

T-UES.

84. 2

1506
L864
1994

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA



**"PRUEBAS DE ESCALAMIENTO DEL PROCESO DE PRODUCCION
DE LA LEVADURA CANDIDA UTILIS EN JUGO DE DESECHOS
VEGETALES DE MERCADO EN REGIMEN DISCONTINUO"**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:

JOSE SIMEON LOPEZ VASQUEZ

MIGUEL ANGEL VARGAS

15101043

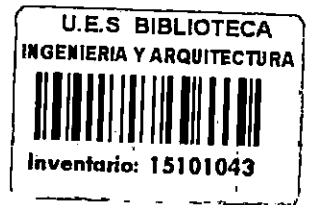
PARA OPTAR AL TITULO DE:

INGENIERO QUIMICO

JUNIO DE 1994



SAN SALVADOR EL SALVADOR CENTRO AMERICA



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA

TRABAJO DE GRADUACION

"PRUEBAS DE ESCALAMIENTO DEL PROCESO DE PRODUCCION DE LA
LEVADURA Candida utilis EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES
DE MERCADO EN REGIMEN DISCONTINUO"

PRESENTADO POR:

JOSE SIMEON LOPEZ VASQUEZ

MIGUEL ANGEL VARGAS

COORDINADORA:

DRA. ELVIA BERENICE HUEZDO DE OLIVA

ASESORA:

ING. DELMY DEL CARMEN RICO PEÑA



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

DR. FABIO CASTILLO FIGUEROA

SECRETARIO GENERAL

LIC. MIRNA ANTONIETA PERLA DE ANAYA

FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA

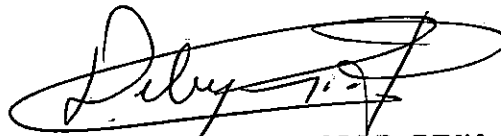
DECANO

ING. JOAQUIN ALBERTO VANEGAS

SECRETARIO

ING. JOSE RIGOBERTO MURILLO CAMPOS

ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA



ING. DELMY DEL CARMEN RICO PEÑA

DIRECTORA



INTRODUCCION

El aumento en la demanda de alimentos con alto contenido de proteínas y la insuficiencia de las fuentes tradicionales proveedoras de las mismas por causa de la fuerte expansión demográfica, ha llevado al hombre a buscar nuevas fuentes no convencionales, capaces de aportar un alto contenido de proteínas a un bajo costo. Es en este marco que se han desarrollado investigaciones en el campo microbiológico para la producción de proteína unicelular (PUC) con ciertos tipos de hongos, algas y levaduras; utilizando una diversidad de sustratos capaces de suministrar los nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo de los microorganismos. La tendencia en la utilización de sustratos ha sido la de emplear aquellos considerados como residuos o desechos de un proceso productivo, con el objeto de disminuir costos de producción y así mismo eliminar o darle tratamiento a estos desechos considerados hasta cierto punto como contaminantes del medio ambiente.

Entre las levaduras, Candida utilis, también conocida con los nombres de Torulopsis utilis y Torula utilis, se ha comprobado que posee el valor proteico más elevado de todas sus congéneres (Tauk, 1978), el cual constituye cerca del 50% de su peso seco. Posee la ventaja de poder crecer en una amplia variedad de sustratos, desde etanol hasta varios

RESUMEN

En las últimas décadas las directrices en la búsqueda de fuentes proteicas no convencionales han sido encaminadas hacia la industrialización de procesos que involucren microorganismos cuya estructura celular aporte contenidos de proteínas y vitaminas elevados y que a la vez, su metabolismo permita utilizar, para su reproducción y desarrollo, fuentes carbonadas provenientes de desechos o residuos, sean estos originados por otros procesos productivos o por otras actividades involucradas en el devenir de las sociedades modernas.

El objetivo de este proyecto es realizar pruebas de escalamiento en la producción de proteína unicelular (PUC) a partir de la levadura Candida utilis utilizando como substrato jugo de desechos vegetales, frutas y verduras, provenientes de mercado; trabajo que se inició sobre la base de una investigación anterior denominada "Producción de Candida utilis en jugo de desechos vegetales de mercado", realizada por Guerrero y Aguilar en 1992.

Se diseñaron y construyeron dos bio-reactores con capacidades de 5 y 10 litros respectivamente. Los tanques de reacción se construyeron de PVC (cloruro de polivinilo) y los sellos de éstos fueron hechos de hule; se utilizó un sistema

de agitación de dos rodetes de paletas planas inclinadas a 75°, impulsado por un motor operando a 100 rpm; en la construcción de los agitadores se empleó acero inoxidable. El suministro de aire se realizó a través de un sistema de filtros, un filtro de fibra de algodón y otro con una solución de hipoclorito de sodio al 5% v/v para esterilizar el aire suministrado.

Se evaluó el coeficiente global de transferencia de masa (K_{La}) en el reactor de 5 litros a diferentes niveles de aireación, desde 10 L/min hasta 40 L/min, no pudiéndose encontrar el valor del K_{La} óptimo por limitaciones técnicas del compresor, observándose un aumento del K_{La} al aumentar el nivel de aireación, para un flujo máximo de aire permisible de 30 L/min.

Las pruebas de producción de levadura se realizaron únicamente en el bio-reactor de 5 L de capacidad, utilizando jugo de desechos vegetales con un contenido inicial de azúcares reductores del 3.3% p/v. Se evaluaron niveles de aireación de 10, 20 y 30 L/min, correspondiendo a 2, 4 y 6 v/v/m respectivamente. El rendimiento en biomasa presentó un aumento con respecto al incremento en el nivel de aireación, obteniéndose una producción máxima de 10.88 g de levadura seca/L de substrato, para una aireación de 30 L/min. No pudiéndose obtener un valor óptimo de rendimiento de

producción con respecto al nivel de aireación por la limitación técnica de la potencia del compresor ya señalado.

A la biomasa obtenida se le realizó un análisis proximal, que dejó como resultado que la levadura procedente de jugo de desechos vegetales posee un contenido de proteína entre 26.38 y 53.49%, humedad entre 5.88 y 9.35%, cenizas entre 9.16 y 9.33%, fibra entre 0.92 y 1.22%, grasa entre 1.09 y 2.58%, y carbohidratos solubles entre 53.56 y 56.57%.

Asimismo, se evaluó la curva de crecimiento a un nivel de aireación de 30 L/min, obteniéndose 0.147 y 1.47 hr^{-1} como velocidades específicas de crecimiento y 0.1177 y 5.88 hr como tiempos de duplicación para la primera y segunda fase de crecimiento exponencial respectivamente, dado el comportamiento diaúxico de la levadura empleada al crecer en jugo de desechos vegetales.

INDICE

<u>CONTENIDOS</u>	<u>PAGINA</u>
INTRODUCCION.....	1
CAPITULO I	
<u>Candida utilis</u> COMO FUENTE DE PROTEINA UNICELULAR.....	3
1.1 PRODUCCION DE <u>Candida utilis</u> A PARTIR DE JUGO DE DESECHOS VEGETALES DE MERCADO	7
CAPITULO II	
CARACTERISTICAS DE BIO-REACTORES UTILIZADOS EN LA PRODUCCION DE PROTEINA UNICELULAR EN REGIMEN DISCONTINUO.....	11
2.1 BIO-REACTORES DE FLUJO DISCONTINUO.....	11
2.2 AIREACION.....	12
2.2.1 BURBUJAS SIMPLES.....	13
2.2.2 ENJAMBRE DE BURBUJAS.....	13
2.3 AGITACION MECANICA.....	14
2.3.1 TIPOS DE AGITADORES UTILIZADOS EN BIO-REACTORES.....	14
2.3.2 DEFLECTORES.....	17
2.4 REQUERIMIENTOS DE POTENCIA.....	19
2.4.1 POTENCIA REQUERIDA PARA EL SUMINISTRO DE AIRE.....	19
2.4.2 POTENCIA CONSUMIDA POR EL SISTEMA DE AGITACION.....	20

CONTENIDOSPAGINA

2.5 DISEÑO Y CONSTRUCCION DE LOS BIореАCTORES A UTILIZAR EN LA PRODUCCION DE <u>Candida utilis</u> A ESCALA DE 5 Y 10 LITROS EN REGIMEN DISCONTINUO.....	25
2.5.1 TANQUES DE REACCION.....	25
2.5.2 SELLOS.....	28
2.5.3 AIREADOR.....	29
2.5.4 AGITADORES.....	30
2.5.5 FILTROS BIOLÓGICOS.....	34
CAPITULO III	
EVALUACION DE LOS PARAMETROS DE OPERACION DEL REACTOR DE 5 LITROS CONSTRUIDO	38
3.1 DETERMINACION DEL FLUJO DE AIRE A SUMINISTRAR.....	38
3.2 EVALUACION DEL COEFICIENTE GLOBAL DE TRANSFERENCIA DE MASA PARA LA FASE LIQUIDA.....	40
3.2.1 METODO DE EVALUACION DEL K_{la}	41
3.2.2 CALCULOS Y RESULTADOS DE LA EVALUACION DEL K_{la}	43
CAPITULO IV	
PRODUCCION DE <u>Candida utilis</u> EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES A ESCALA DE 5 LITROS EN REGIMEN DISCONTINUO	48
4.1 MANTENIMIENTO DE LA CEPA DE <u>Candida utilis</u>	48

<u>CONTENIDOS</u>	<u>PAGINA</u>
4.2 OBTENCION DEL SUBSTRATO.....	49
4.2.1 RECOLECCION DE LOS RESIDUOS VEGETALES...	49
4.2.2 PREPARACION DE LOS DESECHOS PARA LA EX- TRACCION DEL JUGO.....	51
4.2.3 EXTRACCION DEL JUGO DE LOS DESECHOS VE - GETALES.....	52
4.2.4 PREPARACION DEL SUBSTRATO.....	53
4.3 CONDICIONES DE OPERACION DEL PROCESO DE PRO - DUCCION DE <u>Candida utilis</u>	54
4.3.1 TEMPERATURA.....	54
4.3.2 pH.....	55
4.3.3 NUTRIENTES.....	55
4.3.4 FUENTE DE CARBONO.....	56
4.3.5 VELOCIDAD DE REACCION.....	57
4.4 CARGA Y CONTROL DE LAS PRUEBAS DE PRODUCCION..	58
4.5 DESCARGA DEL REACTOR Y RECUPERACION DE LA CRE- MA DE LEVADURA.....	61
4.6 SECADO Y PULVERIZADO DE LA LEVADURA.....	62
4.7 PRODUCTIVIDAD, RENDIMIENTOS DE PRODUCCION Y CALIDAD BACTERIOLOGICA Y QUIMICA DE LA LEVADU- RA PRODUCIDA.....	63
4.7.1 PRODUCTIVIDAD OBTENIDA Y DETERMINACION DE LOS RENDIMIENTOS DE LEVADURA PRODU- CIDA EN EL REACTOR DE 5 LITROS.....	63
4.7.2 CALIDAD BACTERIOLOGICA DE LA LEVADURA PRODUCIDA.....	71
4.7.3 CALIDAD QUIMICA DE LA LEVADURA PRODUCIDA	73

