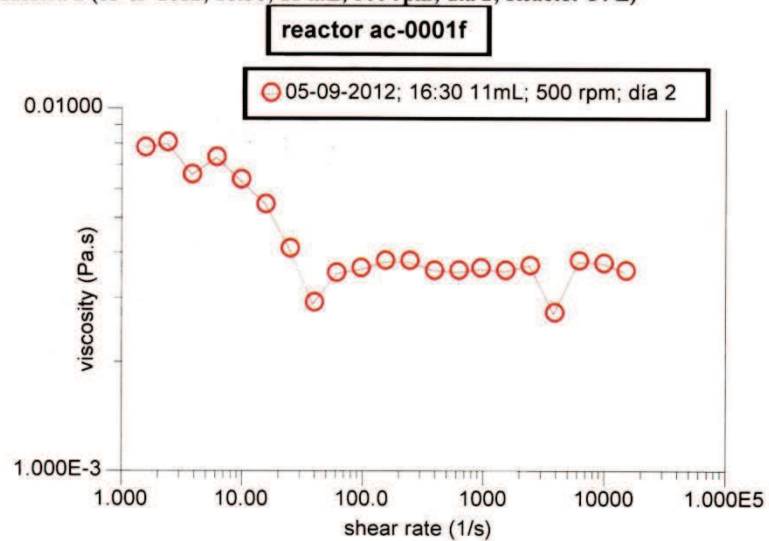
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 1 (05-09-2012; 11:00; 11 mL; 500 rpm; día 2; Reactor 14 L)



Muestra 2 (05-09-2012; 16:30; 11 mL; 500 rpm; día 2; Reactor 14 L)



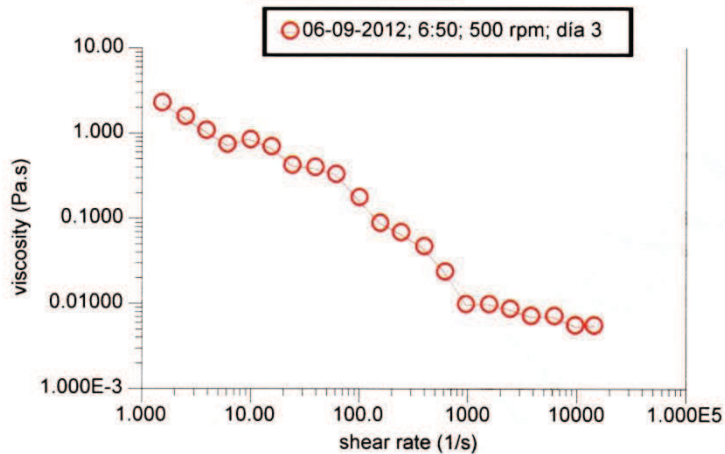


ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



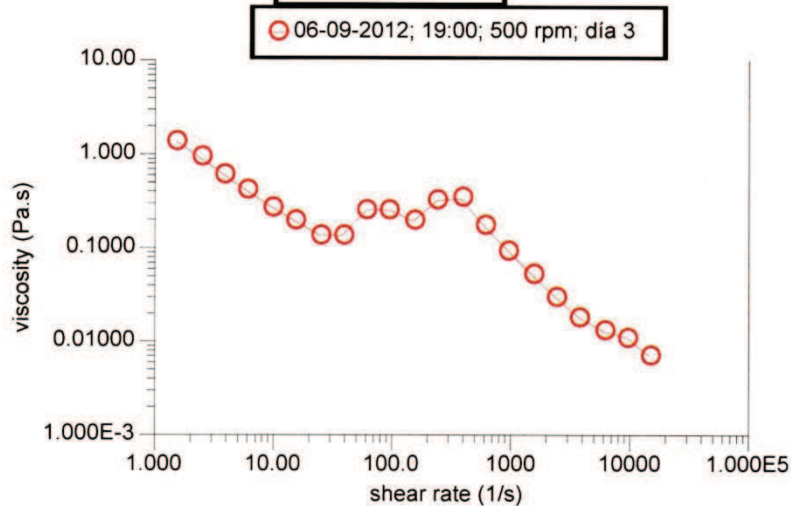
Muestra 3 (06-09-2012; 9:50; 11mL; 500 rpm; día 3; Reactor 14 L)

reactor ad-0002f



Muestra 4 (06-09-2012; 19:00; 11 mL; 500 rpm; día 3; Reactor 14 L)

reactor ae-0001f



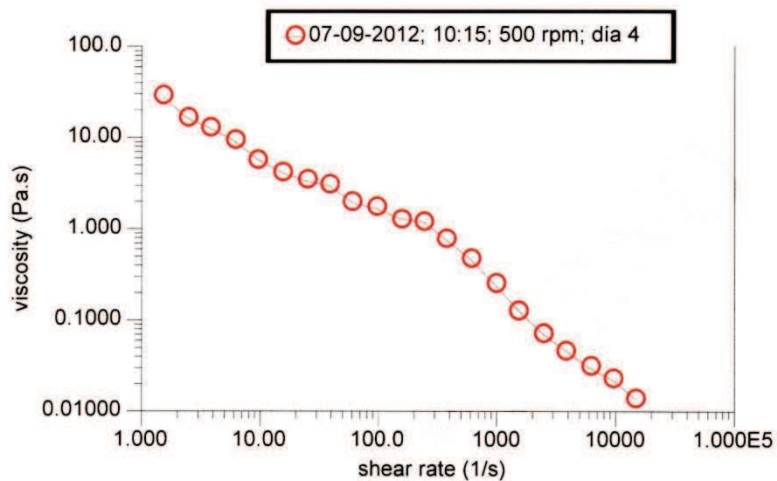


ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tigo. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



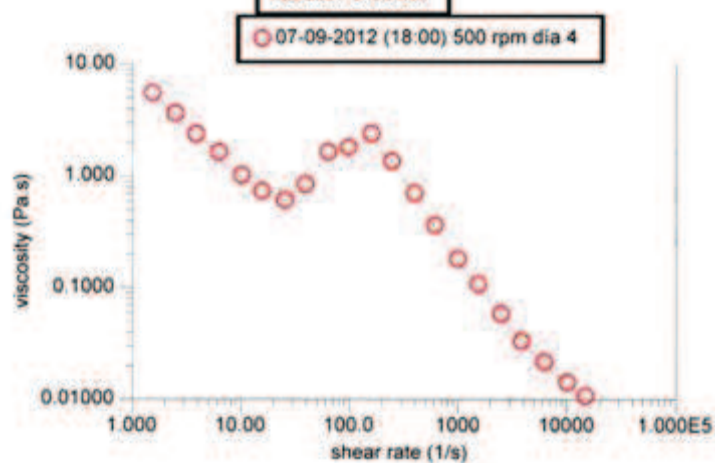
Muestra 5 (07-09-2012; 10:15; 11 mL; 500 rpm; día 4; Reactor 14L)

reactor af-0002f



Muestra 1 (07-09-2012; 18:00 ; 11 mL; 500 rpm; Reactor 14 L; día 4)

reactor s-0000f

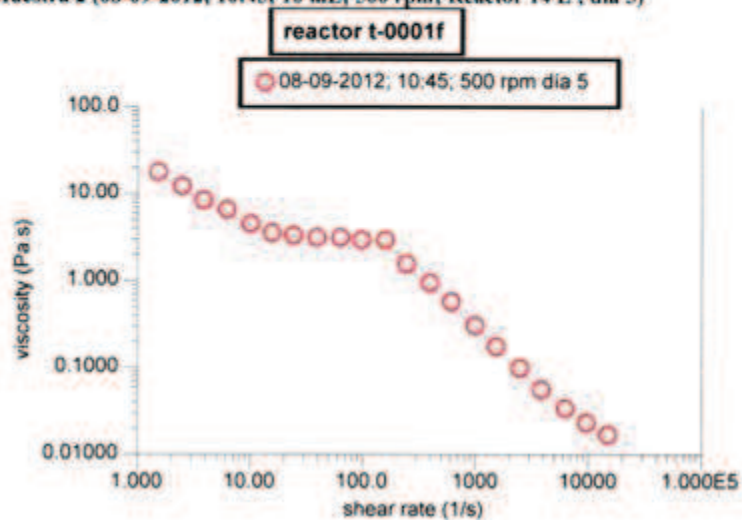




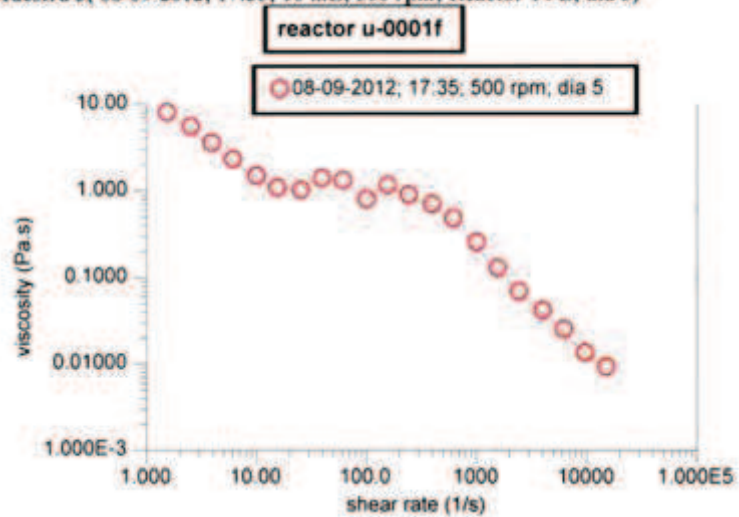
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc. Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño · Telf. 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 2 (08-09-2012; 10:45; 10 mL; 500 rpm; Reactor 14 L ; día 5)



Muestra 3(08-09-2012; 17:35; 10 mL; 500 rpm; Reactor 14 L; día 5)

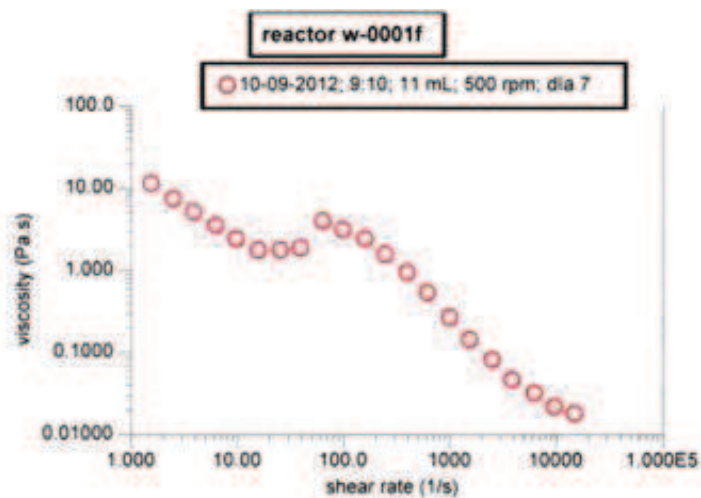
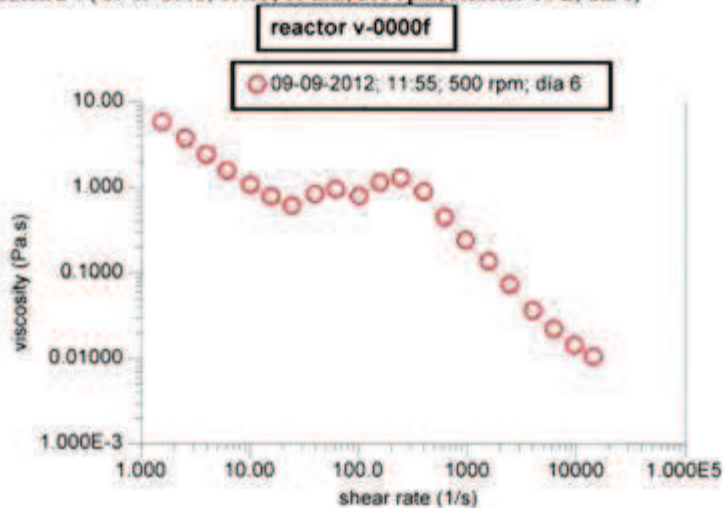




ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes, Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tga. Elisabeth Venegas, Telf.: 2507 144 ext. 2272, e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 4 (09-09-2012; 11:55; 10 mL; 500 rpm; Reactor 14 L; día 6)

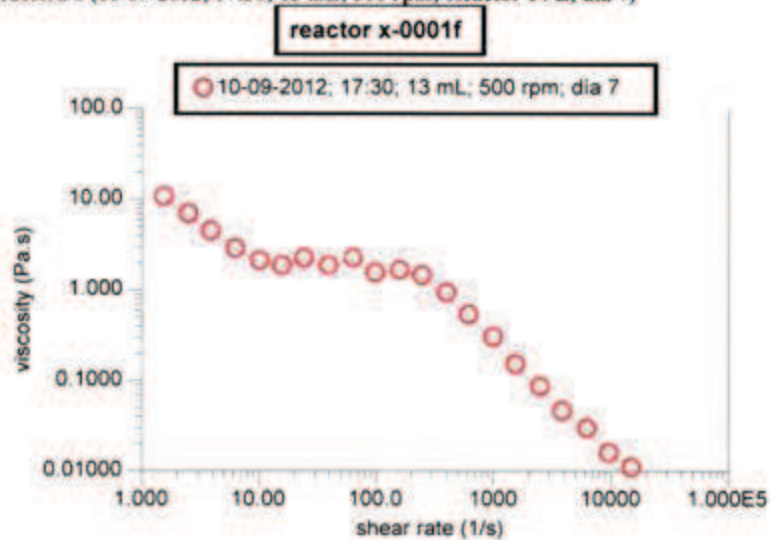




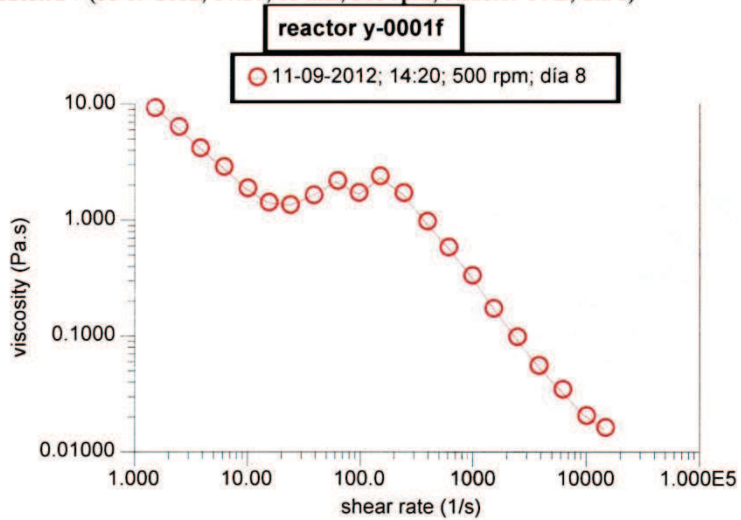
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc. Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita. Elisabeth Venegas . Telf: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 6 (10-09-2012; 17:30; 13 mL; 500 rpm; Reactor 14 L; día 7)



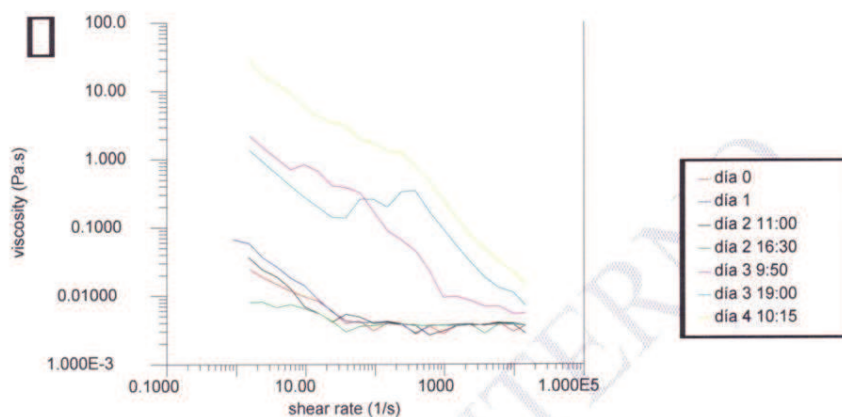
Muestra 7 (11-09-2012; 14:20; 15 mL; 500 rpm; Reactor 14 L; día 8)





ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)

Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



COMENTARIOS:

Se corrió de 0.01 rad/s ya que el sistema no podía estabilizar las condiciones a velocidades muy bajas y hasta 150 rad/s debido a que la muestra se esparcía luego de esta velocidad.