<u>CONTENIDOS</u>	<u>PAGINA</u>
4.8 CURVA DE CRECIMIENTO DE <u>Candida utilis</u> EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES.....	75
4.8.1 METODO UTILIZADO PARA LA DETERMINACION DE LA CURVA DE CRECIMIENTO DE <u>Candida utilis</u> EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES.....	75
OBSERVACIONES.....	83
CONCLUSIONES.....	85
RECOMENDACIONES.....	88
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	91
ANEXOS	
ANEXO A: CALCULO DE LOS REQUERIMIENTOS DE O ₂ DE LA LEVADURA <u>Candida utilis</u> EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES.....	98
ANEXO B: DIAGRAMAS DE CONSTRUCCION DE LOS BIO-REACTORES.....	100
ANEXO C: CALCULO DE LA POTENCIA DEL AGITADOR	103
ANEXO D: DESCRIPCION Y CALIBRACION DEL ROTAMETRO UTILIZADO EN EL SISTEMA DE SUMINISTRO DE AIRE.....	108
ANEXO E: DETERMINACION DEL K _{1a}	118

CONTENIDOSPAGINA

ANEXO F: DETERMINACION DEL CONTENIDO DE AZUCARES REDUCTORES POR EL METODO DE LANE Y EYNON.....	119
ANEXO G: ANALISIS ESTADISTICO PARA EL RENDIMIENTO DE PRODUCCION DE <u>Candida utilis</u> A PARTIR DE JUGO DE DESECHOS VEGETALES DE MERCADO EN FUNCION DEL NIVEL DE AIREACION APLICADO EN ESCALA DE PRODUCCION DE 5 LITROS EN REGIMEN DISCONTINUO.....	124
ANEXO H: REPORTES DE ANALISIS DE CALIDAD DE LA LEVADURA PRODUCIDA.....	126
ANEXO I: METODO PARA LA DETERMINACION DE LA VELOCIDAD ESPECIFICA DE CRECIMIENTO, μ , Y DEL TIEMPO DE DUPLICACION, t_d	130
ANEXO J: CURVA DE CRECIMIENTO DE <u>Candida utilis</u> EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES OBTENIDA POR GUERRERO Y AGUILAR (1992).....	132

INDICE DE CUADROS

<u>CUADRO</u>	<u>PAGINA</u>
1. PRODUCCION Y USO DE PROTEINA UNICELULAR EN AMERICA LATINA A PARTIR DE <u>Candida utilis</u> CULTIVADA EN DIFERENTES SUBSTRATOS.....	5
2. COMPOSICION QUIMICA PROXIMAL DE <u>Candida utilis</u> PRODUCIDA EN DIFERENTES SUBSTRATOS.....	6
3. COMPARACION DE NUTRIENTES PRESENTES EN EL JUGO DE DESECHOS VEGETALES Y NUTRIENTES NECESARIOS PARA <u>Candida utilis</u>	8
4. BASURA DE LOS MERCADOS DESCARGADA EN EL RELLENO SANITARIO DE SOYAPANGO, SAN SALVADOR.....	9
5. COMPOSICION FISICA PROMEDIO DE LOS DESECHOS DE MERCADO.....	10
6. DIMENSIONES DE LOS AGITADORES CONSTRUIDOS PARA LOS BIO-REACTORES DE 5 Y 10 LITROS.....	32
7. RESULTADOS DE LA EVALUACION DEL K1a POR EL METODO DE OXIDACION DEL SULFITO DE SODIO PARA EL BIO-REACTOR DE 5 LITROS.....	46

<u>CUADRO</u>	<u>PAGINA</u>
8. RESULTADOS OBTENIDOS EN LA PRODUCCION DE <u>Candida utilis</u> A PARTIR DE JUGO DE DESECHOS VEGETALES DE MERCADO EN REGIMEN DISCONTINUO A ESCALA DE 5 LITROS.....	68
9. EFECTO DEL NIVEL DE AIREACION EN EL RENDIMIENTO DE PRODUCCION DE <u>Candida utilis</u> A PARTIR DE JUGO DE DESECHOS VEGETALES DE MERCADO A ESCALA DE 5 LITROS EN REGIMEN DISCONTINUO.....	69
10. RESULTADOS DEL ANALISIS MICROBIOLOGICO REALIZADO A LA LEVADURA OBTENIDA EN LOS LOTES 5 Y 6 DE DE PRODUCCION EXPERIMENTAL Y LAS ESPECIFICACIONES DE CALIDAD REQUERIDA.....	72
11. ANALISIS PROXIMAL DE LA LEVADURA <u>Candida utilis</u> PRODUCIDA EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES EN UN REACTOR DISCONTINUO DE 5 LITROS.....	74
12. VARIACION DE LA POBLACION DE <u>Candida utilis</u> EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES RESPECTO AL TIEMPO DE CULTIVO EVALUADA POR EL METODO DE CONTEO DIRECTO EN CAMARAS HAUSSER SCIENTIFIC.....	80

CUADROPAGINA

13. VELOCIDAD ESPECIFICA DE CRECIMIENTO Y TIEMPO DE DUPLICACION DE <u>Candida utilis</u> PRODUCIDA EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES.....	82
---	----

INDICE DE FIGURAS

<u>FIGURA</u>	<u>PAGINA</u>
1. TIPOS DE AGITADORES DE TURBINA Y LAS CORRIENTES QUE PRODUCEN.....	16
2. CONSUMO DE ENERGIA DE DIVERSOS AGITADORES, EXPRESADO POR EL PARAMETRO DE POTENCIA, P_o , Y DEL NUMERO DE REYNOLDS, Re	24
3. TANQUES DE REACCION CON SUS SELLOS DE HULE PARA VOLUMENES DE 5 Y 10 LITROS CONSTRUIDOS PARA LA PRODUCCION EXPERIMENTAL DE <u>Candida</u> <u>utilis</u>	28
4. DETALLE DEL SISTEMA DE AGITACION MECANICA Y SU DISPOSICION SOBRE LA ESTRUCTURA DE SOPORTE EN DONDE SE MUESTRA EL MOTOR DE ACCIONAMIENTO Y EL AGITADOR CON SUS DOS IMPULSORES.....	33
5. DISPOSICION DEL SISTEMA DE FILTROS DE AIRE. EL ELEMENTO DEL EXTREMO IZQUIERDO CONSTITUYE EL FILTRO MECANICO, LOS DOS RESTANTES CONFORMAN EL FILTRO GERMICIDA.....	34

<u>FIGURA</u>	<u>PAGINA</u>
6. DISPOSICION GLOBAL DEL EQUIPO DE REACCION EN DONDE SE MUESTRA LA UBICACION DE CADA UNO DE LOS COMPONENTES INTEGRANTES.....	37
7. EFECTO DE LA VARIACION DEL FLUJO DE AIRE SOBRE LOS VALORES DEL COEFICIENTE GLOBAL DE TRANSFERENCIA DE MASA PARA LA FASE LIQUIDA, K_1a	47
8. RENDIMIENTOS PROMEDIOS VRS. NIVELES DE AIREACION PARA LA PRODUCCION DE <u>Candida utilis</u> A PARTIR DE JUGO DE DESECHOS VEGETALES DE MERCADO A ESCALA DE 5 LITROS EN REGIMEN DISCONTINUO.....	70
9. CURVA DE CRECIMIENTO DE <u>Candida utilis</u> EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES CON UN FLUJO DE AIRE DE 30 L/MIN Y UN CONTENIDO INICIAL DE AZUCARES REDUCTORES DE 3.3% P/V.....	81

desechos agroindustriales tales como melaza, obtenida del procesamiento de la caña de azúcar, aguas sulfitadas efluentes de la producción de papel, vinazas, jugo de pulpa de café, etc. (Ferrufino y Boyle, 1984).

En El Salvador se han desarrollado investigaciones orientadas a la producción de proteína unicelular utilizando la levadura Candida utilis en los siguientes sustratos: mucilago de café (Choto Berríos, 1978); jugo de pulpa de café (Ferrufino y Boyle, 1984; Déras Montalvo, 1984); melaza de caña (Bonilla et. al., 1985) y vinaza (López Preza, 1984; Bonilla et. al., 1985; Figueroa Olmedo, 1988).

Guerrero y Aguilar (1992), realizaron una investigación sobre la producción de PUC en jugo de desechos vegetales de frutas y verduras de mercados, la cual constituye el antecedente principal del presente trabajo, cuyo objetivo es realizar pruebas de escalamiento en la producción de PUC empleando como sustrato, al igual que Guerrero y Aguilar, jugo de desechos vegetales provenientes de mercados. Con dichas pruebas de escalamiento se pretende investigar la influencia de la aireación y la agitación mecánica en la producción de PUC. Finalmente, los resultados obtenidos permitirán sentar las bases que fundamenten en un futuro, la optimización del proceso de producción de PUC mediante la metodología aquí estudiada.

CAPITULO I

Candida utilis COMO FUENTE DE PROTEINA UNICELULAR

Candida utilis es una levadura de sabor semejante al de la carne (Mateles, 1968), su excelente propiedad para retener aromas y sabores, la hacen ideal para ser utilizada en la industria alimenticia, como saborizante y como suplemento protéico. El aspecto físico que presenta es el de avena coloreada, lo que la hace atractiva a la vista. Debido a su alto contenido vitamínico, especialmente vitaminas del complejo B, la levadura Candida utilis es utilizada como complemento vitamínico. Los estudios realizados con respecto a la composición de aminoácidos en levaduras, han llevado a la conclusión de que esta varía con el tipo de cepa que se utilice; además las condiciones de crecimiento pueden afectar la concentración de ciertos aminoácidos. La proteína de la levadura es una excelente fuente de lisina, conteniendo cantidades suficientes de otros aminoácidos como triptofano y treonina, cuya concentración es baja en las proteínas de cereales (Mateles, 1968).

A nivel latinoamericano se han desarrollado investigaciones referentes a la producción de PUC empleando la levadura Candida utilis cultivada en diferentes substratos. Un resumen de las experiencias más relevantes en este sentido, se presenta en el Cuadro 1 en el que pueden observarse el tipo

de substratos utilizados, el nivel de producción y el valor nutricional del producto obtenido, así como también el país de origen y la organización responsable de la producción. En dicho cuadro se puede notar que las experiencias en la producción de PUC datan al menos de 1949, variando la escala de producción desde planta piloto hasta nivel industrial; los substratos son de origen agroindustrial e industrial y en todos los casos residuos de dichos procesos.

Se reporta también que el contenido proteico varía entre un 45 y un 55% p/p, siendo el más elevado comparado con los otros componentes presentes, que a su vez tienen un mayor rango de variación, lo cual puede observarse en el Cuadro 2, donde se presenta la composición proximal de levadura Candida utilis producida en diversos substratos de residuos agroindustriales.

Además de su uso en la dieta humana, la levadura torula, es ampliamente utilizada en la elaboración de forrajes y piensos para la alimentación animal, debido a su propiedad de adaptarse a ser procesada en formas tan prácticas como tabletas y harinas.

CUADRO 1
 PRODUCCION Y USO DE PROTEINA UNICELULAR EN AMERICA LATINA A
 PARTIR DE Candida utilis CULTIVADA EN DIFERENTES SUBSTRATOS.

PAIS	ORGANIZACION	SUBSTRATO	PRODUCCION	VALOR NUTRICIONAL
Chile	Industria Azucarera Nacional, S.A.	Miel de Remolacha azucarera	Escala Industrial	Bajo investigación para uso humano en el Laboratorio de Enfermedades Pediátricas, Escuela de Medicina Universidad de Chile. Contiene 52.8% de proteína cruda con 8.9% de lisina.
Costa Rica	Sarchi, Costa Rica	Productos de desperdicios agrícolas, especialmente pulpa de café.	Planta Piloto 40 lb por día.	Universidad de Costa Rica. Contiene de 50 a 56% de proteína.
Puerto Rico	Planta piloto Compañía de Fomento Industrial de Puerto Rico.	Miel de purga 88° Brix residuo de la industria de la caña de azúcar.	Escala semi-industrial por 11 años (1940-60); 1/2 tonelada diaria.	Investigada en la Escuela de Medicina, Escuela de Medicina Tropical, Universidad de Puerto Rico. Contiene 50.7% de proteína cruda. Digestibilidad 87.3%; valor proteínico neto 20.0. Fue consumida satisfactoriamente por humanos a niveles de 5-15 g por día, pero no era bien tolerada a niveles de 30 g.
Brasil	Planta adjunta a fábrica de ron en el Estado de Pernambuco, Brasil. Otra planta en Alagoas y una en construcción en el municipio de Cabo.	Residuos líquidos de la fermentación alcohólica (vinazas)	Escala industrial. Una tonelada diaria. Alagoas, 9 toneladas diarias. Cabo, 12 toneladas diarias.	Investigada en el Instituto de Antibióticos de Recife. Se ha usado principalmente en la preparación de alimentos para aves de corral; 120 cruzeiros por kg.

FUENTE: Guerrero y Aguilar, 1992.

CUADRO 2
 COMPOSICION QUIMICA PROXIMAL DE Candida utilis
 PRODUCIDA EN DIFERENTES SUBSTRATOS

COMPONENTE	<u>C. utilis</u> en jugo de desechos vegetales (% p/p) *	<u>C. utilis</u> en melaza (% p/p) *	<u>C. utilis</u> en jugo de maguey (% p/p)	<u>C. utilis</u> en vinaza (% p/p)
Proteína	45.20	52 - 54	48.8 - 51.6	45.40
Grasa	4.10	0.8 - 1.0	0.56 - 2.0	4.50
Fibra	6.57	0.4 - 0.5	-	2.00
Ceniza	6.31	7.0 - 7.5	3.2	13.90
Humedad	5.90	5.0 - 7.0	6.93	1.40

* Ensayos realizados en El Salvador.

FUENTE: Guerrero y Aguilar, 1992.

1.1 PRODUCCION DE Candida utilis A PARTIR DE JUGO DE DESECHOS VEGETALES DE MERCADO.

En el presente trabajo se han desarrollado una serie de pruebas de escalamiento en la producción de Candida utilis, partiendo de los resultados presentados por Guerrero y Aguilar (1992), utilizando como sustrato jugo de desechos vegetales de mercado, el cual contiene cantidades suficientes de fuente de carbono y nutrientes para el crecimiento y desarrollo de dicha levadura, lo cual puede evidenciarse con el cuadro 3 en donde se muestran en forma comparativa las cantidades de cada nutriente requeridas por Candida utilis para su crecimiento y desarrollo y las aportadas por el jugo de desechos vegetales, observándose que este contiene cantidades mayores, para cada nutriente, que las requeridas por dicha levadura.

Para conocer la disponibilidad de los desechos vegetales, Guerrero y Aguilar (1992) tabularon las cantidades en peso de basura de los mercados y contabilizaron de Enero a Diciembre, para los años de 1987 a 1990. Estos datos se presentan en el Cuadro 4 y la composición física promedio de esos desechos de mercado se presenta en el Cuadro 5 del cual se puede observar que el 32.38% de la cantidad total de basura, representa la disponibilidad de desechos

vegetales en frutas y verduras para la producción de Candida utilis (Guerrero y Aguilar, 1992).

De acuerdo a los datos de los Cuadros 4 y 5 se tendrían disponibles 17 toneladas/día de frutas y verduras que de acuerdo a Guerrero y Aguilar (1992) para un rendimiento de producción de 11.15 g evaluado a escala de 1 litro se estarían produciendo 28 kilogramos/día de proteína unicelular; lo cual se respalda mediante esta investigación con el escalamiento del proceso de escala de 1 litro a escala de 5 litros de substrato.

CUADRO 3

COMPARACION DE NUTRIENTES PRESENTES EN EL JUGO DE DESECHOS VEGETALES Y NUTRIENTES NECESARIOS PARA Candida utilis

ELEMENTO	CANTIDAD REQUERIDA PARA <u>Candida utilis</u> (g/L jugo)	CANTIDAD PRESENTE EN EL JUGO. (g/L jugo)
N	2.49	3.94
K	0.65	19.95
P	0.53	3.94
Ca	0.28	0.81
S	0.12	2.09
Mg	0.06	0.93

FUENTE: Guerrero y Aguilar, 1992.

CUADRO 4
 BASURA DE LOS MERCADOS DESCARGADA POR MES EN EL
 RELLENO SANITARIO DE SOYAPANGO, SAN SALVADOR
 PERIODO 1987 - 1990

AÑO	1987	1988	1989	1990
MES	Peso (ton.)	Peso (ton.)	Peso (ton.)	Peso (ton.)
Enero	560	698	2,582	1,155
Febrero	221	796	2,077	3,188
Marzo	432	308	2,008	1,380
Abril	210	550	2,220	1,118
Mayo	55	1,343	2,848	1,508
Junio	1,308	1,370	1,661	1,696
Julio	1,573	1,704	2,420	1,424
Agosto	1,011	2,067	2,601	1,489
Septiembre	1,654	2,053	2,538	1,559
Octubre	933	2,161	2,017	1,828
Noviembre	984	2,059	857	1,237
Diciembre	829	2,352	1,222	1,415
TOTAL	10,265	17,461	25,051	18,997

FUENTE: Guerrero y Aguilar, 1992.

CUADRO 5

COMPOSICION FISICA PROMEDIO DE LOS DESECHOS DE MERCADO

COMPONENTES	% PESO
Papel y cartón	7.48
Madera	0.32
Trapos	0.59
Plástico (lámina y endurecido)	4.29
Metales y latas	0.28
Vidrio y cerámica	0.33
Huesos	0.25
Estopa de coco	9.77
Verdura	20.53
Fruta	11.85
Hojas y flores	17.80
Piedras	0
Restos de alimentos	3.56
Agregado fino	11.43
Agregado grueso	8.80
Otros	1.03
Pérdidas	1.69
TOTAL	100.00

FUENTE: Guerrero y Aguilar, 1992.

CAPITULO II

CARACTERISTICAS DE BIO-REACTORES UTILIZADOS EN LA PRODUCCION DE PROTEINA UNICELULAR EN REGIMEN DISCONTINUO

El diseño y posterior construcción del equipo a utilizar para la producción de Candida utilis se basó en informaciones técnicas y en relaciones dimensionales recomendadas por la literatura (Treybal, 1988; McCabe y Smith, 1981; Gates et. al., 1975; Dickey y Fenic, 1976; Dickey and Hicks, 1976; Hicks et. al., 1976; Gates et.al., 1976). La construcción final de los mismos estuvo determinada por limitaciones del tipo técnico-económicas, tal como se plantea a lo largo de este Capítulo.

2.1 BIO-REACTORES DE FLUJO DISCONTINUO.

Se trabajó con un bio-reactor de tipo discontinuo cuya característica principal estriba en que el grado de reacción y crecimiento microbiológico así como las propiedades de mezclado varían con respecto al tiempo. En este tipo de bio-reactores se agrega una carga de substrato con inóculo, se lleva a las condiciones favorables para el desarrollo del proceso metabólico y se mantiene en esas condiciones durante un determinado tiempo, hasta agotar las reservas energéticas del substrato para luego descargar el producto deseado.

En la producción de Candida utilis se necesita de sistemas aireados por lo que estos requerimientos son descritos en la sección 2.2.

2.2 AIREACION.

El propósito fundamental que se persigue en la aireación de sistemas biológicos, es suministrar el oxígeno necesario para el desarrollo de los microorganismos, así como también de las reacciones que se llevan a cabo como resultado del proceso metabólico de los mismos.