**PROFESIONAL RESPONSABLE
 DEL ANÁLISIS O TRABAJO**

Elena Coyago

Ing. Elena Coyago

QUEJAS Y SUGERENCIAS

El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en forma escrita hasta 8 días después de la entrega del informe. En el DECAB se mantiene un registro de quejas y sugerencias con el fin de mejorar el Servicio al Cliente.

El laboratorio no se responsabiliza por el muestreo realizado antes de la entrega de las muestras al DECAB, pero sí se responsabiliza de las muestras recibidas, tal como se las entrega.

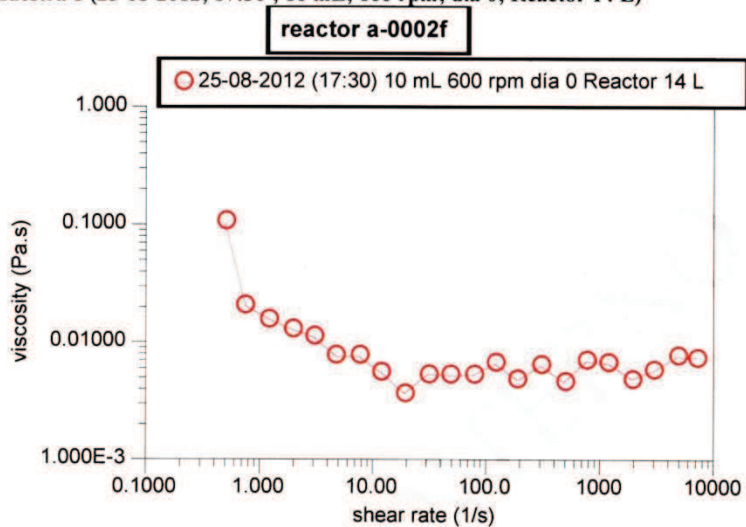
RESULTADOS DE LA REOLOGÍA DEL MEDIO A LO LARGO DEL PROCESO FERMENTATIVO REALIZADO EN EL REACTOR DE 14 LITROS A 600 RPM



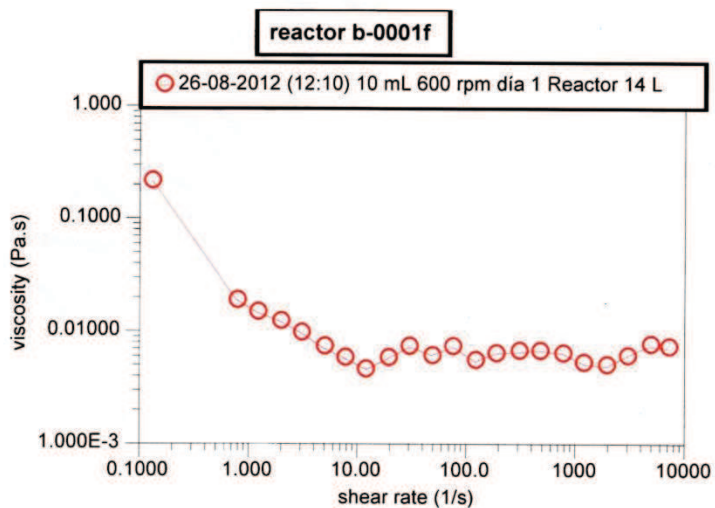
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 1 (25-08-2012; 17:30 ; 10 mL; 600 rpm; día 0; Reactor 14 L)



Muestra 2 (26-08-2012; 12:10; 10 mL; 600 rpm; día 1; Reactor 14 L)

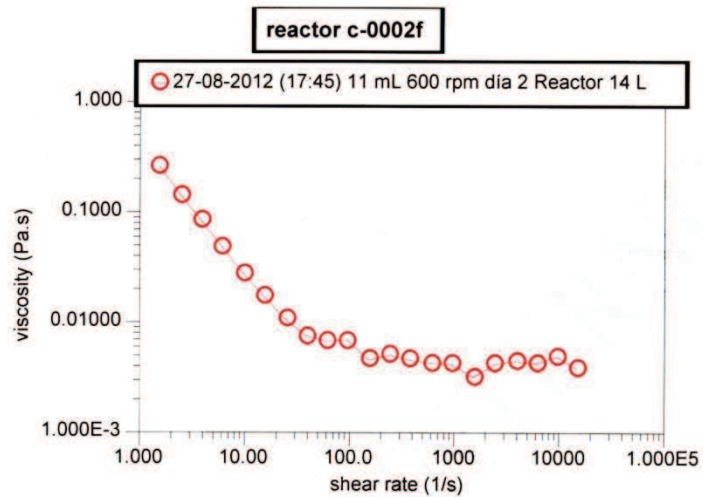




ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 3 (27-08-2012; 17:45; 11 mL; 600 rpm; día 3; Reactor 14 L)

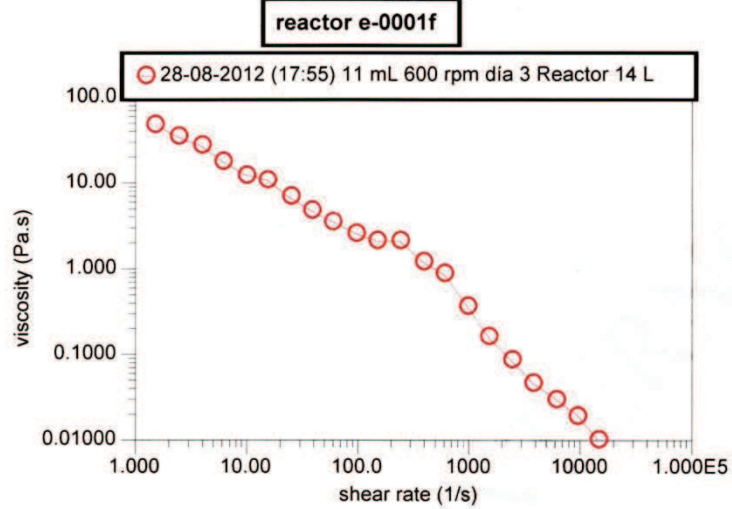




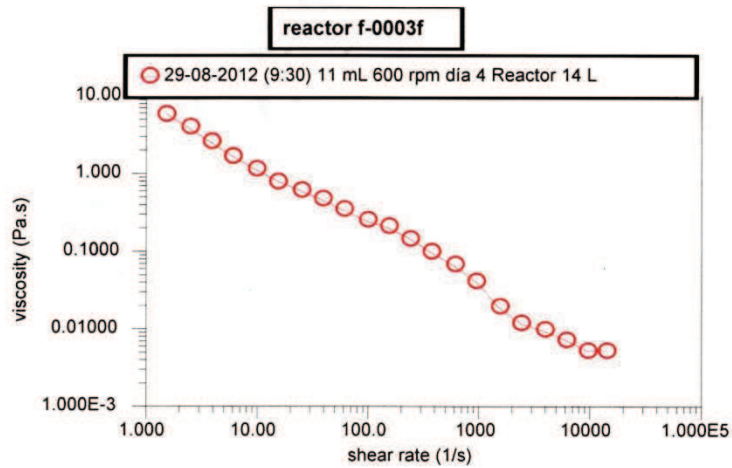
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 5 (28-08-2012; 17:55; 11 mL; 600 rpm; día 3; Reactor 14 L)



Muestra 6 (29-08-2012; 9:30; 11 mL; 600 rpm; día 4; Reactor 14 L)

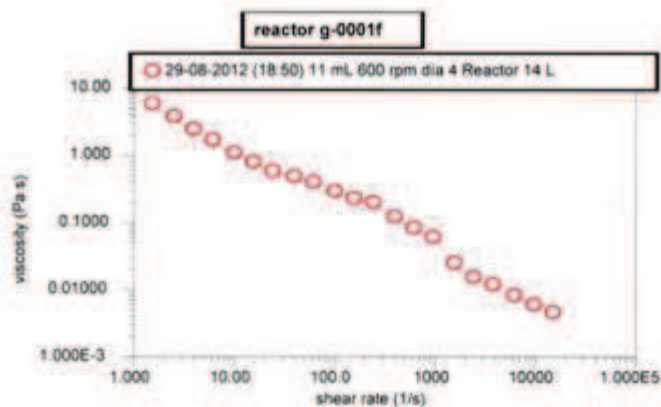




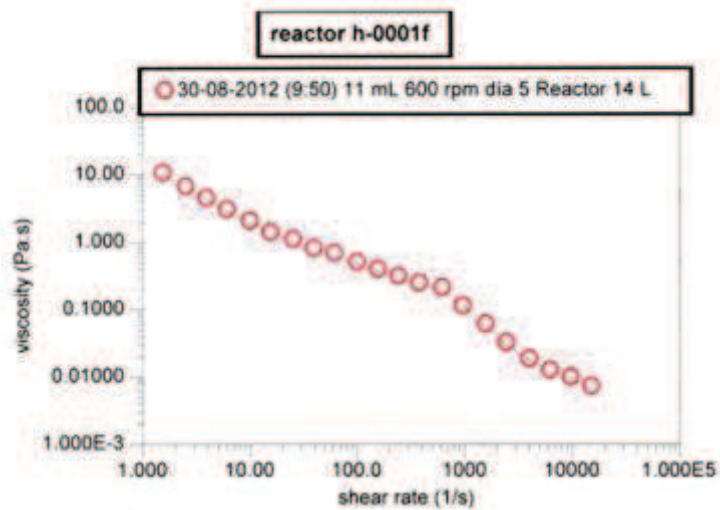
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc. Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño. Telf. 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas. Telf. 2507 144 ext. 2272. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 1 (29-08-2012; 18:50; 11 mL; 600 rpm; día 4; Reactor 14 L)



Muestra 2 (30-08-2012; 9:50; 11 mL; 600 rpm; día 5; Reactor 14 L)

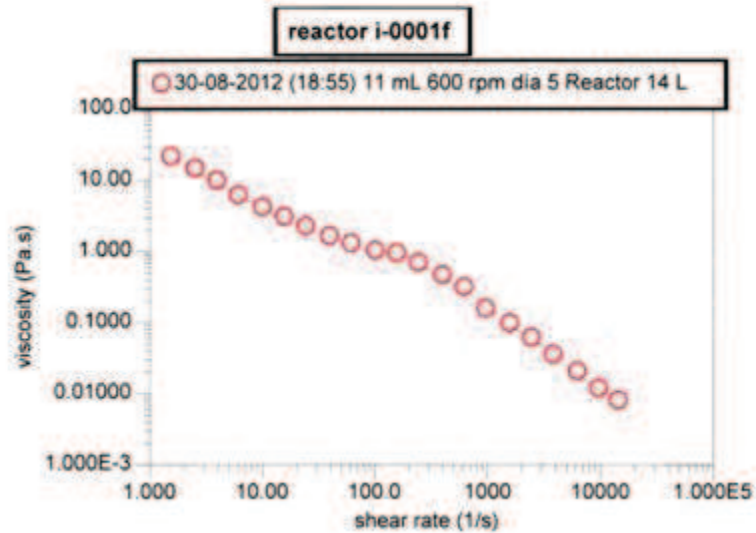




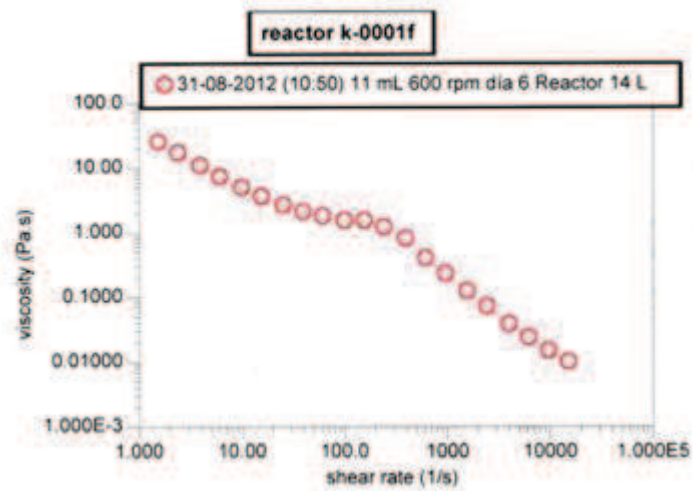
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc. Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño · Telf. 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas · Telf.: 2507 144 ext. 2272 · e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 3 (30-08-2012; 18:55; 11 mL; 600 rpm; día 5; Reactor 14 L)



Muestra 4 (31-08-2012; 10:50; 11 mL; 600 rpm; día 6; Reactor 14 L)

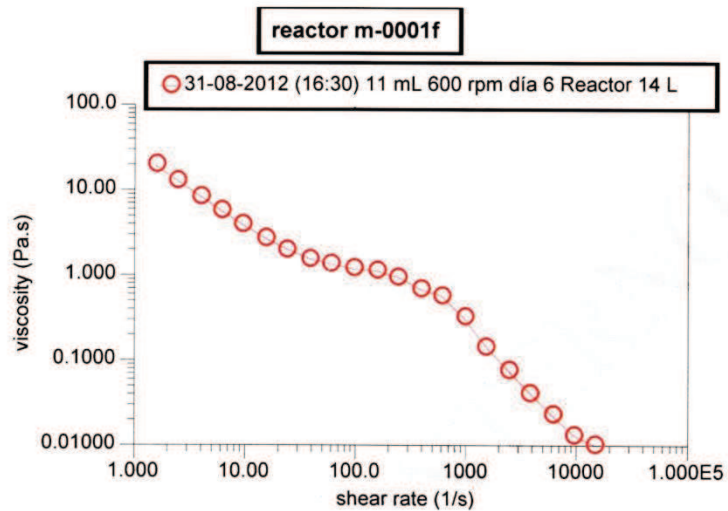




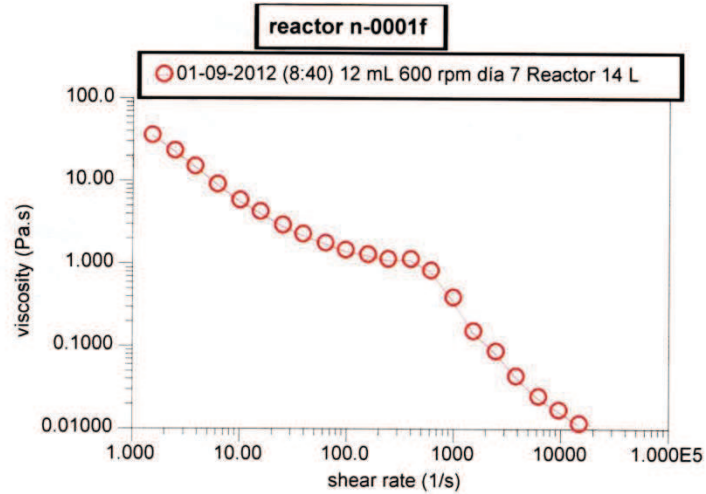
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma_paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth_venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 1 (31-08-2012; 16:30; 11 mL; 600 rpm; día 6; Reactor 14 L)

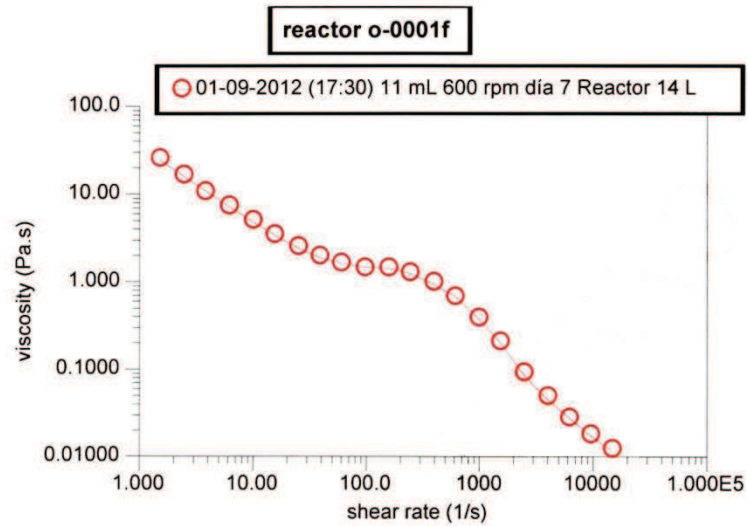


Muestra 2 (01-09-2012; 8:40; 12 mL; 600 rpm; día 7; Reactor 14 L)