Los sistemas de aireación constan de tuberías por las cuales el aire proveniente de un compresor es inducido en el seno del caldo a través de perforaciones en la tubería, la que normalmente es en forma de disco y se coloca bajo el agitador, para que durante el accionamiento del mismo, las burbujas que salen del aireador sean rotas por sus alabes propiciando de esta manera una mayor área de contacto gas-líquido. Si el diámetro del tanque es pequeño (menos de 30 centímetros), el burbujeador, localizado en el fondo del tanque de reacción, puede ser un simple tubo abierto a través del cual el gas llegue hasta el líquido (Treybal, 1988).

Las burbujas de aire usadas en reactores industriales se

encuentran en el rango de 1.5 a 10 mm de diámetro. La forma y tamaño de las burbujas depende grandemente de las propiedades del líquido utilizado como caldo y de la turbulencia causada por la agitación (Aiba, 1965).

2.2.1 BURBUJAS SIMPLES.

Son burbujas cuya forma se acerca marcadamente a la esfericidad caracterizándose por no existir uniones entre una y otra burbuja; requiriendo por tanto una adecuada separación entre los orificios de salida y que el tipo de flujo no sea turbulento. Por lo general pueden encontrarse burbujas simples hasta de 1.5 mm de diámetro, comenzando su deformación a medida que éste se aleja de dicho valor.

2.2.2 ENJAMBRE DE BURBUJAS.

En la práctica las burbujas simples raramente se producen en los sistemas de aireación, siendo más común encontrar conglomerados o enjambres de burbujas. Esto se debe a que el movimiento de las burbujas, como se mencionó anteriormente, es afectado por la turbulencia causada por la agitación mecánica y por la misma aireación, lo

que provoca una deformación y cambio de diámetro de las burbujas durante su ascenso a través del líquido, por causa de la coalescencia de algunas de ellas con otras.

2.3 AGITACION MECANICA.

La agitación constituye uno de los parámetros más importantes a considerar en el diseño de bio-reactores, ya que de ésta depende en gran medida el éxito de un proceso que involucre microorganismos. El propósito de la agitación, es mezclar el caldo del reactor de modo tal que pueda lograrse una adecuada suspensión de los microorganismos y además acelere la velocidad de transferencia de masa de los productos metabólicos (Aiba, 1965).

2.3.1 TIPOS DE AGITADORES UTILIZADOS EN BIO-REACTORES.

El tipo de agitador a utilizar en un tanque de reacción, depende de las propiedades físicas del caldo, como son la viscosidad y la tensión superficial; y de las características hidrodinámicas que se deseen obtener en el seno del líquido, es decir, el grado de turbulencia y dirección de las corrientes de líquido en el

reactor.

Para el caso particular de los bio-reactores, en el que se tiene un crecimiento de microorganismos, se desea mantener a éstos en suspensión y además se necesita dispersar el aire en el seno del líquido con el objeto de aumentar el área interfacial gas-líquido; por lo cual se hace necesario buscar el tipo de agitador de turbina que mejor supla estas necesidades, adaptando al sistema la forma y grado de inclinación de las paletas de tal forma que proporcione una combinación de flujo axial y radial.

a) AGITADOR DE PALETAS PLANAS VERTICALES.

Este tipo de agitador está formado por hojas o paletas verticales, que giran sobre un eje vertical. Son bastante comunes los agitadores con dos o tres paletas, que giran a velocidades bajas o moderadas en el centro del reactor, impulsando el líquido, radial y tangencialmente, sin que exista movimiento vertical respecto del agitador (McCabe y Smith, 1981). Lo anterior, es su limitación principal, y por consiguiente, éstos agitadores no son eficaces para poner sólidos en

suspensión. Sin embargo, son ampliamente utilizados para la dispersión de gases en líquidos (Treybal, 1988). En la Figura 1 se presenta un diagrama de éste tipo de agitadores y las corrientes que producen.

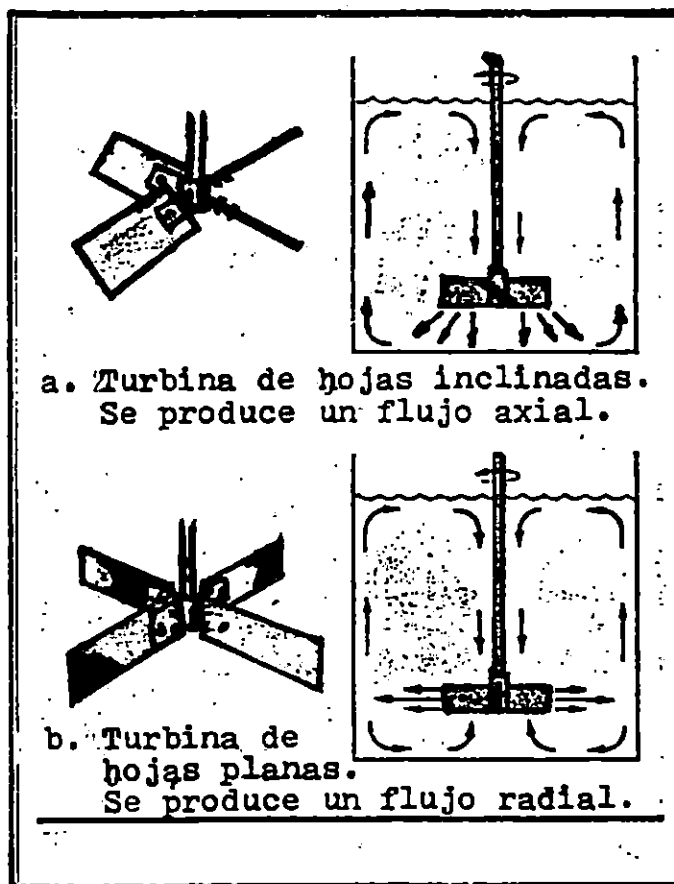


FIGURA 1: Tipos de Agitadores de turbina y las corrientes que producen.

FUENTE: Gates, Henley and Fenic.
December 8, 1975.

b) AGITADOR DE PALETAS PLANAS INCLINADAS.

Son muy utilizados en la suspensión de sólidos, debido al tipo de movimiento de las corrientes de fluido que se producen. Estos agitadores descargan el fluido desde la zona del impulsor en una dirección paralela al eje de rotación, originando corrientes ascendentes y descendentes, con lo cual se favorece la mezcla homogénea y suspensión de los sólidos. Es muy común el agitador de flujo axial con álabes o paletas inclinadas a 45° . Este tipo de agitador, también se muestra en la Figura 1 (Gates et. al., 1975).

2.3.2 DEFLECTORES.

La velocidad de un líquido en un reactor agitado tiene 3 componentes y el tipo de flujo global en el mismo, depende de las variaciones de éstas tres componentes de velocidad. La primera es radial y actúa en dirección perpendicular al eje. La segunda es longitudinal y actúa en dirección paralela al eje. La tercera es rotacional o tangencial y actúa en dirección tangencial a la trayectoria circular descrita por el rodete del agitador.

Cuando el eje del agitador es vertical y está dispuesto sobre el eje del tanque, las componentes radial y longitudinal son útiles para que se produzca la mezcla, mientras que el flujo tangencial por seguir una trayectoria circular alrededor del eje crea un vórtice en la superficie del líquido, lo cual da lugar a una estratificación permanente de sustancias sin mezclar. Si están presentes partículas sólidas, las corrientes circulatorias tienden a lanzarlas contra la pared del reactor, debido a la fuerza centrífuga, desde donde caen, acumulándose en la parte central del tanque.

Para evitar la formación de vórtices en tanques de gran tamaño el método más utilizado y conveniente es instalar placas deflectoras que impiden el flujo rotacional sin afectar el flujo radial y longitudinal. El efecto neto producido por las placas deflectoras es el rompimiento de los remolinos que se originan. En tanques de pequeño tamaño con impulsor localizado en forma axial y que opera a bajas velocidades de rotación, la superficie líquida está nivelada y el líquido circula alrededor del eje. La formación de vórtices en éste tipo de tanques es prácticamente

nula y a esto podría contribuir la aireación, al romper (por efecto de su movimiento) las ondas concéntricas que generan los vórtices, produciendo un efecto similar al que se obtendría al descentrar el eje del agitador e inclinarlo en un plano perpendicular a la dirección del movimiento (McCabe y Smith, 1981).

2.4 REQUERIMIENTOS DE POTENCIA

El consumo de potencia en bio-reactores se divide en dos partes que son: en primer lugar, la potencia requerida para comprimir el aire a ser suministrado al reactor, y en segundo lugar, la potencia consumida por el agitador para mezclar y mantener en suspensión los sólidos y dispersar el aire en el líquido.

2.4.1 POTENCIA REQUERIDA PARA EL SUMINISTRO DE AIRE

En el caso de la potencia requerida para el suministro de aire al reactor, ésta debe ser calculada en base a la cantidad de oxígeno consumido por los microorganismos, teniendo en cuenta que la cantidad de aire a ser suministrada debe ser mayor a la cantidad teórica calculada; lo anterior se debe al hecho de que en la práctica no

se llega a alcanzar el equilibrio entre la fase gas y la fase líquida. Este exceso de aire tiende a ser suministrado para mantener una adecuada concentración de oxígeno para favorecer el metabolismo de los microorganismos (Webb, 1964).

El requerimiento teórico de aire para la oxidación de azúcares reductores por el metabolismo de Candida utilis es de 2.26 litros/min, según se menciona en la sección 3.1 con los correspondientes cálculos en el Anexo A.

2.4.2 POTENCIA CONSUMIDA POR EL SISTEMA DE AGITACION

Para evaluar la potencia del motor que moverá el eje del agitador se hace necesario conocer el número de potencia, N_p , concepto desarrollado por Rushton et. al. 1950. Ellos midieron experimentalmente los requerimientos de potencia en la agitación de líquidos con varios tipos de agitadores, correlacionando el número de potencia y el número de Reynolds modificado para agitadores, N_{Re} . Estas relaciones se presentan en la Figura 2 para varios tipos de agitadores y diferentes factores de forma. El procedimiento de cálculo de la potencia consiste en evaluar el

número de Reynolds y de acuerdo al tipo de agitador a utilizar con los respectivos factores de forma tanto del agitador como del tanque de agitación, se obtiene de la figura ya mencionada el número de potencia, con el cual se puede calcular la potencia requerida para el sistema de agitación, mediante la siguiente relación (Aiba et. al., 1965):

$$N_p = \frac{P g_c}{n^3 D_1^5 \rho} \quad (1)$$

Donde:

N_p : Número de potencia.

P : potencia requerida.

ρ : densidad del caldo.

n : revoluciones por segundo.

D_1 : diámetro del agitador.

g_c : factor de conversión gravitacional.

El número de Reynolds modificado para agitadores se calcula mediante la siguiente ecuación (Aiba et. al., 1965):

$$N_{Re} = D_1^2 n \rho / \mu \quad (2)$$

Siendo:

D_1 : diámetro del agitador.

n : revoluciones por segundo.

ρ : densidad del caldo.










μ : viscosidad del caldo.

Quando el sistema empleado no es geoméricamente semejante a cualquiera de los representados en la Figura 2, se hace necesario que el agitador utilizado guarde semejanza geométrica con alguno cuya curva característica esté incluida en el gráfico, y se tengan en cuenta de alguna forma los cambios experimentados en sus proximidades. Los tres cambios más importantes a estimar son los debidos a los deflectores, a la altura del líquido y al diámetro del agitador. La potencia consumida por un agitador que trabaja en depósitos provistos de deflectores puede calcularse con bastante exactitud por el gráfico, eligiendo la curva correspondiente al agitador pertinente, para el caso de que trabaje en un depósito con deflectores, aunque el diámetro de este último y la altura del líquido sean distintos a los del primero (Brown et. al., 1965).

Pero si el agitador se ha de emplear en un recipiente con cortacorrientes y los datos de la Figura 2 son para uno que carezca de ellos, la potencia prevista será tan sólo de la mitad a la cuarta parte de la realmente necesaria para la agitación con deflectores. Y a la inversa; si el gráfico corresponde a un agitador con cortacorrientes y se le quiere utilizar para un tanque sin ellos, la potencia con él calculada será de dos a cuatro veces mayor que la realmente necesaria. El aumento del diámetro del tanque o de la profundidad del líquido se traduce, cuando no existen deflectores, en un aumento del consumo de potencia. Las correcciones para tales cambios de forma se obtienen, de manera aproximada, multiplicando el valor del consumo que da el gráfico por:

$$\sqrt{\left(\frac{Dt}{Di}\right)\left(\frac{Hl}{Di}\right)_{\text{deseado}} / \left(\frac{Dt}{Di}\right)\left(\frac{Hl}{Di}\right)_{\text{gráfico}}} \quad (3)$$

En donde, Dt representa el diámetro del tanque y Hl la profundidad del líquido y las relaciones entre estas dimensiones características del sistema son las conocidas como factores de forma (Brown et. al.,1985).

Tipo de rodete	$\frac{D_r}{D_i}$	$\frac{Z_i}{D_i}$	$\frac{Z_i}{D_i}$	Hojas cort.		N.º	Ref.	Tipo de rodete	$\frac{D_r}{D_i}$	$\frac{Z_i}{D_i}$	$\frac{Z_i}{D_i}$	Hojas cort.		N.º	Ref.
				N.º	w/D _i							N.º	w/D _i		
Turbina de 6 palas planas $0,25D_i$ 	3	2,7-3,9	0,75-1,3	4	0,17	1	7	Dos paletas 	4,35	4,3	0,29	3	0,11	8	3
Igual que en el n.º 1	3	2,7-3,9	0,75-1,3	4	0,10	2	7	Cuatro paletas. Ver n.º 8	3	3	0,5	0		16	2
Igual que en el n.º 1	3	2,7-3,9	0,75-1,3	4	0,04	4	7	Dos paletas. Ver n.º 8	3	3,2	0,33	0		20	4
Igual que en el n.º 1; a = 1, b = 40	3	2,7-3,9	0,75-1,3	0		14	7	Dos paletas. Ver n.º 8	3	2,7-3,9	0,75-1,3	4	0,10	10	7
Turbina de 6 palas curvas Tam. de palas como en n.º 1 	3	2,7-3,9	0,75-1,3	4	0,10	3	7	Dos paletas. Ver n.º 8 Ancho de paleta = 0,13 D _i	1,1	0,5	0,19	0		29	10
Turbina 6 palas forma flecha Tam. de pala como en n.º 1 	3	2,7-3,9	0,75-1,3	4	0,10	5	7	Dos paletas. Ver n.º 8 Ancho de paleta = 0,17 D _i	1,1	0,4	0,10	0		29	10
Turbina radial con anillo deflector 				0		7	9	Hélice de 3 palas Paso de la hélice = 2 D _i 	3	2,7-3,9	0,75-1,3	4	0,10	15	7
Turbina cerrada, de 6 palas. Anillo deflector de 20 hojas	2,4	0,74	0,9	0		11	6	Igual que el n.º 15; a = 1,7, b = 18	3,3	2,7-3,9	0,75-1,3	0		21	7
Semejante, mas no idéntica a la n.º 11	3	2,7-3,9	0,75-1,3	0		12	7	Igual que el n.º 15, pero con paso = 1,33 D _i	16			3	0,06	18	5
Igual que la 12, pero sin anillo deflector.	3	2,7-3,9	0,75-1,3	4	0,10	13	7	Igual que el n.º 15, pero con paso = 1,09 D _i	9,6			3	0,06	23	5
Turbina axil de 8 palas con ángulo de 45°. Ver n.º 17 	3	2,7-3,9	0,75-1,3	4	0,10	9	7	Igual que el n.º 15, pero con paso = 1,05 D _i , a = 2,3, b = 18	2,7	2,7-3,9	0,75-1,3	0		27	7
Turbina axil 4 palas con ángulo de 60° 	3	3	0,50	0		17	2	Igual que el n.º 15, pero con paso = 1,04 D _i , a = 0, b = 18	4,5	2,7-3,9	0,75-1,3	0		25	7
Turbina axil de 4 palas con ángulo de 45°. Ver n.º 17.	5,2	5,2	0,87	0		19	2	Igual que el n.º 15, pero con paso = D _i	3	2,7-3,9	0,75-1,3	4	0,10	24	7
Igual que la n.º 19	2,4-3,0	2,4-3,0	0,4-0,5	0		22	2	Igual que el n.º 15, pero con paso = D _i ; a = 2,1, b = 18	3	2,7-3,9	0,75-1,3	0		26	7
Disco con 16 paletas 	2,5	2,5	0,75	4	0,25	6	1	Igual que el n.º 15, pero con paso = D _i	3,8	3,5	1,0	0		28	8

D_i = diámetro del rodete; D_r = diámetro del depósito; n = n.º de revoluciones por segundo; w = ancho de las hojas del cortacorrientes; Z_i = altura que está el rodete sobre el fondo del depósito; Z_i = altura del nivel del líquido en el depósito.

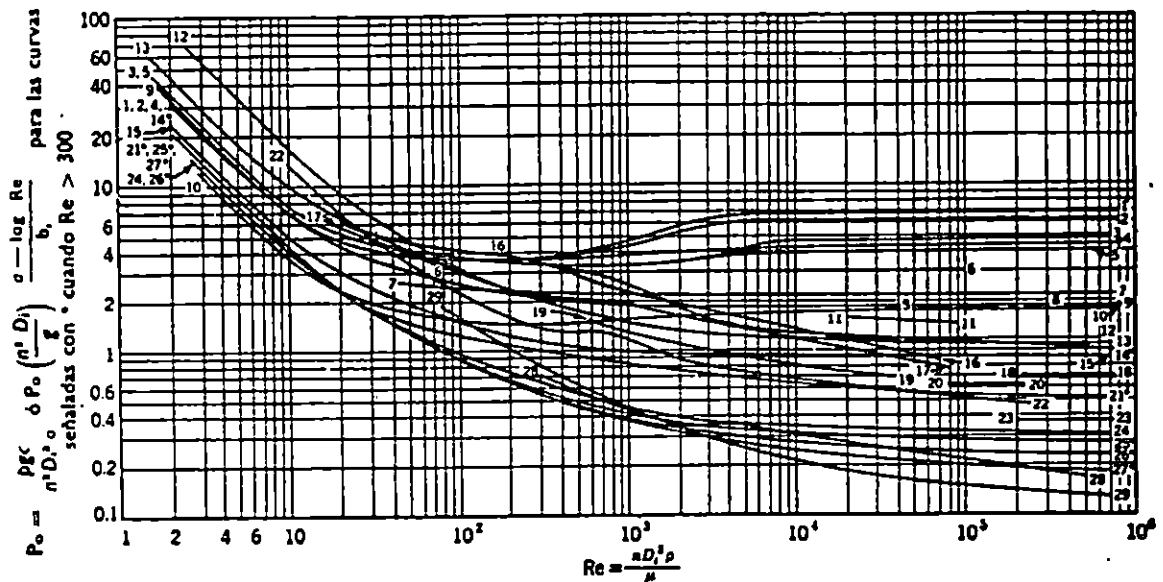


FIGURA 2: Consumo de energía de diversos agitadores, expresado por el parámetro de potencia, Po, y del número de Reynolds, Re. Para las curvas señaladas con *, la influencia de la superficie libre es considerable, por lo que se ha tenido en cuenta el número de Froude, Fr = g/n²D_i, para Re superiores a 300.

FUENTE: Brown et. al., 1965.

2.5 DISEÑO Y CONSTRUCCION DE LOS BIO-REACTORES A UTILIZAR EN LA PRODUCCION DE Candida utilis A ESCALA DE 5 Y 10 LITROS EN REGIMEN DISCONTINUO.

En ésta sección se presentan los criterios empleados en el diseño y posterior construcción de los bio-reactores utilizados en las pruebas de escalamiento de producción de Candida utilis en jugo de desechos vegetales, seleccionándose como escalas de trabajo volúmenes de sustrato de 5 y 10 litros.

2.5.1 TANQUES DE REACCION

Dentro de los materiales disponibles para utilizar en la construcción de los tanques de reacción se evaluaron los siguientes: vidrio, acero inoxidable y plástico. Los criterios seguidos fueron:

- (a) No toxicidad sobre el microorganismo a utilizar.
- (b) De fácil manejo y adaptabilidad a las necesidades de dimensionamiento y acoplamiento de accesorios.
- (c) Resistencia al pH y a la corrosividad del medio de reacción.
- (d) De bajo costo.

En base a los criterios arriba mencionados se seleccionó cloruro de polivinilo (PVC) para ser empleado en la construcción de los tanques.

Los tanques se hicieron en forma de cilindros circulares verticales, fueron cerrados herméticamente por la parte inferior y se dejaron abiertos en su parte superior.