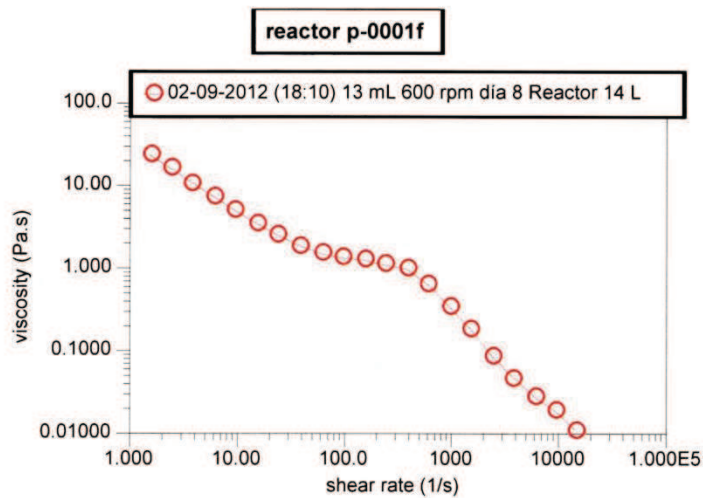




ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: Irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador

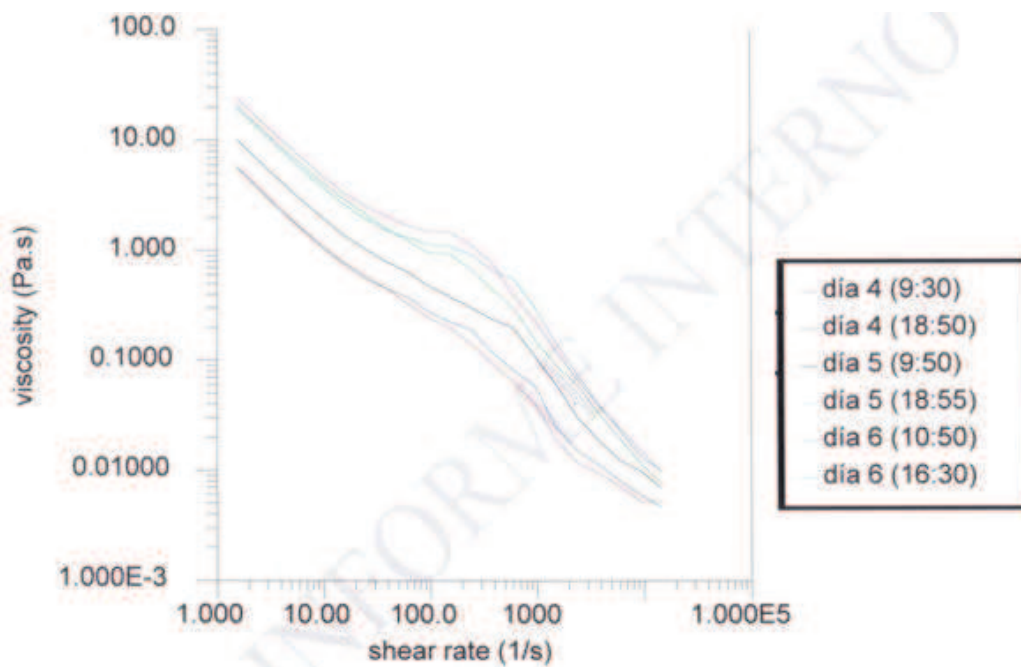
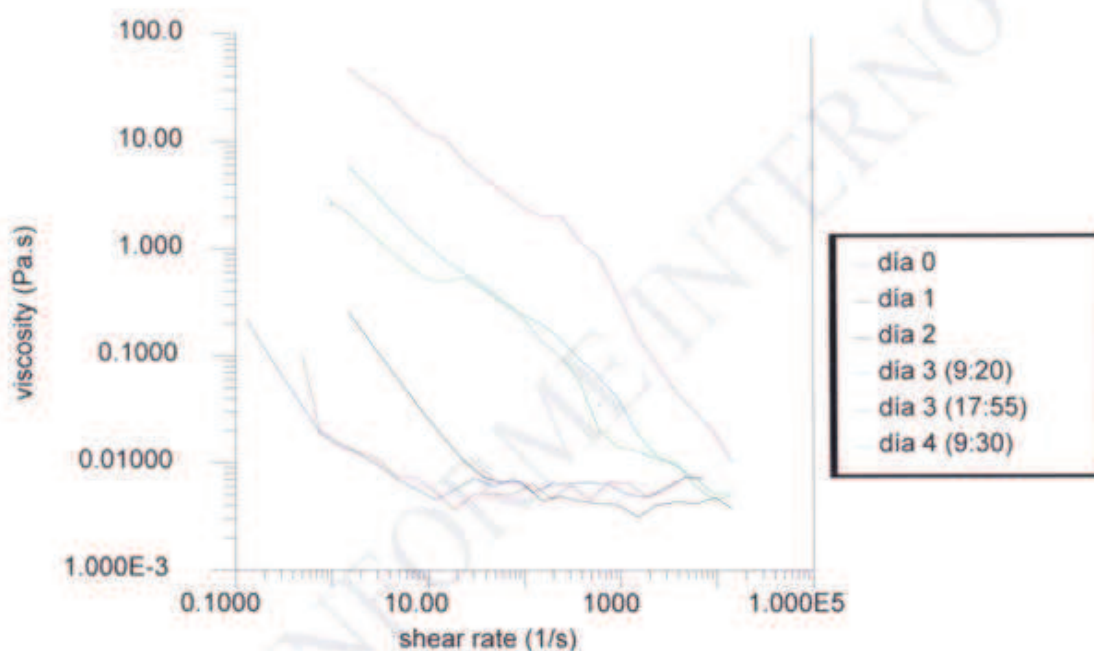


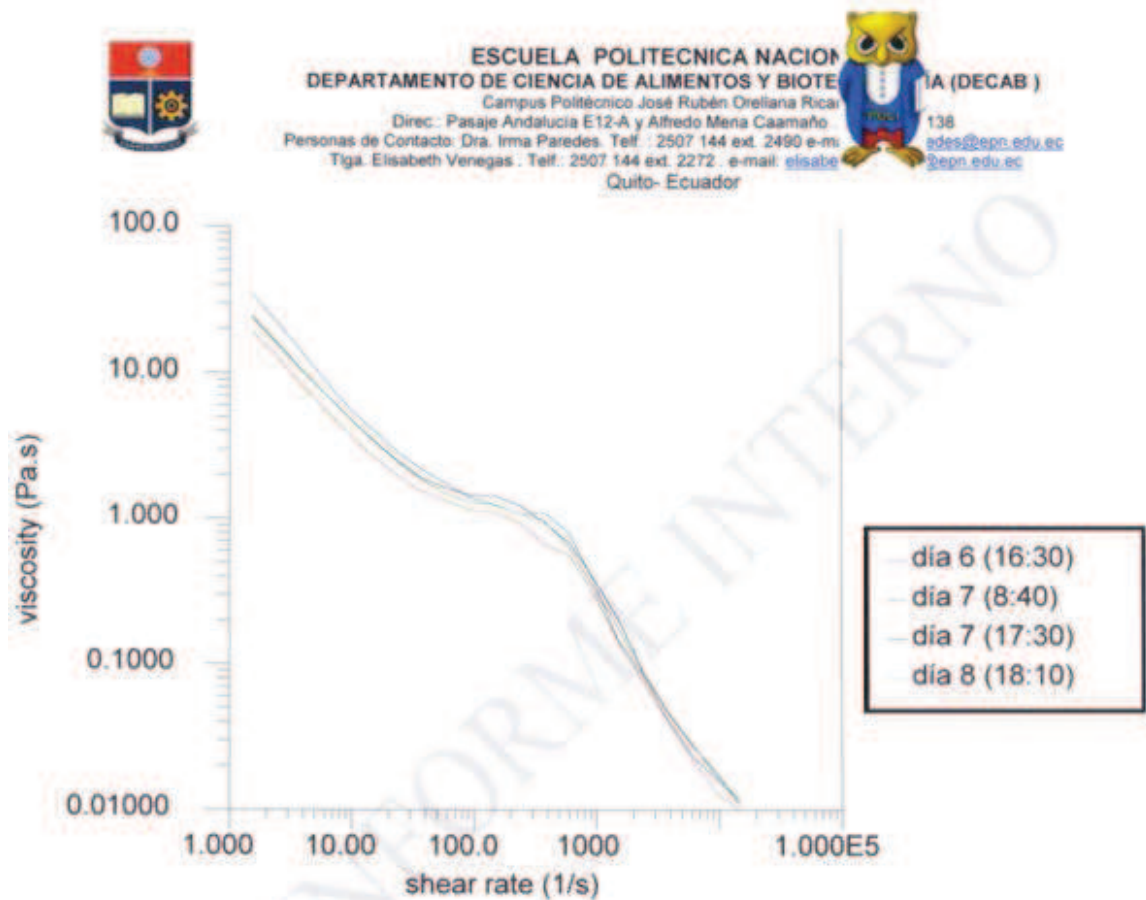
Muestra 4 (02-09-2012; 18:10; 13 mL; 600 rpm; día 8; Reactor 14 L)





ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Rical
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2480 e-mail: irp@epn.edu.ec
 Tigo: Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



**COMENTARIOS:**

Se corrió de 0.01 rad/s ya que el sistema no podía estabilizar las condiciones a velocidades muy bajas y hasta 150 rad/s debido a que la muestra se esparcía luego de esta velocidad.

PROFESIONAL RESPONSABLE
 DEL ANÁLISIS O TRABAJO

Elena Coyago

Ing. Elena Coyago

QUEJAS Y SUGERENCIAS

El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en forma escrita hasta 8 días después de la entrega del informe. En el DECAB se mantiene un registro de quejas y sugerencias con el fin de mejorar el Servicio al Cliente.

El laboratorio no se responsabiliza por el muestreo realizado antes de la entrega de las muestras al DECAB, pero si se responsabiliza de las muestras recibidas, tal como se las entrega.

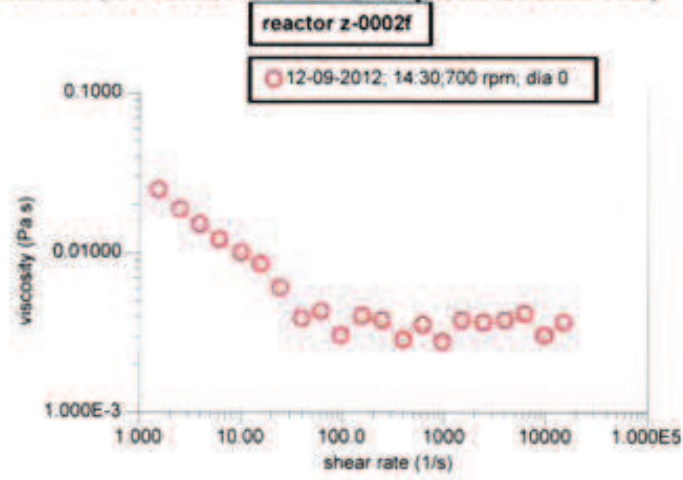
RESULTADOS DE LA REOLOGÍA DEL MEDIO A LO LARGO DEL PROCESO FERMENTATIVO REALIZADO EN EL REACTOR DE 14 LITROS A 700 RPM



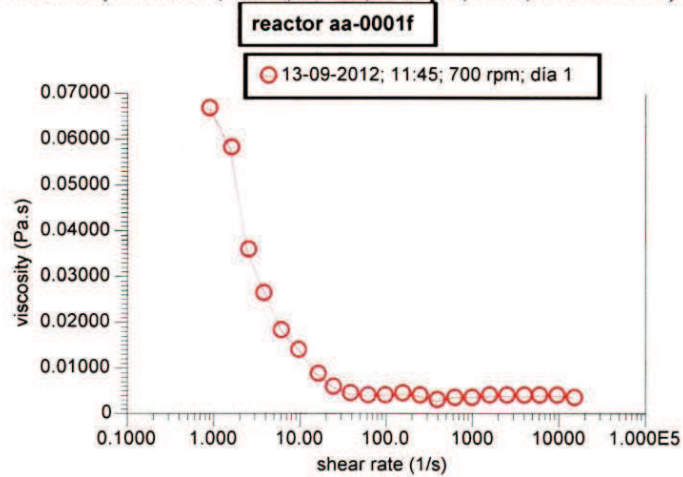
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf: 2507 144 ext: 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita: Elisabeth Venegas. Telf: 2507 144 ext: 2272. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 8 (12-09-2012; 14:30; 10 mL; 700 rpm; día 0; Reactor 14 L)



Muestra 9 (13-09-2012; 11:45; 10 mL; 700 rpm; día 1; Reactor 14 L)

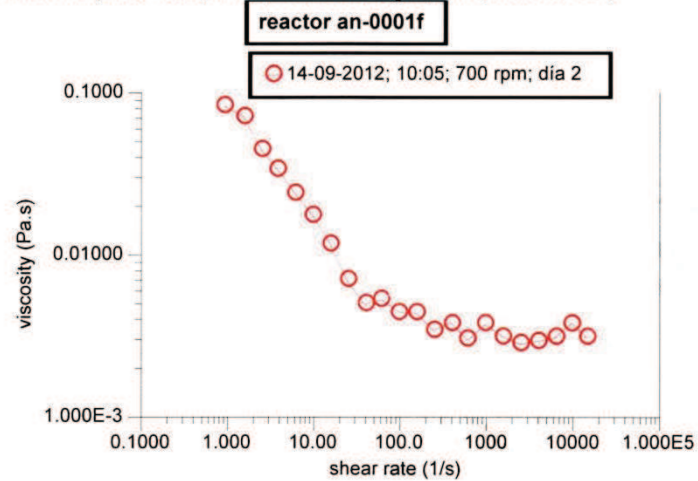




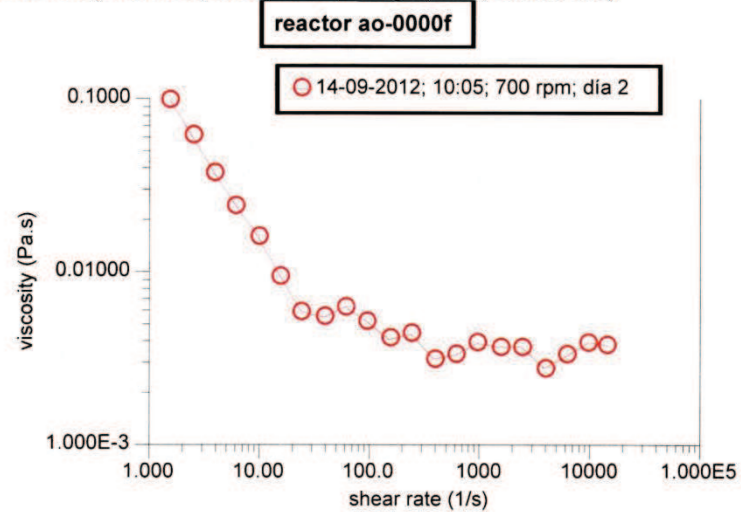
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño. Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272. e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 1 (14-09-2012; 10:05; 11 mL; 700 rpm; día 2; Reactor 14L)



Muestra 2 (14-09-2012; 19:30; 10 mL; 700 rpm; día 2; Reactor 14L)

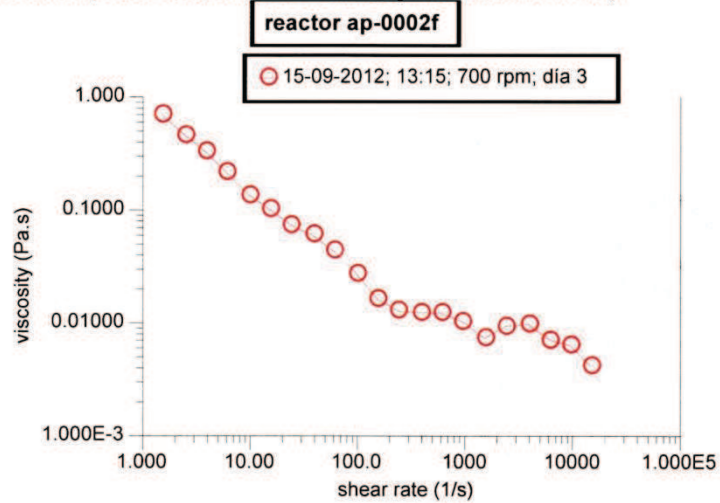




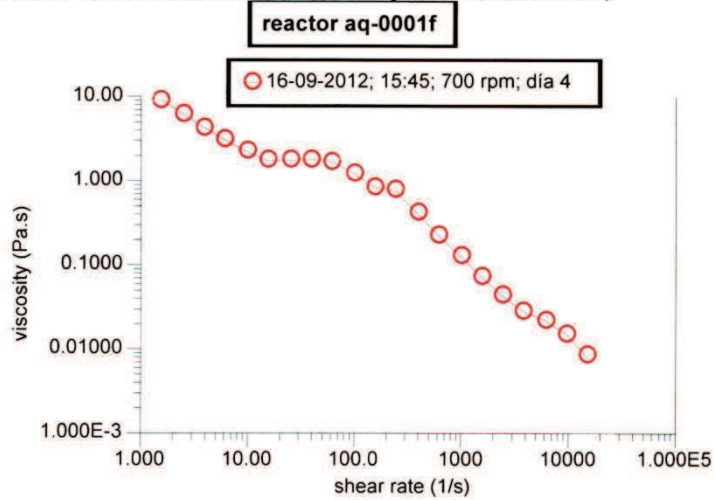
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 3 (15-09-2012; 13:15; 11 mL; 700 rpm; día 3; Reactor 14L)