Para mantener una relación de $H_L = (1.2)D_t$, en donde H_L representa la altura del líquido y D_t , el diámetro del tanque (Treybal, 1988), se seleccionaron las siguientes dimensiones de acuerdo a la disponibilidad de tubería de PVC que permitía trabajar con la relación antes mencionada.

(a) Para el reactor de 5 litros resultó adecuado un diámetro $D_t = 152.4$ mm (6 plg), obteniéndose una altura de líquido $H_L = 274.1$ mm (10.79 plg), para una relación $H_L = 1.8 D_t$.

(b) Para el reactor de 10 litros, un diámetro $D_t = 203.2$ mm (8 plg) fué

apropiado, con una altura $H_L = 308.4\text{mm}$ (12.14 plg), obteniéndose una relación $H_L = 1.5 D_t$.

Para lograr una holgura con respecto a la capacidad volumétrica del tanque equivalente al 50%, la altura final de ambos tanques fue de 500 mm con el objeto de estandarizar y poder utilizar para ambos casos una misma estructura de soporte. El objetivo de sobredimensionar la altura es por la formación de espuma y por el burbujeo producido en la mayoría de procesos microbiológicos aireados.

Los tanques de reacción se muestran en la Figura 3 y en el Anexo B los diagramas utilizados para la construcción de los bio-reactores de 5 y 10 litros.

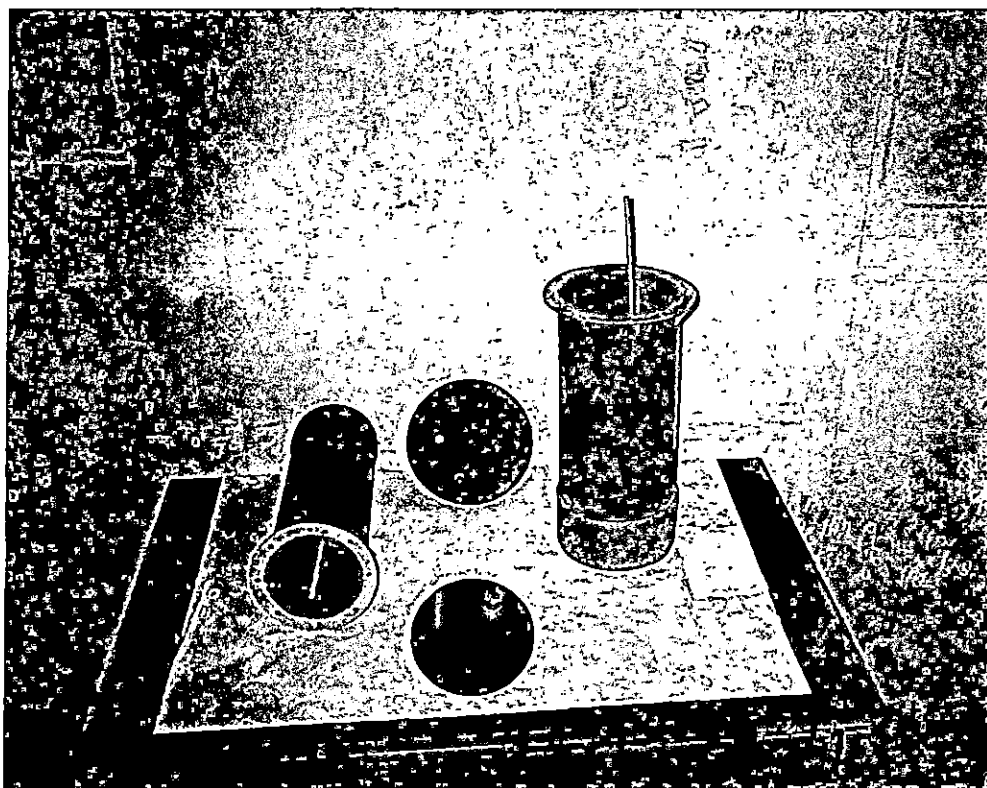


FIGURA 3: Tanques de reacción con sus sellos de hule para volúmenes de 5 y 10 litros construidos para la producción experimental de Candida utilis

2.5.2 SELLOS

Los sellos fueron construidos de hule, en forma circular y con un espesor de 30 mm, los cuales se fijan a los tanques mediante un sistema combinado de bridas y mariposas. Presentan 4 orificios u oquedades, 3 de estas de 9.5 mm (3/8 plg) y 1 de 12.7 mm (1/2 plg). Las tres primeras para la inserción del eje del agitador, entrada de aire y

escape del mismo; la última de estas para la carga del inóculo y toma de muestras.

El objetivo de los sellos es mantener el interior del tanque de reacción libre de cualquier posible contaminación proveniente del entorno en el que se encuentra el bio-reactor y al mismo tiempo permitir la introducción de aire, carga del inóculo, toma de muestras, rotación del eje del agitador y escape de aire, tal y como ya se mencionó anteriormente. Los sellos de hule se muestran en la Figura 3.

2.5.3 AIREADOR.

Este consiste de un tubo simple de 9.5 mm (3/8 plg) construido de PVC e introducido por la parte superior del tanque, atravesando el sello de hule y cuya salida se encuentra directamente por debajo del rodete principal del agitador (ver sección 2.2). Para el suministro de aire se utilizó un compresor marca CAMPBELL HAUSFELD de 3.5 HP y con línea de corriente de 110 Voltios. Este compresor posee una capacidad máxima de suministro de aire igual a 229 L/h a una presión de descarga de 40 psig, siendo este valor muy superior al

requerimiento teórico de aire de 2.26 L/h (Sección 3.1).

2.5.4 AGITADORES.

Para producir Candida utilis en jugo de desechos vegetales se necesita un sistema de agitación mecánica capaz de mantener los sólidos en suspensión y que simultáneamente favorezca la dispersión del gas en el líquido. En virtud de lo anterior se utilizó un tipo de agitador de paletas planas inclinadas a 75°, el cual constituye un valor intermedio entre el agitador de paletas planas verticales (90°) y el de paletas inclinadas a 45°.

La longitud del rodete de un agitador de paletas es del orden del 50 al 80% del diámetro interior del tanque. El ancho de las paletas es de un sexto a un décimo de su longitud (McCabe y Smith, 1981). Para el diámetro del impulsor, D_1 , se seleccionó la relación $D_1 = 0.5 D_t$, en base a que esta relación no permite contacto alguno entre las paletas del agitador y la tubería de entrada de aire al reactor. El ancho de las paletas se calculó mediante la siguiente especificación:

$W_1 = (1/8)D_1$, donde W_1 representa el ancho mencionado.

Como la altura de líquido resultante del diseño de los tanques de reacción (sección 2.5.1) es demasiado grande como para poder ser agitado por un sólo rodete, por lo que se utilizaron dos rodetes como sistema de agitación. El impulsor inferior se colocó alejado del fondo del tanque a una distancia igual a su diámetro para permitir de esta manera la instalación del difusor de aire inmediatamente abajo de este, y separando ambos rodetes entre sí por una longitud similar (Treybal, 1988). La separación del rodete inferior con respecto al fondo del tanque y la disposición del motor en la estructura de soporte, determinaron la longitud del eje del agitador.

El número de palas por turbina es igual a 6. Tanto el eje del agitador como las turbinas fueron contruidos de acero inoxidable. En el Cuadro 6 se muestra un resumen de las dimensiones utilizadas en la construcción de los agitadores mecánicos.

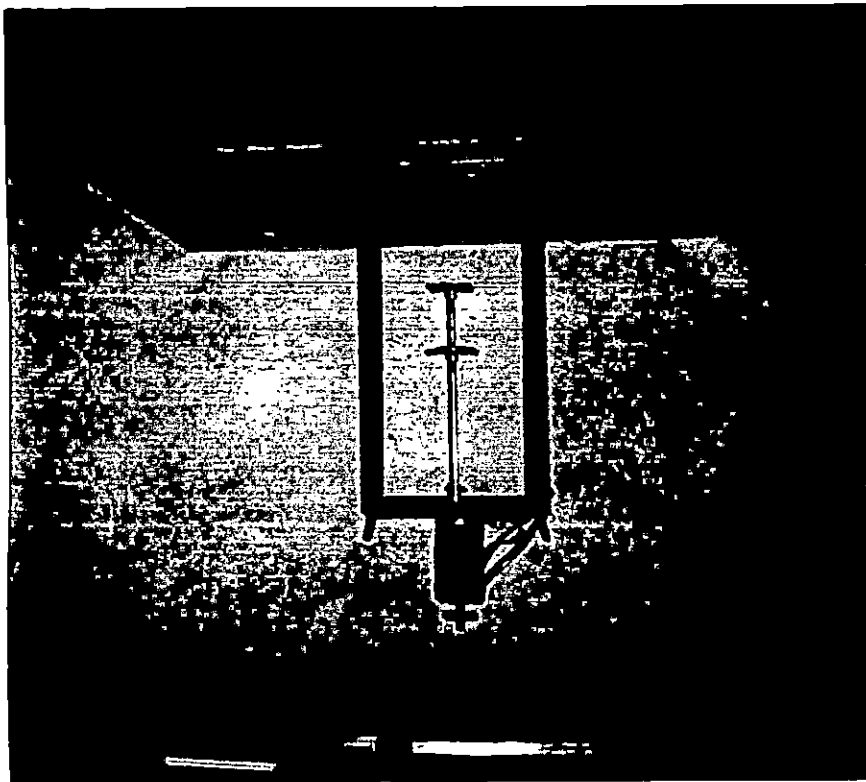
CUADRO 6
 DIMENSIONES DE LOS AGITADORES CONSTRUIDOS
 PARA LOS BIO-REACTORES DE 5 Y 10 LITROS.

DESCRIPCION	DIMENSIONES	
	5 L	10 L.
Volumen del reactor (V_r)	5 L	10 L.
Diámetro del impulsor (D_i)	76.2 mm	101.6 mm
Ancho de las paletas (W_i)	9.5 mm	12.7 mm
Altura del impulsor con respecto al fondo del tanque (H_i)	76.2 mm	101.6 mm
Distancia entre el impulsor principal y el auxiliar	76.2 mm	101.6 mm

Los requerimientos de potencia para el sistema de agitación mecánica, se evaluaron mediante el procedimiento descrito en la sección 2.4 y los cálculos se presentan en el Anexo C. Como resultados se obtuvieron las fracciones 1/15,000 y 1/3,800 HP para los reactores de 5 y 10 L, respectivamente. Dado que éstas fracciones no existen en el mercado, se utilizó un motor fraccionario de 1/15 HP, de 100 rpm y a 110 V, el cual resultó ser el equipo disponible que mejor se adaptó a los requerimientos de diseño. Por otra parte, la disminución de la demanda de potencia debida a la aireación resultó innecesario calcularla, dado que en todo caso no se habría encontrado motores de tan baja potencia (menos de

Mayores detalles en cuanto a las dimensiones utilizadas en la construcción de los bio-reactores se muestran en los diagramas del anexo B.

FIGURA 4: Detalle del sistema de agitación mecánica y su disposición sobre la estructura de soporte en donde se muestra el motor de accionamiento y el agitador con sus impulsores.



La Figura 4 muestra la disposición del sistema de agitación sobre la estructura de soporte.

1/3,800 HP).

1/3,800 HP).

La Figura 4 muestra la disposición del sistema de agitación sobre la estructura de soporte.

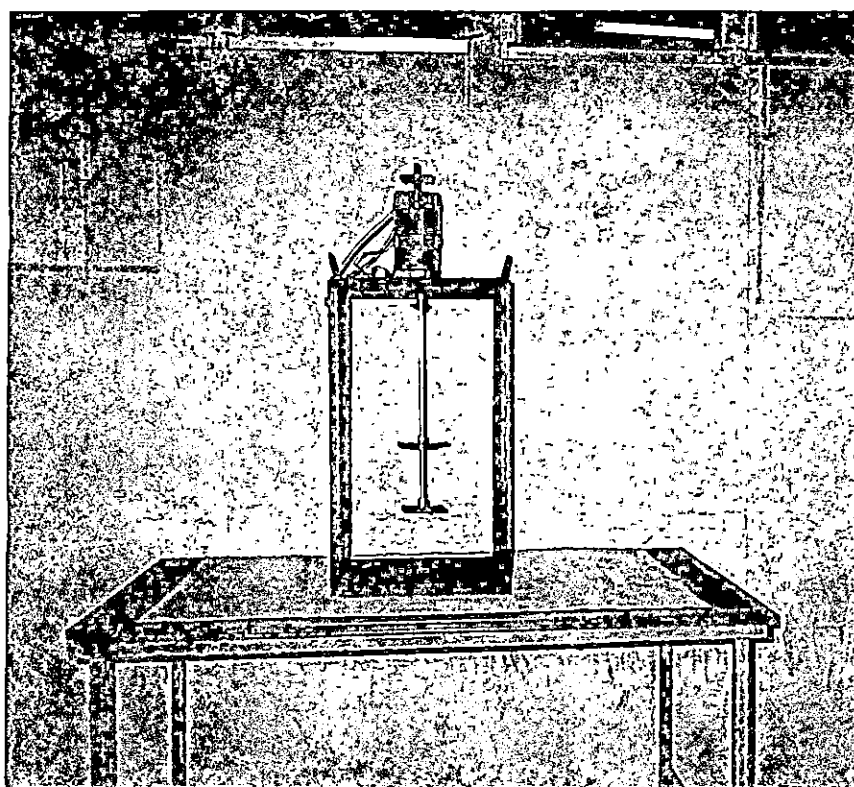


FIGURA 4: Detalle del sistema de agitación mecánica y su disposición sobre la estructura de soporte en donde se muestra el motor de accionamiento y el agitador con sus dos impulsores.

Mayores detalles en cuanto a las dimensiones utilizadas en la construcción de los bio-reactores se muestran en los diagramas del anexo B.

2.5.5 FILTROS BIOLÓGICOS

Se dispuso de dos tipos de filtros biológicos para eliminar la carga microbiológica del aire de alimentación al bio-reactor. El primer tipo fue diseñado para retener las partículas sólidas suspendidas en el aire y el segundo para destruir la materia orgánica que pudiera haber escapado del primer filtro. La Figura 5 muestra una disposición de ambos sistemas de filtros utilizados.

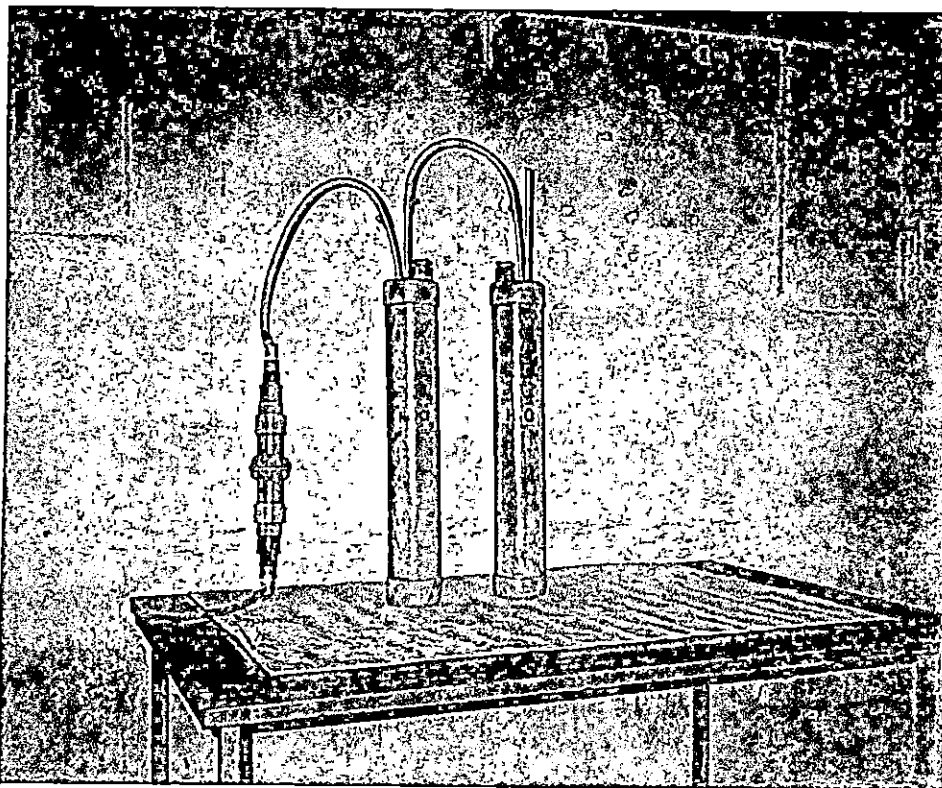


FIGURA 5: Disposición del sistema de filtros de aire. El elemento del extremo izquierdo constituye el filtro mecánico; los dos restantes conforman el filtro germicida.

a) FILTRO MECANICO

Aiba et. al. (1965), desarrollaron pruebas experimentales utilizando filtros de extremos cónicos con lechos o camas interiores de fibra de vidrio, para la remoción de Serratia marcescens contenida en el aire, bajo condiciones controladas, obteniendo una eficiencia de remoción del 95%.

El filtro mecánico utilizado en éste trabajo se basó en el concepto anterior, empleando camas de algodón en lugar de fibra de vidrio por no tener disponibilidad de esta última. Se consideraron los detalles de construcción empleados por los investigadores ya citados y se adaptaron a los objetivos de éste trabajo.

El filtro fue construido de PVC y consta de 3 secciones. El aire, proveniente del compresor entra al filtro por una sección cónica de 130 mm de largo, se expande a través de esta y llega a una sección cilíndrica de 160 mm de largo y 58 mm de diámetro en la que se encuentran 2 camas de fibra de algodón de 80 mm de largo cada una, separadas entre sí por

una malla metálica; al inicio y al final de ésta sección se encuentran otras mallas que sirven de soporte a las ya mencionadas camas de algodón. Finalmente, el aire sale por una sección cónica reductora de 130 mm de largo, hacia el siguiente filtro del sistema.

b) FILTRO GERMICIDA.

El segundo tipo de filtro está constituido por 2 tubos cilíndricos de PVC, cerrados por ambos extremos y con 3 orificios: dos para las tuberías de entrada y salida de aire y uno para la carga y descarga de la solución germicida o de la solución lavadora según sea el caso. Los tubos presentan una altura de 572 mm y un diámetro de 92 mm. El primer tubo, contenía una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 5% v/v ocupando el 50% de la capacidad del tubo, en volumen. El segundo constituye una trampa de agua para retener la solución de hipoclorito que pudiera ser arrastrada por el aire desde el primer tubo. Los filtros están dispuestos de tal manera que el aire entra al primer tubo, burbujea a través del mismo y sale hacia el segundo tubo

del cual pasa hacia el sistema de reacción ya estéril (Ver Figura 5).

Finalmente, la disposición global del equipo de reacción se muestra en la Figura 6.

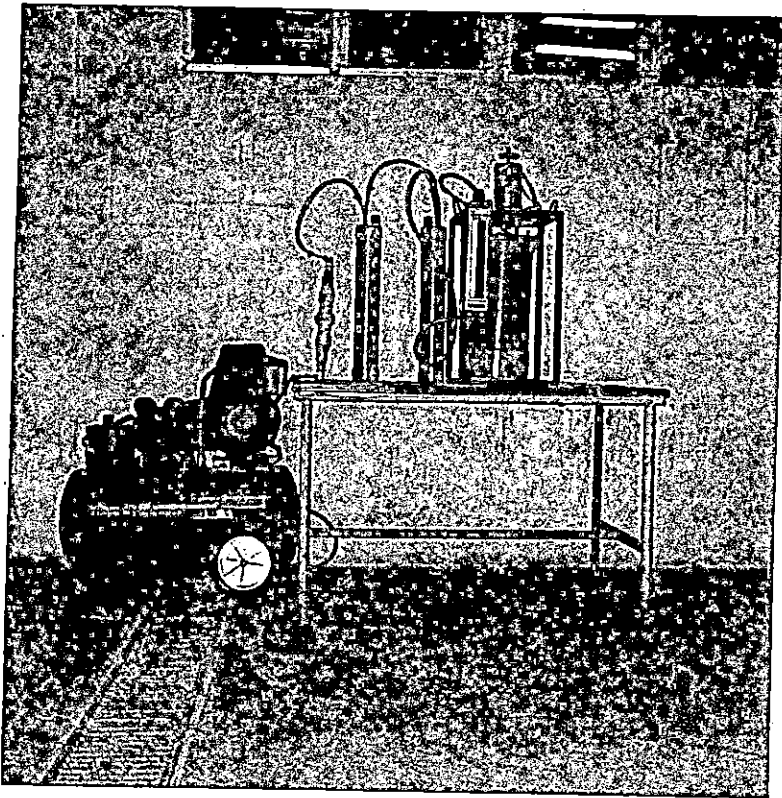


FIGURA 6: Disposición global del equipo de reacción en donde se muestra la ubicación de cada uno de los componentes integrantes.