Muestra 4 (16-09-2012; 15:45; 10 mL; 700 rpm; día 3; Reactor 14L)

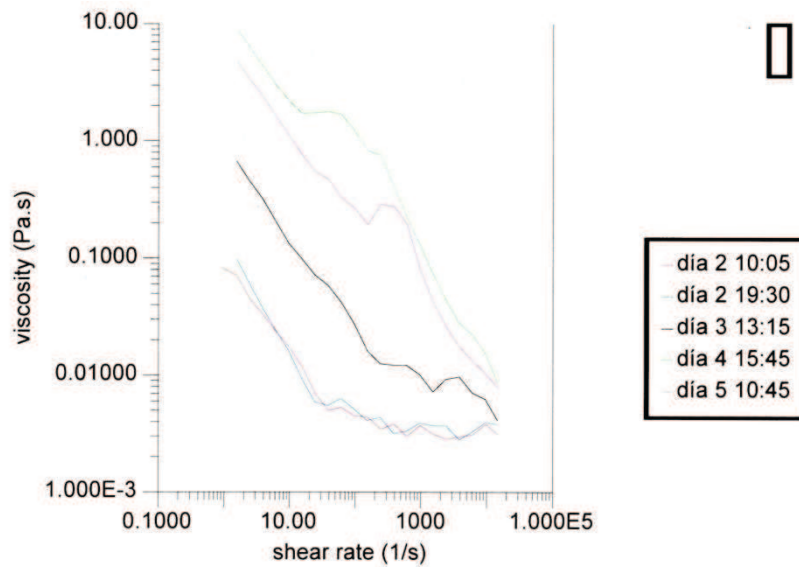
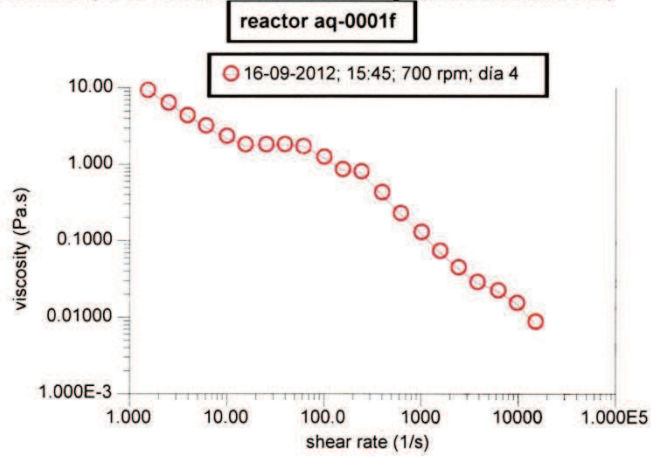




ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 5 (17-09-2012; 10:45; 10 mL; 700 rpm; día 5; Reactor 14L)

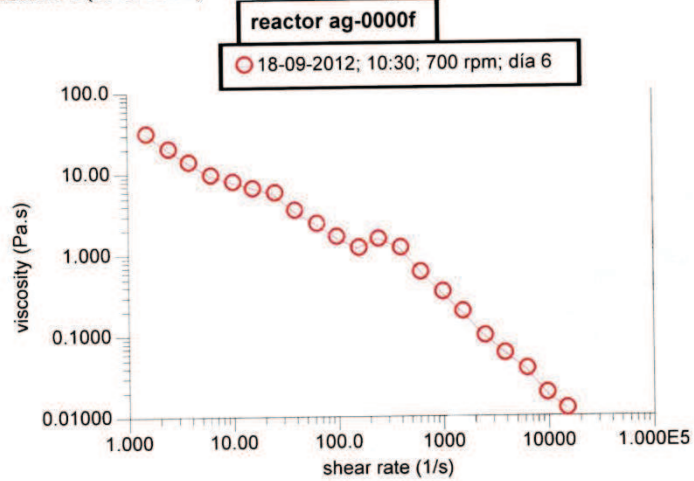




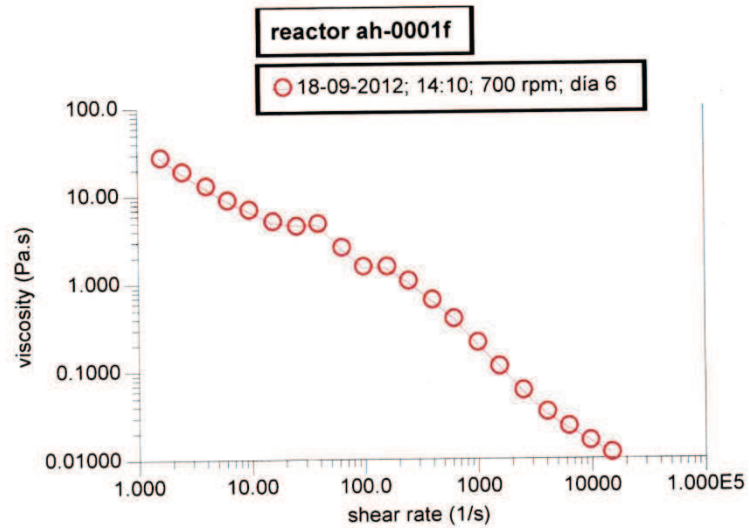
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 1 (18-09-2012; 10:30; 10 mL; 700 rpm; día 6; Reactor 14L)



Muestra 2 (18-09-2012; 14:10; 11 mL; 700 rpm; día 6; Reactor 14L)

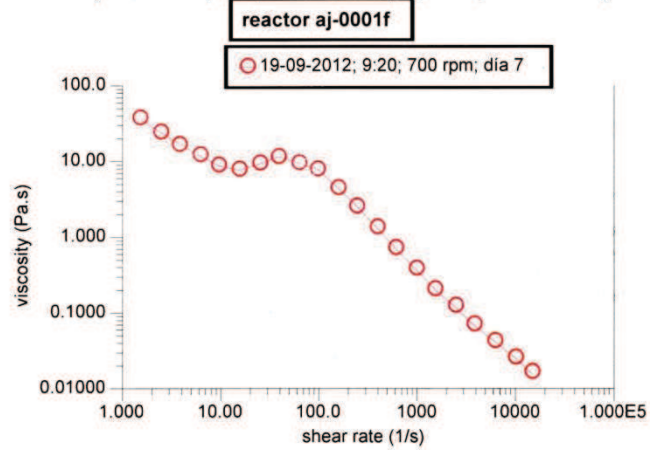




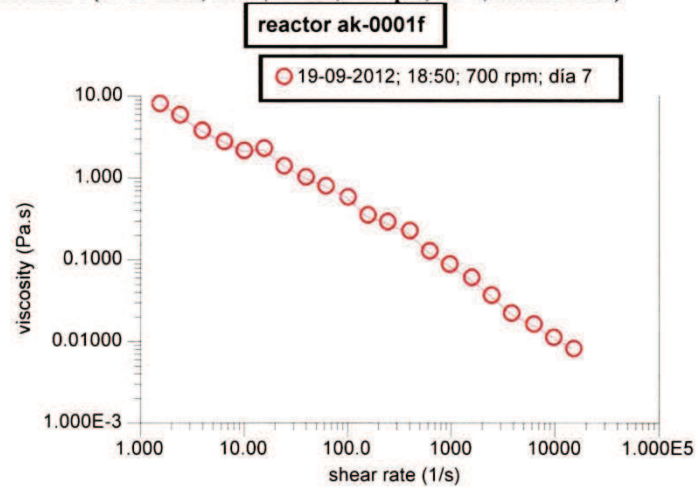
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes, Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 3 (19-09-2012; 9:20; 11 mL; 700 rpm; día 7; Reactor 14L)



Muestra 4 (19-09-2012; 18:50; 11 mL; 700 rpm; día 7; Reactor 14 L)

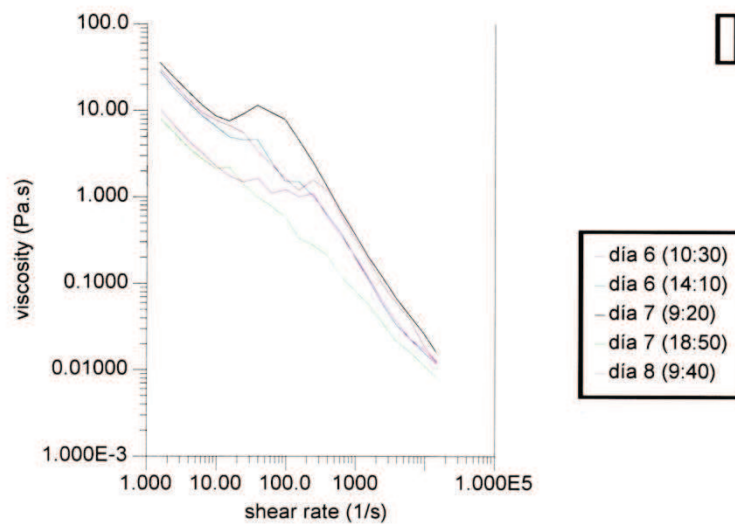
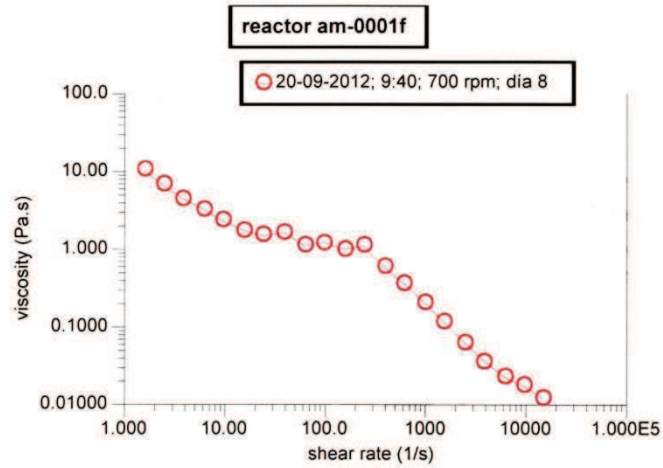




ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma_paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 5 (20-09-2012; 9:40; 11 mL; 700 rpm; día 8; Reactor 14L)





ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)

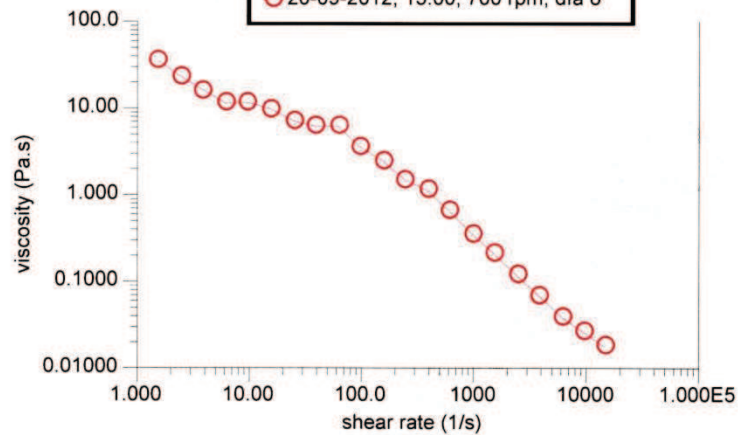
Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 1 (20-09-2012; 15:00; 11 mL; 700 rpm; día 8; Reactor 14L)

reactor as-0002f

○ 20-09-2012; 15:00; 700 rpm; día 8



COMENTARIOS:

Se corrió de 0.01 rad/s ya que el sistema no podía estabilizar las condiciones a velocidades muy bajas y hasta 150 rad/s debido a que la muestra se esparcía luego de esta velocidad.

**PROFESIONAL RESPONSABLE
 DEL ANÁLISIS O TRABAJO**

Elena Coyago

Ing. Elena Coyago

QUEJAS Y SUGERENCIAS

El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en forma escrita hasta 8 días después de la entrega del informe. En el DECAB se mantiene un registro de quejas y sugerencias con el fin de mejorar el Servicio al Cliente.

El laboratorio no se responsabiliza por el muestreo realizado antes de la entrega de las muestras al DECAB, pero si se responsabiliza de las muestras recibidas, tal como se las entrega.

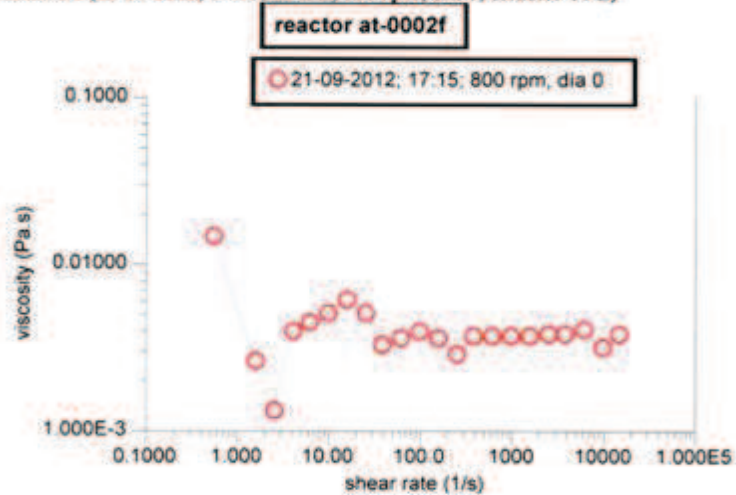
RESULTADOS DE LA REOLOGÍA DEL MEDIO A LO LARGO DEL PROCESO FERMENTATIVO REALIZADO EN EL REACTOR DE 14 LITROS A 800 RPM



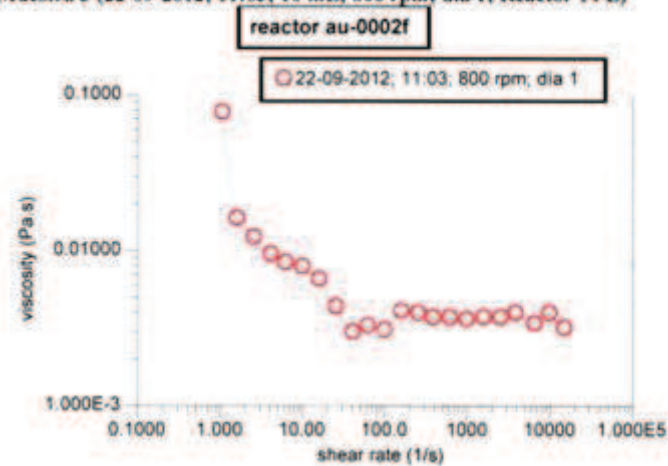
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mená Caamaño. Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272 e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 2 (21-09-2012; 17:15; 10 mL; 800 rpm; día 0; Reactor 14 L.)



Muestra 3 (22-09-2012; 11:03; 10 mL; 800 rpm; día 1; Reactor 14 L.)

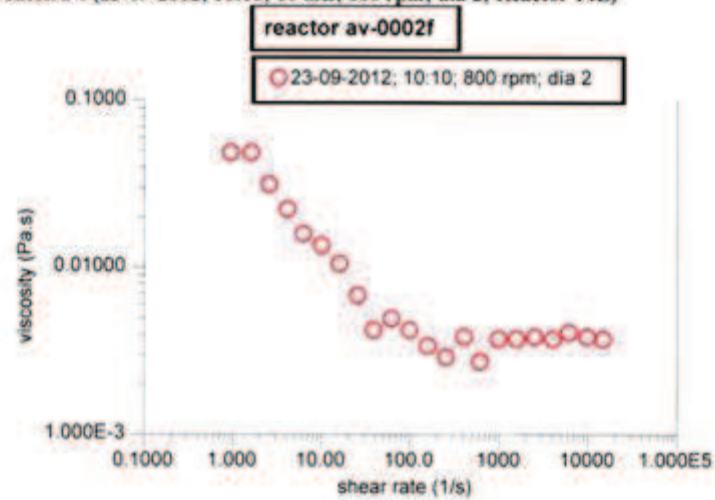




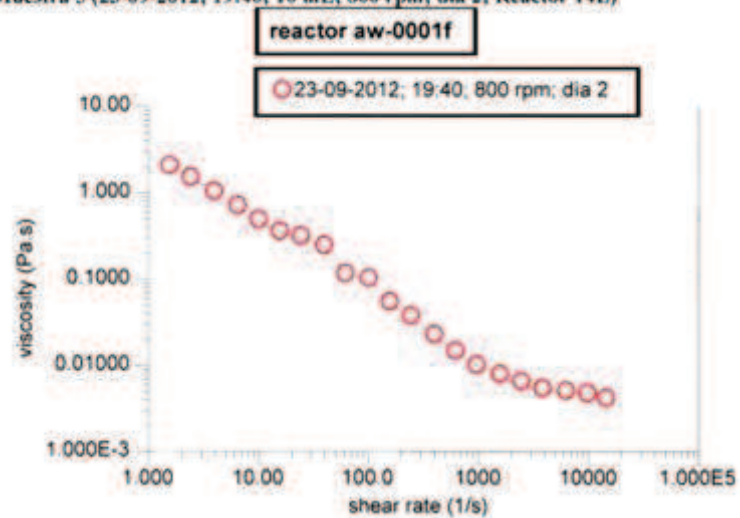
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc. Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño Telf: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes Telf: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita Elisabeth Venegas Telf: 2507 144 ext. 2272 e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 4 (23-09-2012; 10:10; 10 mL; 800 rpm; día 2; Reactor 14L)



Muestra 5 (23-09-2012; 19:40; 10 mL; 800 rpm; día 2; Reactor 14L)

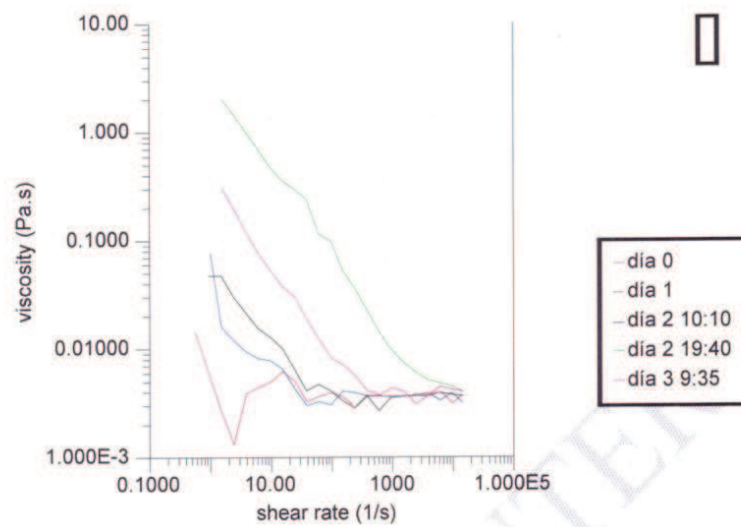
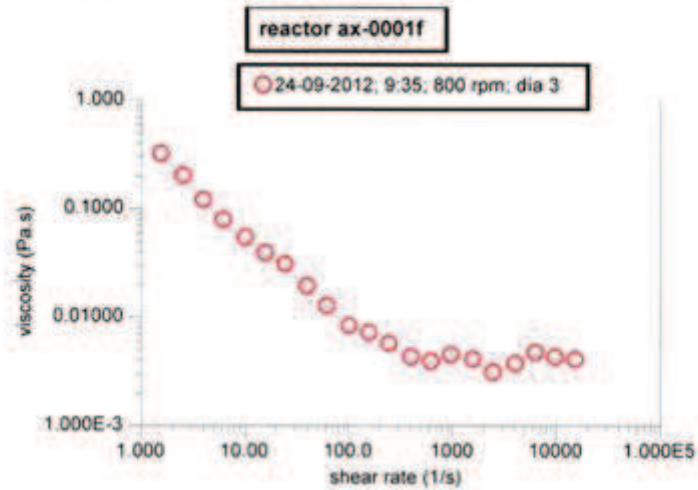




ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tita. Elisabeth Venegas. Telf.: 2507 144 ext. 2272 e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 6 (24-09-2012; 9:35; 12mL ; 800 rpm; día 3; Reactor 14L)





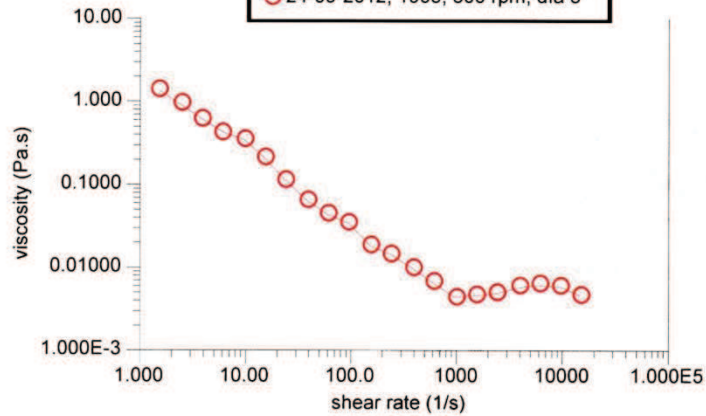
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 1 (24-09-2012 ; 19:05; 10 mL; 800 rpm; día 3; Reactor 14 L

micro a-0001f

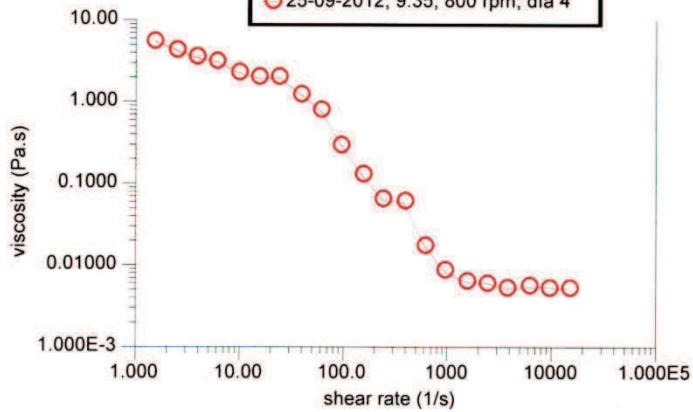
○ 24-09-2012; 1905; 800 rpm; día 3



Muestra 2 (25-09-2012; 9:35; 11 mL; 800 rpm; día 4; Reactor 14L)

micro b-0000f

○ 25-09-2012; 9:35; 800 rpm; día 4

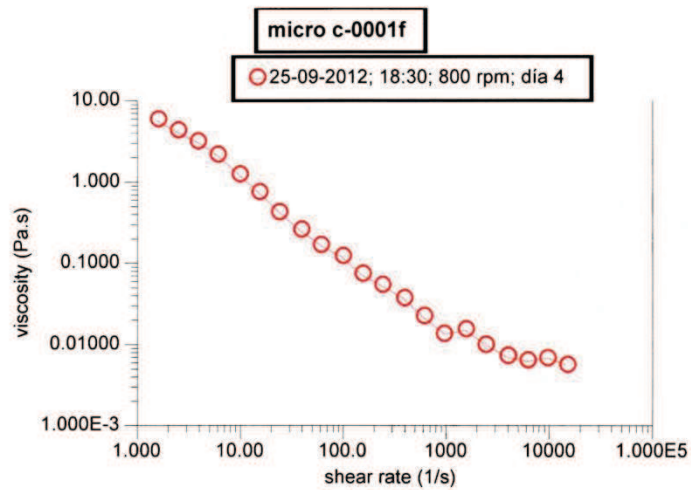




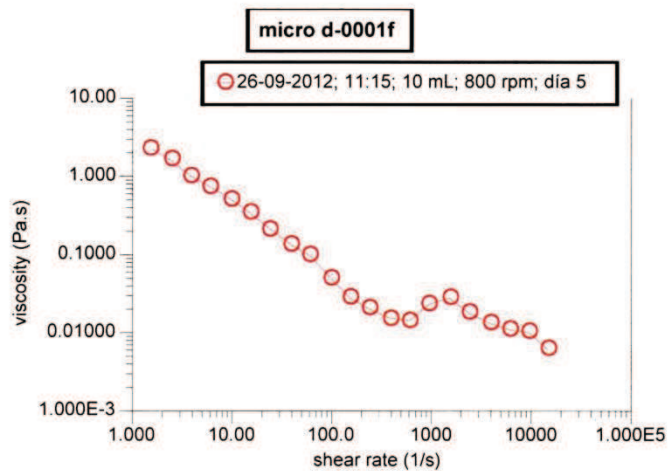
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 3 (25-09-2012; 18:30; 10 mL; 800 rpm; día 4; Reactor 14L)



Muestra 4 (26-09-2012; 11:15; 10 mL; 800 rpm; día 5; Reactor 14L)

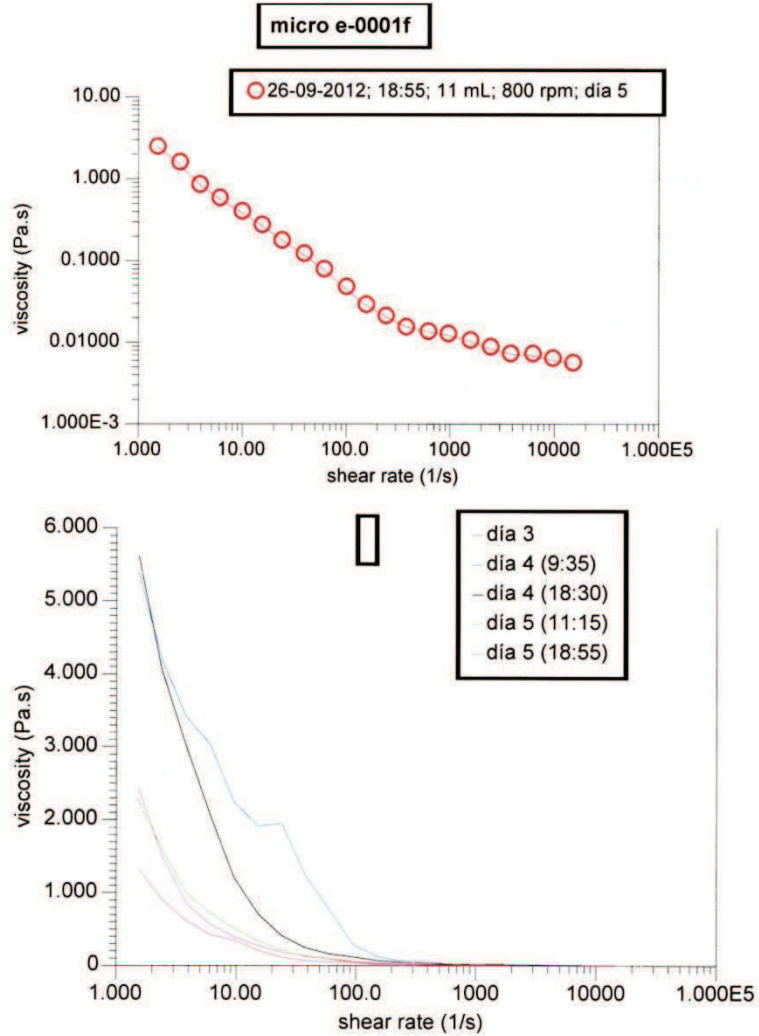




ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 5 (26-09-2012; 18:55; 11mL; 800 rpm; día 5; Reactor 14 L)

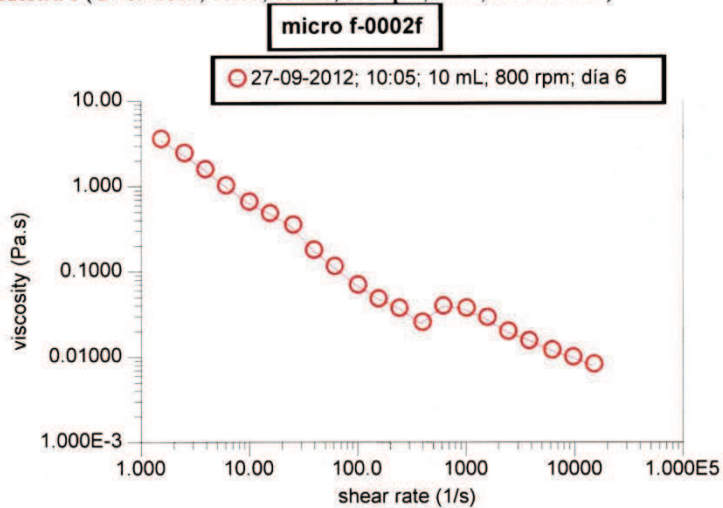




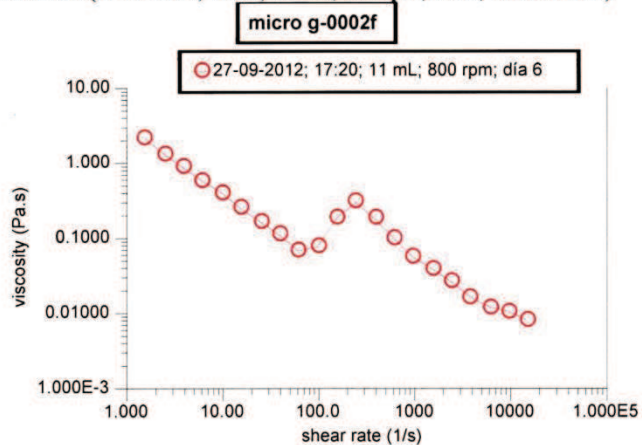
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 1 (27-09-2012; 10:05; 10 mL; 800 rpm; día 6; Reactor 14L)



Muestra 2 (27-09-2012; 17:20; 11 mL; 800 rpm; día 6; Reactor 14L)

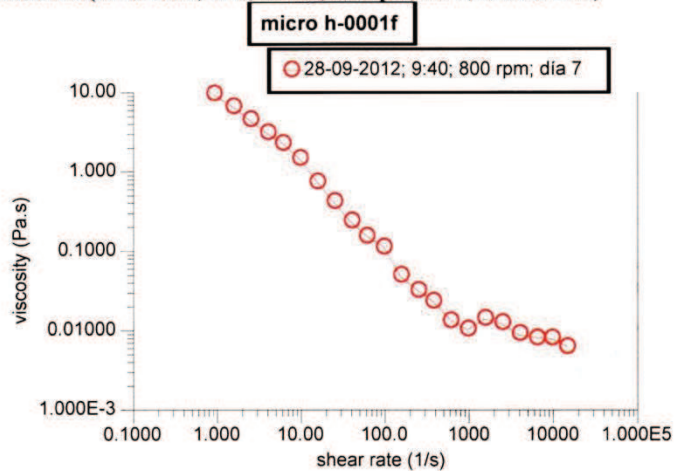




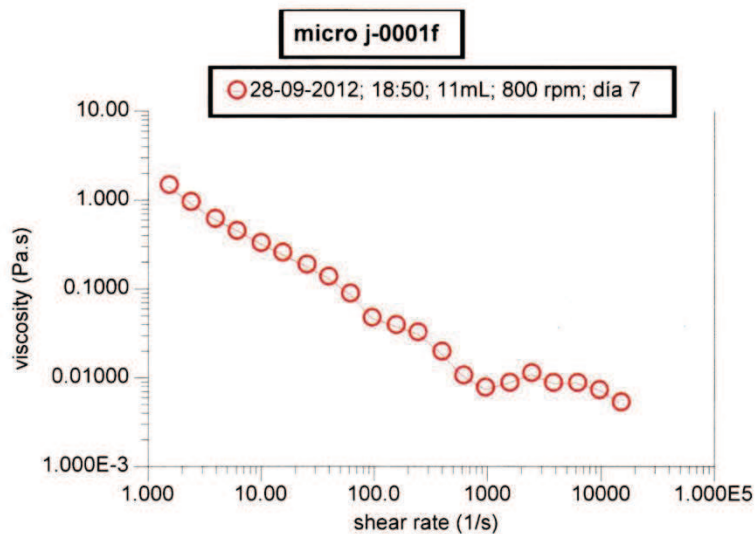
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 3 (28-09-2012; 9:40; 11 mL; 800 rpm; día 7; Reactor 14L)



Muestra 4 (28-09-2012; 18:50; 11 mL; 800 rpm; día 7; Reactor 14L)

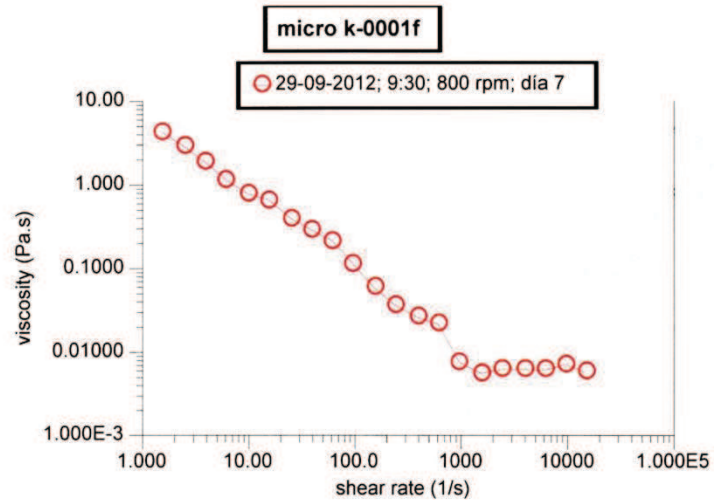




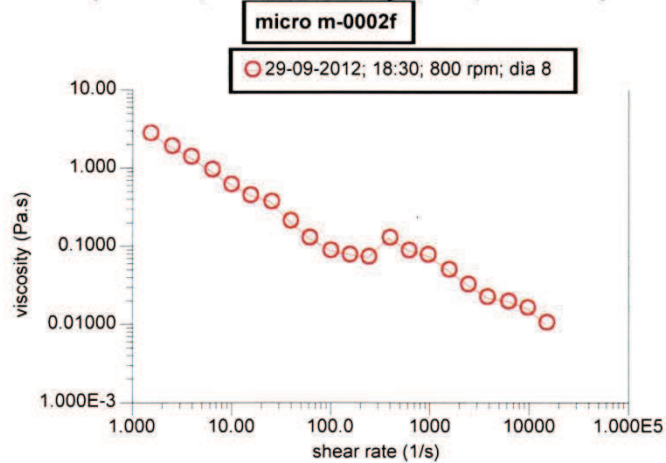
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tigo. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



Muestra 5 (29-09-2012; 9:30; 13 mL; 800 rpm; día 8; Reactor 14L)

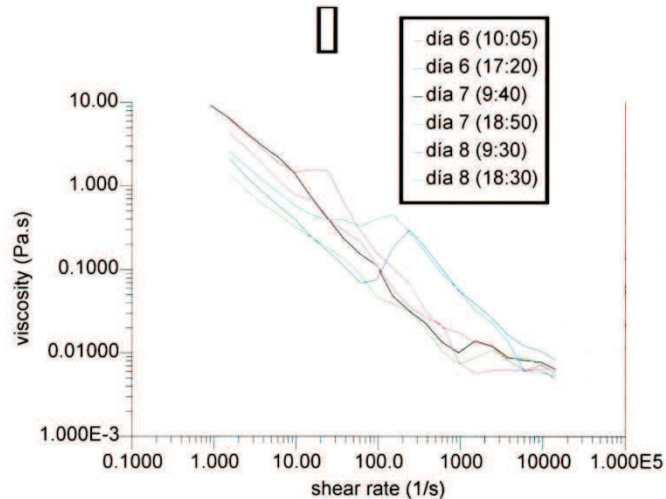


Muestra 6 (29-09-2012; 18:30; 11mL; 800 rpm; día 8; Reactor 14L)





ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



COMENTARIOS:

Se corrió de 0.01 rad/s ya que el sistema no podía estabilizar las condiciones a velocidades muy bajas y hasta 150 rad/s debido a que la muestra se esparcía luego de esta velocidad.

**PROFESIONAL RESPONSABLE
 DEL ANÁLISIS O TRABAJO**

Elena Coyago

Ing. Elena Coyago

QUEJAS Y SUGERENCIAS

El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en forma escrita hasta 8 días después de la entrega del informe. En el DECAB se mantiene un registro de quejas y sugerencias con el fin de mejorar el Servicio al Cliente.

El laboratorio no se responsabiliza por el muestreo realizado antes de la entrega de las muestras al DECAB, pero sí se responsabiliza de las muestras recibidas, tal como se las entrega.

ANEXO III

CURVAS PARA LA OBTENCIÓN DEL ÍNDICE DE COMPORTAMIENTO DEL FLUIDO PARA EL REACTOR DE 2 LITROS A 600 RPM

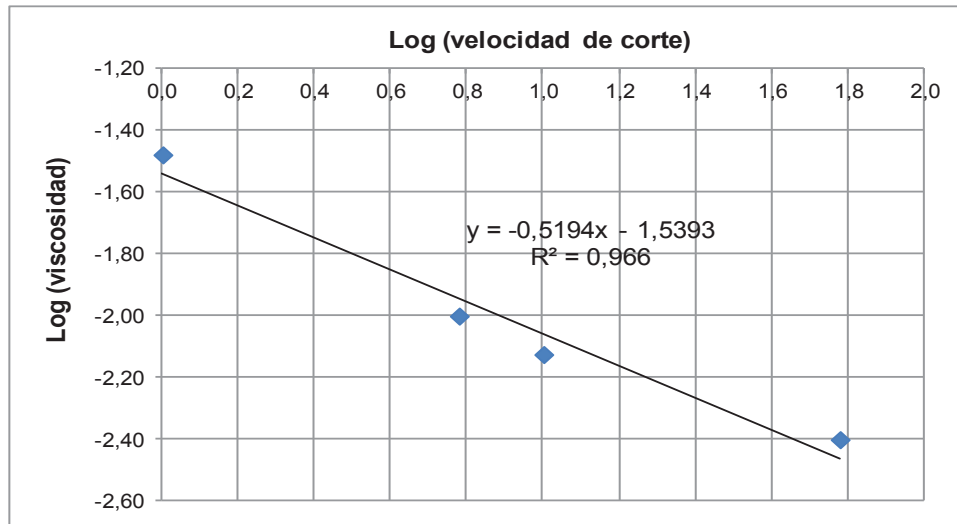


Figura AIII.1. Log (viscosidad) versus log (velocidad de corte), cuya pendiente es (n-1), para el inicio de la fermentación a tiempo 0, en el reactor de 2 litros a 600 rpm, con una concentración de biomasa de 0,011 g/mL

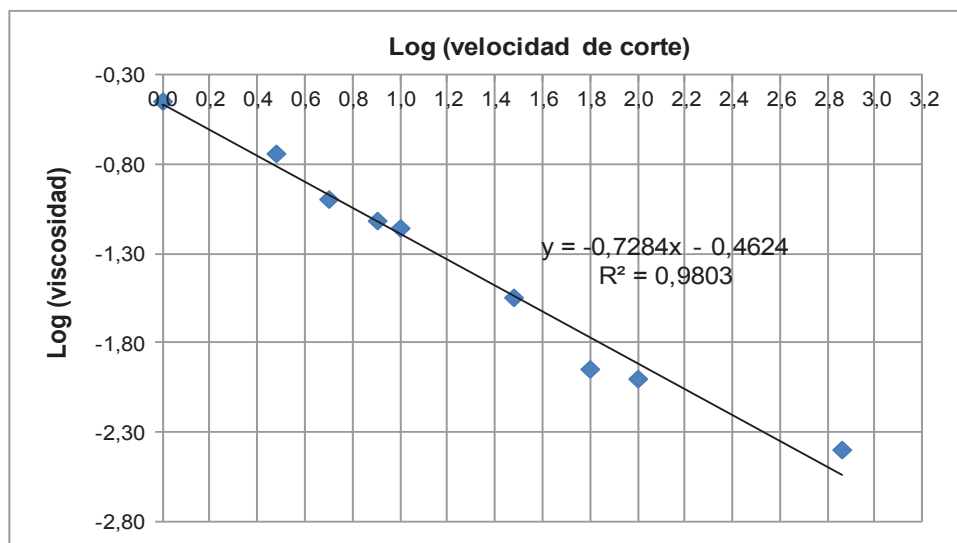


Figura AIII.2. Log (viscosidad) versus log (velocidad de corte), cuya pendiente es (n-1), para el día 2,66 en el reactor de 2 litros a 600 rpm, con una concentración de biomasa de 0,110 g/mL

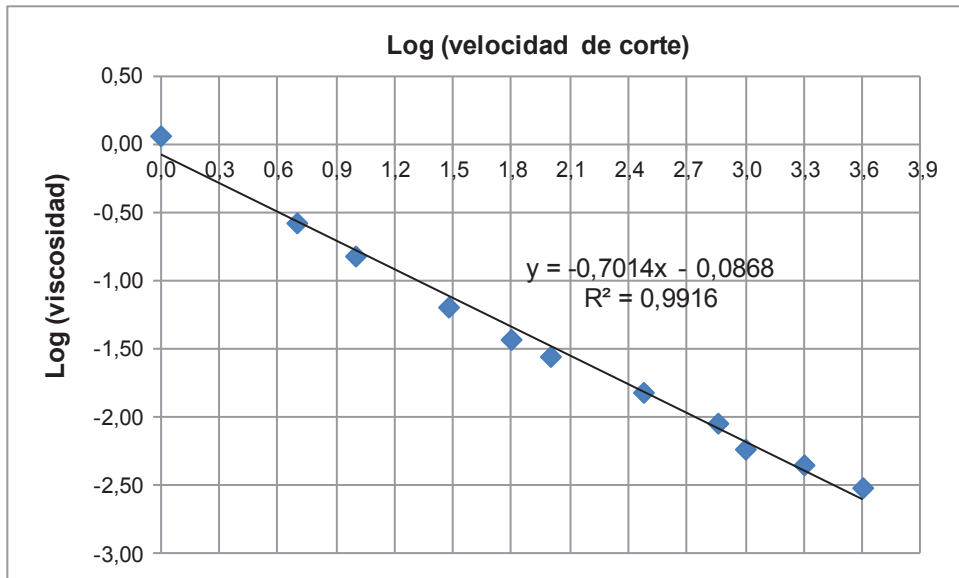


Figura AIII.3. Log (viscosidad) versus log (velocidad de corte), cuya pendiente es $(n-1)$, para el día 3 en el reactor de 2 litros a 600 rpm, con una concentración de biomasa de 0,154 g/mL

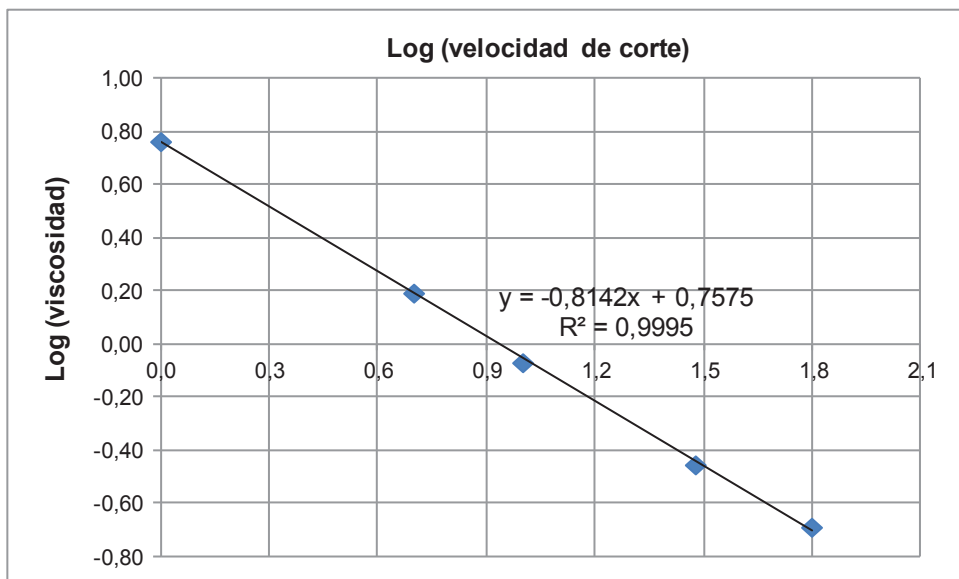


Figura AIII.4. Log (viscosidad) versus log (velocidad de corte), cuya pendiente es $(n-1)$, para el día 3,58 en el reactor de 2 litros a 600 rpm, con una concentración de biomasa de 0,232 g/mL

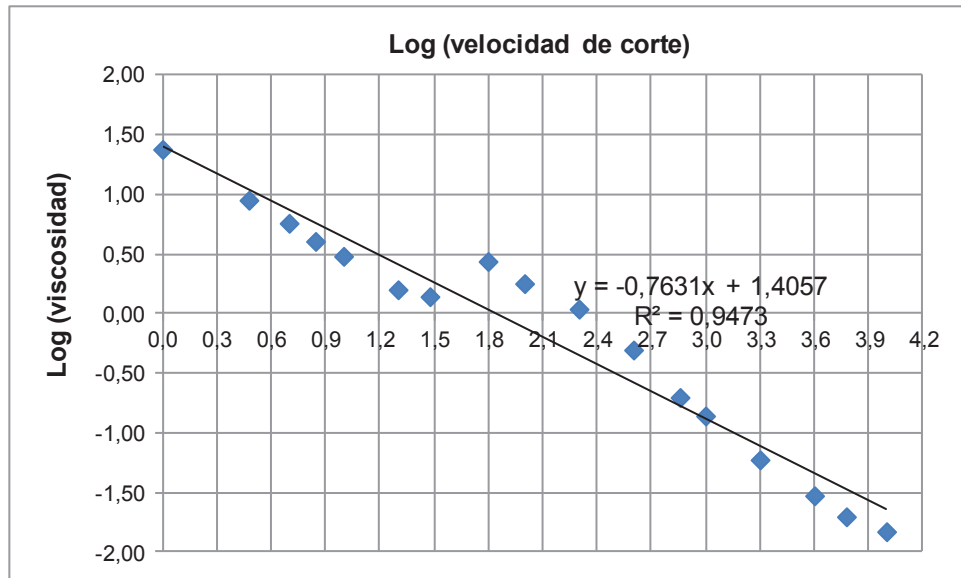


Figura AIII.5. Log (viscosidad) versus log (velocidad de corte), cuya pendiente es $(n-1)$, para el día 5 en el reactor de 2 litros a 600 rpm, con una concentración de biomasa de 0,309 g/mL

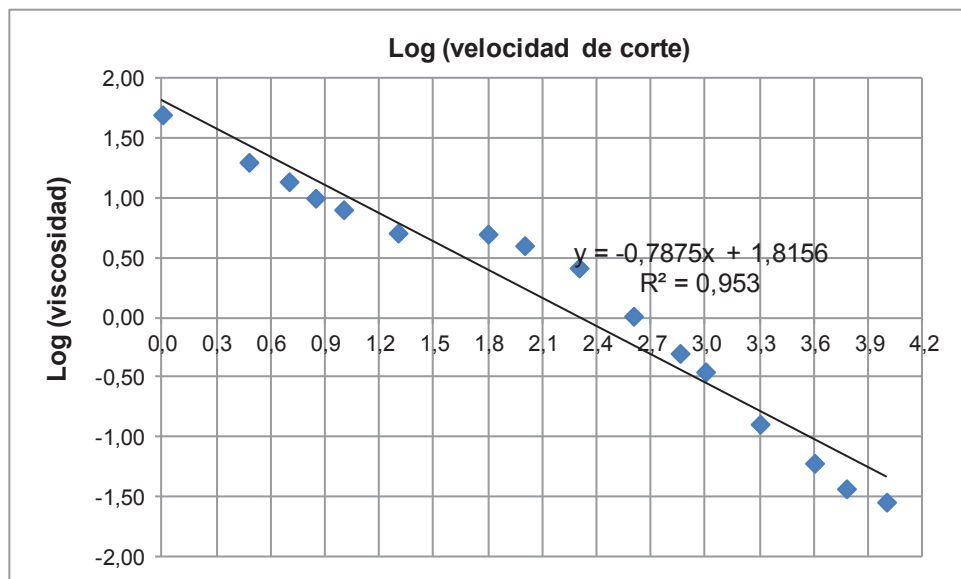


Figura AIII.6. Log (viscosidad) versus log (velocidad de corte), cuya pendiente es $(n-1)$, para el día 5,6 en el reactor de 2 litros a 600 rpm, con una concentración de biomasa de 0,313 g/mL

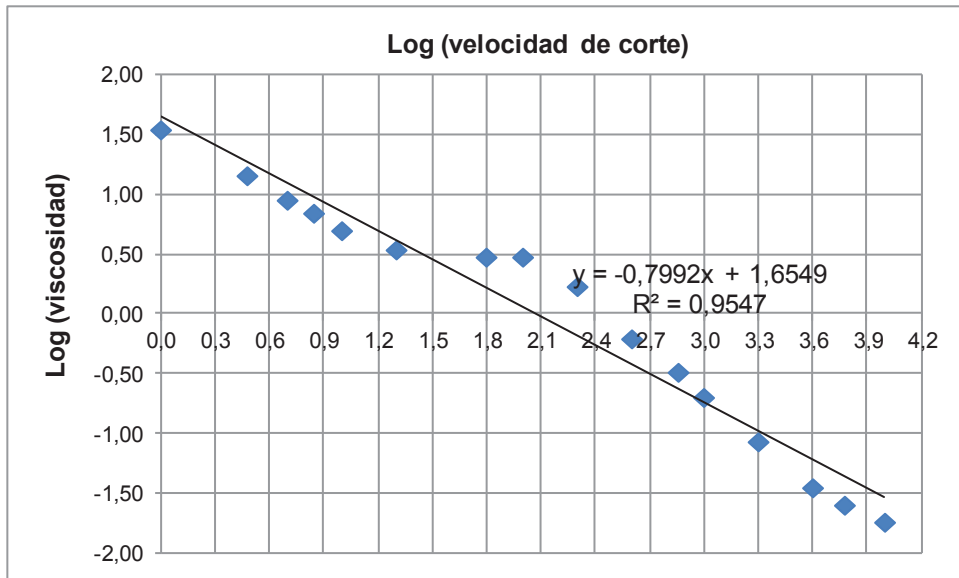


Figura AIII.7. Log (viscosidad) versus log (velocidad de corte), cuya pendiente es $(n-1)$, para el día 6 en el reactor de 2 litros a 600 rpm, con una concentración de biomasa de 0,318 g/mL

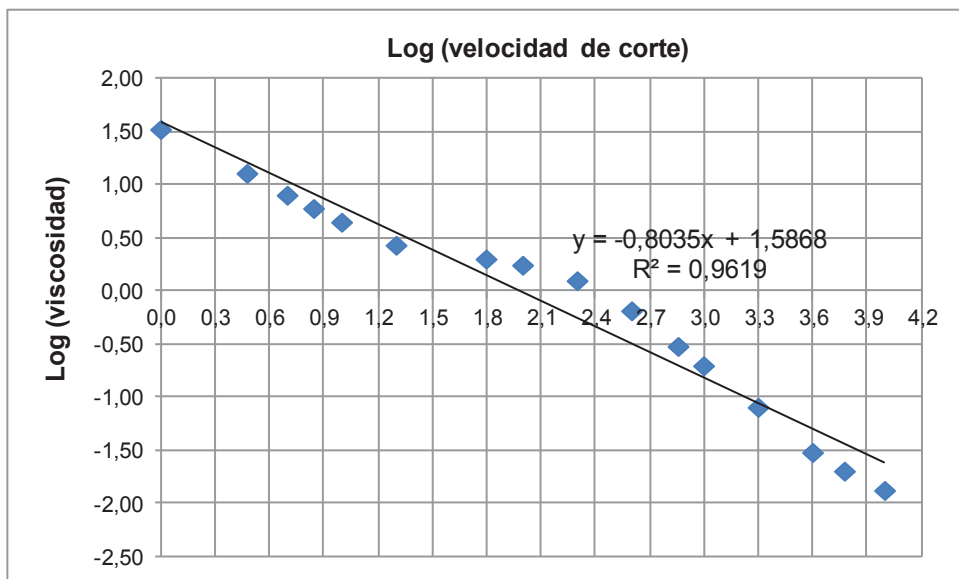


Figura AIII.8. Log (viscosidad) versus log (velocidad de corte), cuya pendiente es $(n-1)$, para el día 6,6 en el reactor de 2 litros a 600 rpm, con una concentración de biomasa de 0,323 g/mL

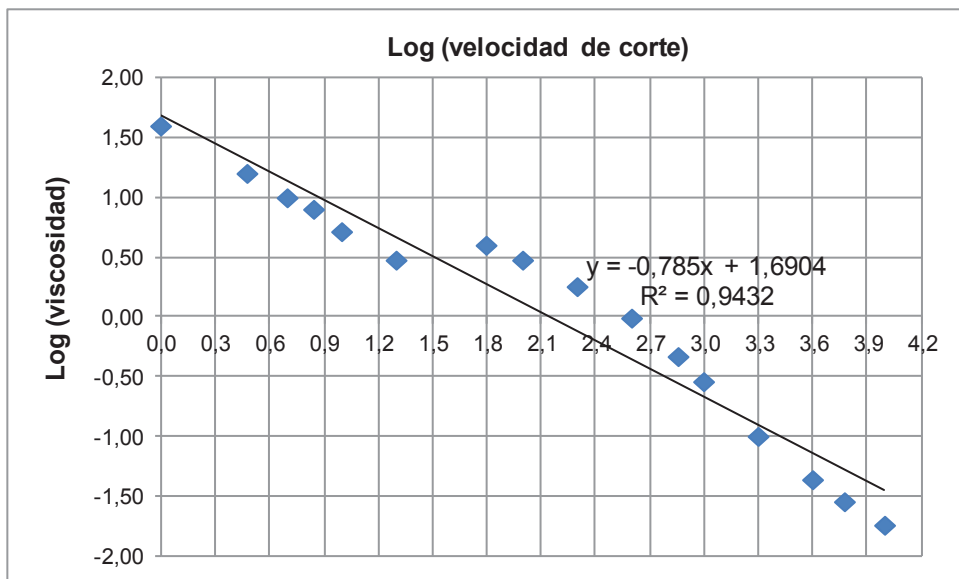


Figura AIII.9. Log (viscosidad) versus log (velocidad de corte), cuya pendiente es $(n-1)$, para el día 8,5 en el reactor de 2 litros a 600 rpm, con una concentración de biomasa de 0,319 g/mL

ANEXO IV

AZÚCARES TOTALES Y REDUCTORES PARA CADA VELOCIDAD DE AGITACIÓN Y ESCALA

Tabla AIV. 1. Azúcares totales y reductores al inicio de la fermentación para 500, 600, 700 y 800 rpm en el reactor de 2 litros y para el término de la fermentación a 500 rpm



ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: Irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS O TRABAJO

ORDEN: DC-OTI0105-2012

IDENTIFICACIÓN DE LA(S) MUESTRA(S) Y SERVICIO (S)

| Descripción de las muestras | Código de las muestras |
|---|------------------------|
| Sustrato de biomasa de A.niger Fresco | DC-OTI0105-2012 |
| Sustrato de biomasa de A.niger Fermentado | DC-OTI0105-2012 |

RESULTADOS

| Muestras | Analito | Unidades | Resultados | Método |
|---|------------------------------------|----------|------------|--------------|
| Sustrato de biomasa de A.niger Fresco | Azúcares totales (como glucosa) | g/100 ml | 16.7 | *Miller, G.L |
| | Azúcares reductores (como glucosa) | | 0.24 | |
| Sustrato de biomasa de A.niger Fermentado | Azúcares totales (como glucosa) | g/100 ml | 13.6 | *Miller, G.L |
| | Azúcares reductores (como glucosa) | | 11.3 | |

*Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar Analytic Chem,31; 416-429

COMENTARIOS:
Ninguno

PROFESIONAL RESPONSABLE
DEL ANÁLISIS

Dra. Susana Fuertes

Tabla AIV. 2. Azúcares totales y reductores al término de la fermentación a 600 rpm en el reactor de 2 litros



ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS O TRABAJO

ORDEN: DC-OTI0099-2012

IDENTIFICACIÓN DE LA(S) MUESTRA(S) Y SERVICIO (S)

| Descripción de las muestras | Código de las muestras |
|---|------------------------|
| Sustrato de fermentación de <i>Aspergillus niger</i> 27/02/2012 | DC-OTI0099-2012 |
| Sustrato de fermentación de <i>Aspergillus niger</i> 30/02/2012 | DC-OTI0099-2012 |

RESULTADOS

| Muestras | Analito | Unidades | Resultados | Método |
|---|------------------------------------|----------|------------|--------------|
| Sustrato de fermentación de <i>Aspergillus niger</i> 27/02/2012 | Azúcares totales (como glucosa) | g/100 ml | 11.0 | *Miller, G.L |
| | Azúcares reductores (como glucosa) | | 10.0 | |
| Sustrato de fermentación de <i>Aspergillus niger</i> 30/02/2012 | Azúcares totales (como glucosa) | g/100 ml | 10.9 | *Miller, G.L |
| | Azúcares reductores (como glucosa) | | 10.5 | |

*Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar Analytic Chem,31; 416-429

COMENTARIOS:

Ninguno

PROFESIONAL RESPONSABLE
DEL ANÁLISIS

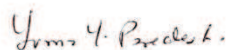
Dra. Susana Fuertes

CERTIFICACIÓN

Certifico que a petición de la Srta. Gabriela Pérez-Tesista de Ingeniería Química, que los Informes con Órdenes de Trabajo corresponden a:

DC-OTI0099-2012 corresponden a los dos sustratos fermentados de 600 rpm

DC-OTI0105-2012 corresponden a 500 rpm.



Dra. Irma Paredes L

ATENCIÓN AL CLIENTE Y

RECEPCIÓN DE MUESTRAS

Figura AIV. 1. Certificación de resultados

Tabla AIV. 3. Azúcares totales y reductores al término de la fermentación a 700 y 800 rpm en el reactor de 2 litros



ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)

Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: Irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS O TRABAJO

ORDEN: DC-OTI0122-2012

IDENTIFICACIÓN DE LA(S) MUESTRA(S) Y SERVICIO (S)

| Descripción de las muestras | Código de las muestras |
|-----------------------------|------------------------|
| Sustrato fermentado 700 rpm | DC-OTI0122-2012 |
| Sustrato fermentado 800 rpm | DC-OTI0122-2012 |

RESULTADOS

| Muestras | Analito | Unidades | Resultados | Método |
|-----------------------------|------------------------------------|----------|------------|--------------|
| Sustrato fermentado 700 rpm | Azúcares totales (como glucosa) | g/100 ml | 11.97 | *Miller, G.L |
| | Azúcares reductores (como glucosa) | | 11.01 | |
| Sustrato fermentado 800 rpm | Azúcares totales (como glucosa) | g/100 ml | 12.18 | *Miller, G.L |
| | Azúcares reductores (como glucosa) | | 10.81 | |

*Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar Analytic Chem,31; 416-429

COMENTARIOS:

Ninguno

**PROFESIONAL RESPONSABLE
 DEL ANÁLISIS**

 Dra. Susana Fuertes

QUEJAS Y SUGERENCIAS

El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en forma escrita hasta 8 días después de la entrega del informe. En el DECAB se mantiene un registro de quejas y sugerencias con el fin de mejorar el Servicio al Cliente.

Tabla AIV. 4. Azúcares totales y reductores al inicio y término de la fermentación a 500 rpm en el reactor de 14 litros



ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: Irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS O TRABAJO

ORDEN: DC-OTI0151-2012

IDENTIFICACIÓN DE LA(S) MUESTRA(S) Y SERVICIO (S)

| Descripción de las muestras | Código de las muestras |
|--|------------------------|
| Sustrato fresco de 500 rpm reactor de 14 L. | DC-OTI0151-2012 |
| Sustrato fermentado de 500 rpm reactor de 14 L . | DC-OTI0151-2012 |

RESULTADOS

| Muestras | Analito | Unidades | Resultados | Método |
|---|------------------------------------|----------|------------|--------------|
| Sustrato fresco 500 rpm reactor de 14 L . | Azúcares totales (como glucosa) | g/100 ml | 13.92 | *Miller, G.L |
| | Azúcares reductores (como glucosa) | | 0.48 | |
| Sustrato fermentado 500 rpm reactor de 14 L . | Azúcares totales (como glucosa) | g/100 ml | 11.30 | *Miller, G.L |
| | Azúcares reductores (como glucosa) | | 11.24 | |

*Use of dinitralsalicylic acid reagent for determination of reducing sugar Analytic Chem,31; 416-429

COMENTARIOS:

Ninguno

PROFESIONAL RESPONSABLE
 DEL ANÁLISIS

 Dra. Susana Fuertes

QUEJAS Y SUGERENCIAS

El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en

Tabla AIV. 5. Azúcares totales y reductores al inicio y término de la fermentación a 600 rpm en el reactor de 14 litros



ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: Irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS O TRABAJO

ORDEN: DC-OTI0142-2012

IDENTIFICACIÓN DE LA(S) MUESTRA(S) Y SERVICIO (S)

| Descripción de las muestras | Código de las muestras |
|---|------------------------|
| Sustrato fresco de 600 rpm reactor de 14 L2. | DC-OTI0142-2012 |
| Sustrato fermentado de 600 rpm reactor de 14 L 6. | DC-OTI0142-2012 |

RESULTADOS

| Muestras | Analito | Unidades | Resultados | Método |
|--|---------------------------------------|----------|------------|--------------|
| Sustrato fresco 600 rpm reactor de 14 L 2. | Azúcares totales (como glucosa) | g/100 ml | 16.9 | *Miller, G.L |
| | Azúcares reductores (como glucosa) | | 0.3 | |
| Sustrato fermentado 600 rpm reactor de 14 L 6. | Azúcares totales (como glucosa) | g/100 ml | 17.4 | *Miller, G.L |
| | Azúcares reductores (como glucosa) | | 16.7 | |

*Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar Analytic Chem,31; 416-429

COMENTARIOS:
Ninguno

PROFESIONAL RESPONSABLE
DEL ANÁLISIS

Dra. Susana Fuertes

QUEJAS Y SUGERENCIAS

El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en

Tabla AIV. 6. Azúcares totales y reductores al inicio y término de la fermentación a 700 rpm en el reactor de 14 litros



ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)

Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: Irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS O TRABAJO

ORDEN: DC-OTI0157-2012

IDENTIFICACIÓN DE LA(S) MUESTRA(S) Y SERVICIO (S)

| Descripción de las muestras | Código de las muestras |
|--|------------------------|
| Sustrato fresco de 700 rpm reactor de 14 L. | DC-OTI0157-2012 |
| Sustrato fermentado de 700 rpm reactor de 14 L . | DC-OTI0157-2012 |

RESULTADOS

| Muestras | Analito | Unidades | Resultados | Método |
|---|------------------------------------|----------|------------|--------------|
| Sustrato fresco-700 rpm reactor de 14 L . | Azúcares totales (como glucosa) | g/100 ml | 18.72 | *Miller, G.L |
| | Azúcares reductores (como glucosa) | | 0.31 | |
| Sustrato - fermentado 700 rpm reactor de 14 L . | Azúcares totales (como glucosa) | g/100 ml | 13.41 | *Miller, G.L |
| | Azúcares reductores (como glucosa) | | 13.15 | |

*Use of dinitralsalicylic acid reagent for determination of reducing sugar Analytic Chem,31; 416-429

COMENTARIOS:

Ninguno

PROFESIONAL RESPONSABLE DEL ANÁLISIS

 Dra. Susana Fuyertes

QUEJAS Y SUGERENCIAS

El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en

Tabla AIV. 7. Azúcares totales y reductores al inicio y término de la fermentación a 800 rpm en el reactor de 14 litros



ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf. : 2507 144 ext. 2490 e-mail: Irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS O TRABAJO

ORDEN: DC-OTI0163-2012

IDENTIFICACIÓN DE LA(S) MUESTRA(S) Y SERVICIO (S)

| Descripción de las muestras | Código de las muestras |
|--|------------------------|
| Sustrato fresco de 800 rpm reactor de 14 L. | DC-OTI0163-2012 |
| Sustrato fermentado de 800 rpm reactor de 14 L . | DC-OTI0163-2012 |

RESULTADOS

| Muestras | Analito | Unidades | Resultados | Método |
|---|------------------------------------|----------|------------|--------------|
| Sustrato fresco-800 rpm reactor de 14 L . | Azúcares totales (como glucosa) | g/100 ml | 16.94 | *Miller, G.L |
| | Azúcares reductores (como glucosa) | | 0.45 | |
| Sustrato - fermentado 800 rpm reactor de 14 L . | Azúcares totales (como glucosa) | g/100 ml | 13.21 | *Miller, G.L |
| | Azúcares reductores (como glucosa) | | 12.05 | |

*Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar Analytic Chem,31; 416-429

COMENTARIOS:

Ninguno

PROFESIONAL RESPONSABLE
 DEL ANÁLISIS

 Dra. Susana Fuertes

QUEJAS Y SUGERENCIAS

El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo de entrega del informe, u otro aspecto, a través del Jefe del DECAB, o de la persona Encargada de Recepción de Muestra y Atención al Cliente, ya sea en forma verbal o en

ANEXO V

CURVAS PARA LA OBTENCIÓN DEL COEFICIENTE DE TRANSFERENCIA DE MASA $k_L a$

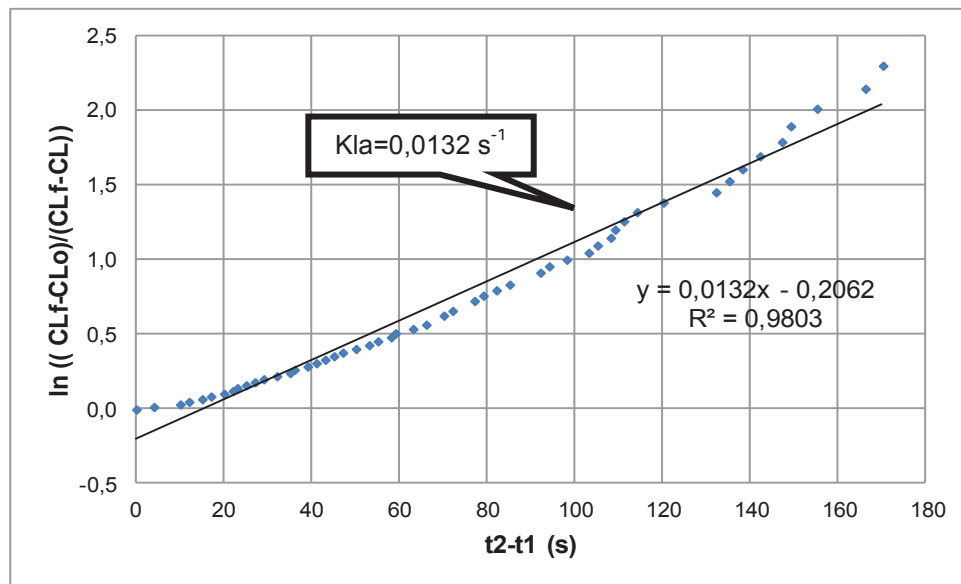


Figura AV.1. Curva para la obtención del coeficiente volumétrico de transferencia de masa al final del proceso fermentativo a 500 rpm en el reactor de 2 litros

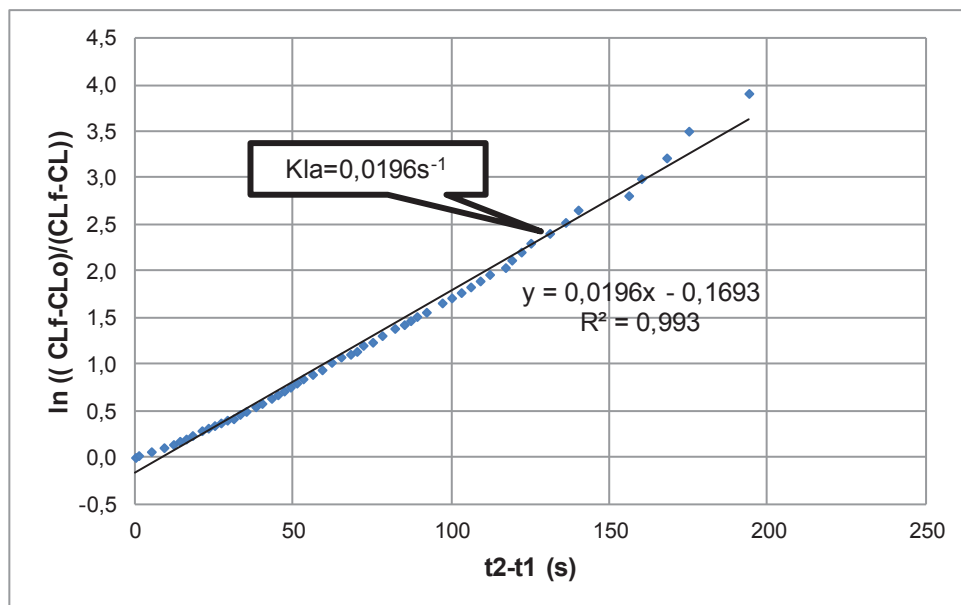


Figura AV.2. Curva para la obtención del coeficiente volumétrico de transferencia de masa al final del proceso fermentativo a 600 rpm en el reactor de 2 litros

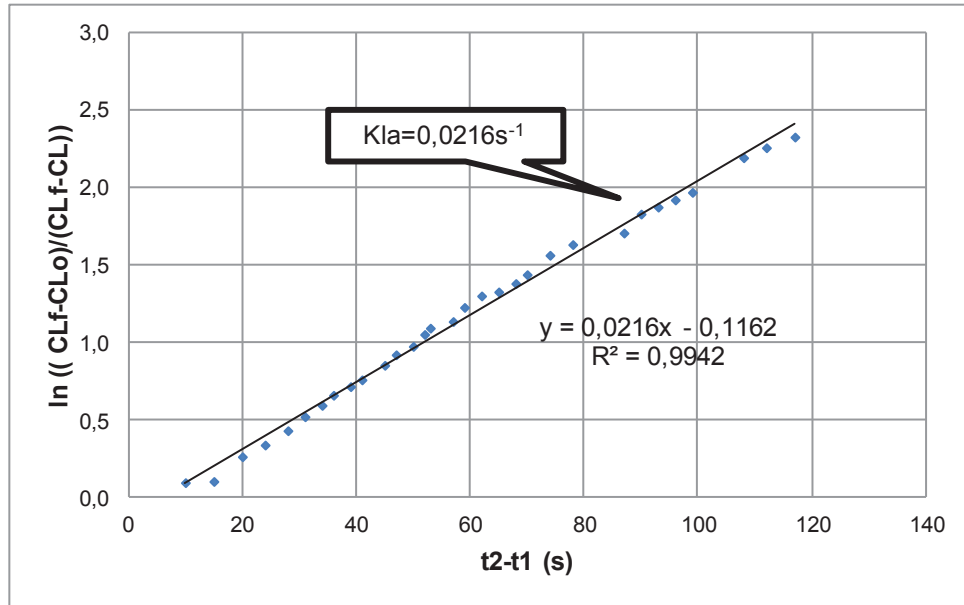


Figura AV.3. Curva para la obtención del coeficiente volumétrico de transferencia de masa al final del proceso fermentativo a 700 rpm en el reactor de 2 litros

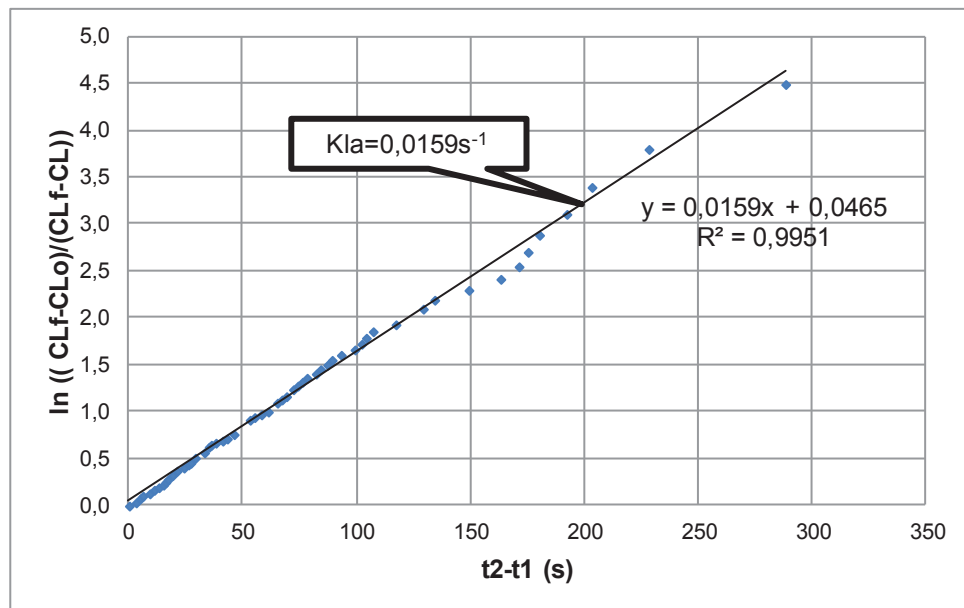


Figura AV.4. Curva para la obtención del coeficiente volumétrico de transferencia de masa al final del proceso fermentativo a 800 rpm en el reactor de 2 litros

ANEXO VI

COEFICIENTES DE TRANSFERENCIA DE MASA $k_L a$ Y VISCOSIDAD APARENTE

Tabla AVI.1. Coeficientes de transferencia de masa y viscosidades para todo el proceso fermentativo en el reactor de 2 litros a 500, 600, 700 y 800 rpm

| Velocidad de agitación (rpm) | Tiempo (días) | Viscosidad (Pa*s) | $k_L a$ (s^{-1}) | Velocidad de agitación (rpm) | Tiempo (días) | viscosidad (Pa*s) | $k_L a$ (s^{-1}) |
|------------------------------|---------------|-------------------|----------------------|------------------------------|---------------|-------------------|----------------------|
| 500 rpm | 0,00 | 3,20E-03 | 2,33E-02 | 600 rpm | 0,00 | 3,00E-03 | 2,82E-02 |
| | 0,74 | 3,50E-03 | 1,78E-02 | | 0,97 | 2,55E-03 | 2,71E-02 |
| | 1,64 | 3,76E-03 | 1,55E-02 | | 1,87 | 3,25E-03 | 2,44E-02 |
| | 2,00 | 3,80E-03 | 1,52E-02 | | 2,66 | 4,00E-03 | 2,29E-02 |
| | 2,65 | 3,50E-02 | 1,41E-02 | | 2,94 | 8,91E-03 | 2,14E-02 |
| | 3,01 | 1,60E-02 | 1,44E-02 | | 3,58 | 2,33E-01 | 1,97E-02 |
| | 3,66 | 6,80E-02 | 1,35E-02 | | 4,57 | 4,07E-01 | 1,94E-02 |
| | 4,06 | 2,00E-01 | 1,44E-02 | | 4,99 | 2,00E-01 | 1,94E-02 |
| | 4,64 | 4,00E-01 | 1,31E-02 | | 5,59 | 5,00E-01 | 1,95E-02 |
| | 5,08 | 3,92E-01 | 1,28E-02 | | 5,98 | 3,25E-01 | 1,95E-02 |
| | 5,68 | 8,00E-01 | 1,39E-02 | | 6,60 | 3,00E-01 | 1,97E-02 |
| | 6,06 | 4,50E-01 | 1,24E-02 | | 8,56 | 3,10E-01 | 1,98E-02 |
| | 6,61 | 5,00E-01 | 1,21E-02 | | ----- | ----- | ----- |
| | 7,03 | 5,00E-01 | 1,34E-02 | | ----- | ----- | ----- |
| 8,01 | 3,00E-01 | 1,30E-02 | ----- | ----- | ----- | | |
| 700 rpm | 0,00 | 3,57E-03 | 2,52E-02 | 800 rpm | 0,00 | 2,73E-03 | 2,70E-02 |
| | 0,71 | 3,38E-03 | 2,40E-02 | | 0,74 | 3,57E-03 | 2,50E-02 |
| | 1,64 | 3,57E-03 | 2,28E-02 | | 1,61 | 3,63E-03 | 2,37E-02 |
| | 2,00 | 3,80E-03 | 2,23E-02 | | 1,98 | 4,33E-03 | 2,19E-02 |
| | 2,61 | 5,00E-03 | 2,23E-02 | | 2,63 | 3,00E-03 | 2,14E-02 |
| | 3,03 | 7,50E-03 | 2,23E-02 | | 3,01 | 5,00E-02 | 2,08E-02 |
| | 3,63 | 2,00E-01 | 2,22E-02 | | 3,61 | 1,75E-02 | 1,78E-02 |
| | 3,99 | 9,00E-02 | 2,25E-02 | | 4,65 | 1,24E+00 | 1,70E-02 |
| | 4,61 | 5,00E-02 | 2,24E-02 | | 4,99 | 2,17E-01 | 1,72E-02 |
| | 5,00 | 5,42E-02 | 2,25E-02 | | 5,63 | 2,00E-01 | 1,73E-02 |
| | 5,65 | 2,80E-01 | 2,23E-02 | | 6,01 | 1,25E-01 | 1,65E-02 |
| | 6,01 | 1,29E-01 | 2,20E-02 | | 6,68 | 8,50E-02 | 1,60E-02 |
| | 6,97 | 2,00E-02 | 2,17E-02 | | 7,61 | 4,50E-02 | 1,24E-02 |
| | 7,95 | 1,43E-01 | 2,19E-02 | | 8,03 | 1,14E-01 | 1,20E-02 |

Tabla AVI.2. Coeficientes de transferencia de masa y viscosidades para todo el proceso fermentativo en el reactor de 14 litros a 500, 600, 700 y 800 rpm

| Velocidad de agitación (rpm) | Tiempo (días) | Viscosidad (Pa*s) | $k_L a$ (s^{-1}) | Velocidad de agitación (rpm) | Tiempo (días) | viscosidad (Pa*s) | $k_L a$ (s^{-1}) |
|------------------------------|---------------|-------------------|----------------------|------------------------------|---------------|-------------------|----------------------|
| 500 rpm | 0,00 | 3,75E-03 | 2.78E-02 | 600 rpm | 0.00 | 6,33E-03 | 2.67E-02 |
| | 2,03 | 2,80E-03 | 1,71E-02 | | 0.78 | 6,33E-03 | 2,37E-02 |
| | 2,18 | 3,56E-03 | 1,67E-02 | | 2.01 | 4,00E-03 | 1,88E-02 |
| | 2,90 | 2,40E-02 | 1,63E-02 | | 2.66 | 1,80E-02 | 1,59E-02 |
| | 3,28 | 1,70E-01 | 1,57E-02 | | 3.02 | 6,90E-01 | 1,30E-02 |
| | 3,92 | 4,33E-01 | 1,60E-02 | | 3.67 | 5,50E-02 | 1,09E-02 |
| | 4,24 | 3,60E-01 | 1,58E-02 | | 4.06 | 7,00E-02 | 1,28E-02 |
| | 4,94 | 5,33E-01 | 1,56E-02 | | 4.68 | 1,86E-01 | 9,92E-03 |
| | 5,22 | 4,67E-01 | 2,01E-02 | | 5.06 | 2,75E-01 | 1,19E-02 |
| | 5,99 | 4,00E-01 | 1,82E-02 | | 5.72 | 3,33E-01 | 1,09E-02 |
| | 6,87 | 5,00E-01 | 1,57E-02 | | 5.96 | 4,67E-01 | 7,09E-03 |
| | 7,22 | 5,50E-01 | 1,51E-02 | | 6.63 | 6,50E-01 | 1,11E-02 |
| | 8,09 | 6,00E-01 | 1,46E-02 | | 7.00 | 6,00E-01 | 1,12E-02 |
| | ----- | ----- | ----- | | 8.03 | 5,00E-01 | 1,01E-02 |
| 700 rpm | 0,00 | 2,90E-03 | 2.82E-02 | 800 rpm | 0.00 | 4,00E-03 | 2.53E-02 |
| | 0,89 | 3,00E-03 | 2,63E-02 | | 0.74 | 3,71E-03 | 2,41E-02 |
| | 1,82 | 3,50E-03 | 2,53E-02 | | 1.70 | 3,63E-03 | 2,02E-02 |
| | 2,21 | 3,88E-03 | 2,71E-02 | | 2.10 | 1,00E-02 | 1,92E-02 |
| | 2,95 | 1,15E-02 | 2,56E-02 | | 2.68 | 4,25E-03 | 1,95E-02 |
| | 4,05 | 1,67E-01 | 2,40E-02 | | 3.08 | 4,67E-03 | 1,99E-02 |
| | 4,84 | 1,67E-01 | 2,22E-02 | | 3.68 | 5,10E-03 | 1,94E-02 |
| | 5,83 | 4,00E-01 | 1,94E-02 | | 4.05 | 1,44E-02 | 1,90E-02 |
| | 5,99 | 2,67E-01 | 2,30E-02 | | 4.75 | 2,80E-02 | 1,93E-02 |
| | 6,78 | 5,00E-01 | 2,25E-02 | | 5.07 | 1,29E-02 | 1,95E-02 |
| | 7,18 | 9,70E-02 | 2,21E-02 | | 5.70 | 3,25E-02 | 1,95E-02 |
| | 7,80 | 2,60E-01 | 2,20E-02 | | 6.00 | 6,50E-02 | 1,80E-02 |
| | 8,02 | 4,33E-01 | 2,15E-02 | | 6.68 | 1,07E-02 | 1,93E-02 |
| | ----- | ----- | ----- | | 7.07 | 7,50E-03 | 1,87E-02 |
| ----- | ----- | ----- | 7.68 | 8,00E-03 | 1,80E-02 | | |
| ----- | ----- | ----- | 8.05 | 7,50E-02 | 1,79E-02 | | |