CAPITULO III

EVALUACION DE LOS PARAMETROS DE OPERACION DEL REACTOR DE 5 LITROS CONSTRUIDO

En un proceso oxidativo en el cual se da una intervención directa de microorganismos en la transformación química de un determinado substrato, la velocidad y eficiencia con la que el oxígeno suministrado es capaz de ser utilizado por el medio, es de gran importancia; ya que de este parámetro depende en gran medida la extensión de la reacción de oxidación. Siendo el K_{La} , un indicador de la efectividad con la que un sistema de aireación es capaz de favorecer la transferencia de oxígeno molecular al medio de reacción, su evaluación se hace indispensable para un sistema de reacción a utilizar.

3.1 DETERMINACION DEL FLUJO DE AIRE A SUMINISTRAR

El flujo de aire que se suministra a un proceso de reacción aeróbico como el estudiado en este trabajo, es una de las variables más importantes en cuanto a los rendimientos de producción que se puedan obtener, por lo que es indispensable contar con un instrumento de medición adecuado a tal propósito.

De acuerdo a la concentración de azúcares reductores

presentes en el sustrato utilizado (Ver sección 4.4), en un volumen de 5000 ml de jugo de desechos se tienen como promedio 165 g de azúcares reductores, los que necesitarían reaccionar con 176 g de oxígeno para su total oxidación, lo que implicaría para 36 horas de operación del bio-reactor, 3.42 L de oxígeno/hóra; sin embargo, se ha encontrado que en un sistema de aireación únicamente el 12% del oxígeno suministrado es absorbido por el sistema (Harrison, 1971), requiriendo por tanto suministrar un excedente de oxígeno equivalente al 88%, para asegurar que todo el azúcar presente reaccione estequiométricamente con el oxígeno, siendo necesario un nivel de aireación de 2.26 litros de aire/minuto, de acuerdo a cálculos presentados en el anexo A.

Para medir el flujo de aire se seleccionó un rotámetro marca SCHUTTE AND KOERTING CO., como el que se muestra y describe en el anexo D; aparato que resultó idóneo para la medición de los flujos de aire utilizados en este trabajo, permitiendo operar hasta con un máximo de 37.8 L de aire/min. En el anexo D se presenta también el método que fue utilizado para calibrar el rotámetro empleado.

3.2 EVALUACION DEL COEFICIENTE GLOBAL DE TRANSFERENCIA DE MASA PARA LA FASE LIQUIDA, K_{La} .

En todo proceso microbiológico del tipo aeróbico se busca, por medio de un sistema de aireación, llevar suficiente O_2 a los microorganismos, para que éstos se desarrollen y se reproduzcan.

En ese sentido, es importante evaluar la efectividad del sistema de aireación, desde el punto de vista de su diseño mecánico, con respecto a su capacidad de transporte de O_2 hasta los microorganismos. Esta comprobado que la resistencia principal a la transferencia de masa se encuentra en la fase líquida (Treybal, 1988), por lo que el parámetro más adecuado para medir la capacidad de transferencia de oxígeno, es el Coeficiente Global de Transferencia de Masa para la fase líquida, K_L , en función del área de transferencia "a", por ser ésta difícil de evaluar.

En términos matemáticos, el K_{La} viene dado por la siguiente ecuación (Treybal, 1988):

$$N = K_{La} (C_g - C_l) \quad (4)$$

Siendo,

N = Velocidad de transferencia de O_2 , mMO_2/h .

Kla = Coeficiente Global de Transferencia de masa para la fase líquida, $mMO_2/(h-L)$.

C_g = Concentración de Oxígeno en la interfase gas-líquido, mMO_2/L .

C_l = Concentración de oxígeno en el líquido, mMO_2/L .

3.2.1 METODO DE EVALUACION DEL Kla .

Es muy usual en la práctica, medir la eficiencia de un sistema de aireación, sin importar el microorganismo para el cual será utilizado. Para dicho propósito, el método de oxidación del sulfito de sodio, cuya marcha analítica se presenta en el anexo E, es ampliamente utilizado y se basa en el hecho de que el sulfito de sodio (Na_2SO_3) es casi instantáneamente oxidado por el oxígeno disuelto, en presencia de trazas de metales pesados como catalizadores. Esta reacción se lleva a cabo mucho más rápido de lo que el oxígeno puede ser disuelto, por lo tanto en un amplio rango de concentraciones de sulfito de sodio, la velocidad de oxidación medida, puede

interpretarse como la velocidad de absorción (Webb, 1962).

Para medir la eficiencia del bio-reactor, éste debe limpiarse adecuadamente y llenarse según su capacidad con una solución de sulfito de sodio conteniendo trazas de sales de cobre o de cobalto. El aire se introduce y se mide su flujo con un rotámetro, agitándose mecánicamente el sistema. Se toman muestras de la solución cada cierto tiempo, cuyo intervalo dependerá del flujo de aire suministrado. Estas muestras se tratan con un exceso de yodo y titulan por retroceso con tiosulfato de sodio 1N. Los resultados se calculan basados en la masa de sulfito oxidado contra el tiempo de reacción. Para la mayor parte de los experimentos, se obtiene una relación lineal de la forma de la ecuación 5, en la que se considera que el término "C1" es igual a cero, dado que la oxidación del sulfito es casi instantánea (no hay O₂ disuelto por la inmediata oxidación del sulfito), quedando finalmente la relación (Guerrero y Aguilar, 1992):

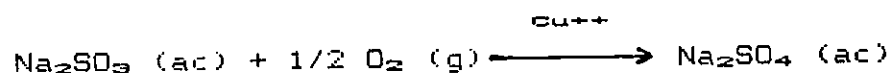
$$N = K_1 a C_g \quad (5)$$

Los valores típicos para el KLa oscilan entre 70 $mM O_2/h-L$, para aireaciones moderadas, hasta 400 $mM O_2/h-L$, para sistemas con agitación vigorosa con suministro de aire en exceso (Webb, 1962).

En base al contenido de azúcares reductores presentes en el jugo de desechos vegetales, para oxidar todos los azúcares se necesitaría operar como mínimo, con un Kla igual a 30.55 $mM O_2/h-L$ para 5 L de substrato y 36 horas de operación, según cálculos presentados en el anexo A.

3.2.2 CALCULOS Y RESULTADOS DE LA EVALUACION DEL Kla .

Para la reacción de oxidación del sulfito de sodio, se utilizó como catalizador, iones de cobre, bajo la forma de sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$). La reacción que se verifica es la siguiente:



Para la evaluación del Kla , se hicieron pruebas empleando soluciones de sulfito de sodio 0.1 N y 0.2 N, siendo las concentraciones de ión Cobre (Cu^{++}) 1×10^{-4} M y 2×10^{-4} M, respectivamente.

El sulfito de sodio se cuantificó utilizando la siguiente expresión (Guerrero y Aguilar, 1992):

$$\%p/vNa_2SO_3 = \frac{(V_I N_I - V_{T\theta} N_{T\theta}) \text{ Meq-g } Na_2SO_3}{V_m} \times 100 \quad (6)$$

Siendo,

% p/v Na_2SO_3 = porcentaje peso-volumen de sulfito de sodio de la solución.

V_I = Volumen utilizado en la solución de yodo.

N_I = Normalidad de la solución de yodo.

$V_{T\theta}$ = Volumen gastado de la solución titulante de tiosulfato de sodio.

$N_{T\theta}$ = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

V_m = Volumen de muestra.

$$\text{Meq - g } Na_2SO_3 = \frac{PM \text{ } Na_2SO_3}{2000}$$

El valor del K_{la} se calculó según la siguiente relación (Guerrero y Aguilar, 1992):

$$K_{la} = \frac{\text{sulfito de sodio inicial} - \text{sulfito de sodio final}}{\text{tiempo}} \quad (7)$$

Empleando la concentración de Na_2SO_3 en %p/v y el tiempo, t , en horas. Luego mediante factores de conversión adecuados se obtiene el K_{la} en $\text{mMO}_2/\text{h-L}$.

Los resultados obtenidos empleando los criterios anteriormente expuestos se resumen en el Cuadro 7. En este cuadro se puede observar que para el rango de niveles de aireación evaluados el K_{la} aumenta con el incremento de los flujos de aireación (Figura 7), no pudiéndose definir el valor máximo de K_{la} para el sistema construido debido a limitaciones técnicas del compresor utilizado al no tener capacidad para evaluar flujos de aire arriba de 40 L/min; obteniéndose un K_{la} de 31.01 $\text{mMO}_2/\text{h-L}$ para el máximo flujo de aire evaluado de 40 L/min; valor que supera los requerimientos teóricos de suministro de oxígeno para la producción de Candida utilis (Anexo A), facilitando de esta manera el uso del equipo diseñado para la evaluación del efecto del flujo de aire en el rendimiento de producción de la levadura de interés.

CUADRO 7
 RESULTADOS DE LA EVALUACION DEL KIA POR EL METODO DE OXIDACION
 DEL SULFITO DE SODIO PARA EL BIODREACTOR DE 5 LITROS

Prueba	Concen- tración inicial de la solución de sulfito (N)	Volumen de muestra (ml)	Nivel de airea- ción (L/min)	Tiempo de reacción (h)	Volumen de Tiosul- fato inicial (ml)	Na ₂ S O ₂ % p/v inicial	Volumen de Tiosulfato final (ml)	Na ₂ S O ₂ final % p/v	KIa mM O ₂ / h-L
1	0.1	10	5	6.00	15.7	0.58609	16.1	0.56088	0.166706
2	0.1	10	10	5.50	15.6	0.59239	24.8	0.01260	4.183173
3	0.1	10	20	2.00	16.3	0.54828	24.8	0.01260	10.628568
4	0.1	10	30	1.00	16.1	0.56088	23.8	0.07562	19.256344
5	0.1	10	40	0.50	16.2	0.55458	22.4	0.16385	31.010309
6	0.2	5	20	0.75	15.9	2.29396	20.1	1.23520	12.004064
7	0.2	5	30	1.00	20.4	1.15958	24.5	0.12604	20.506741

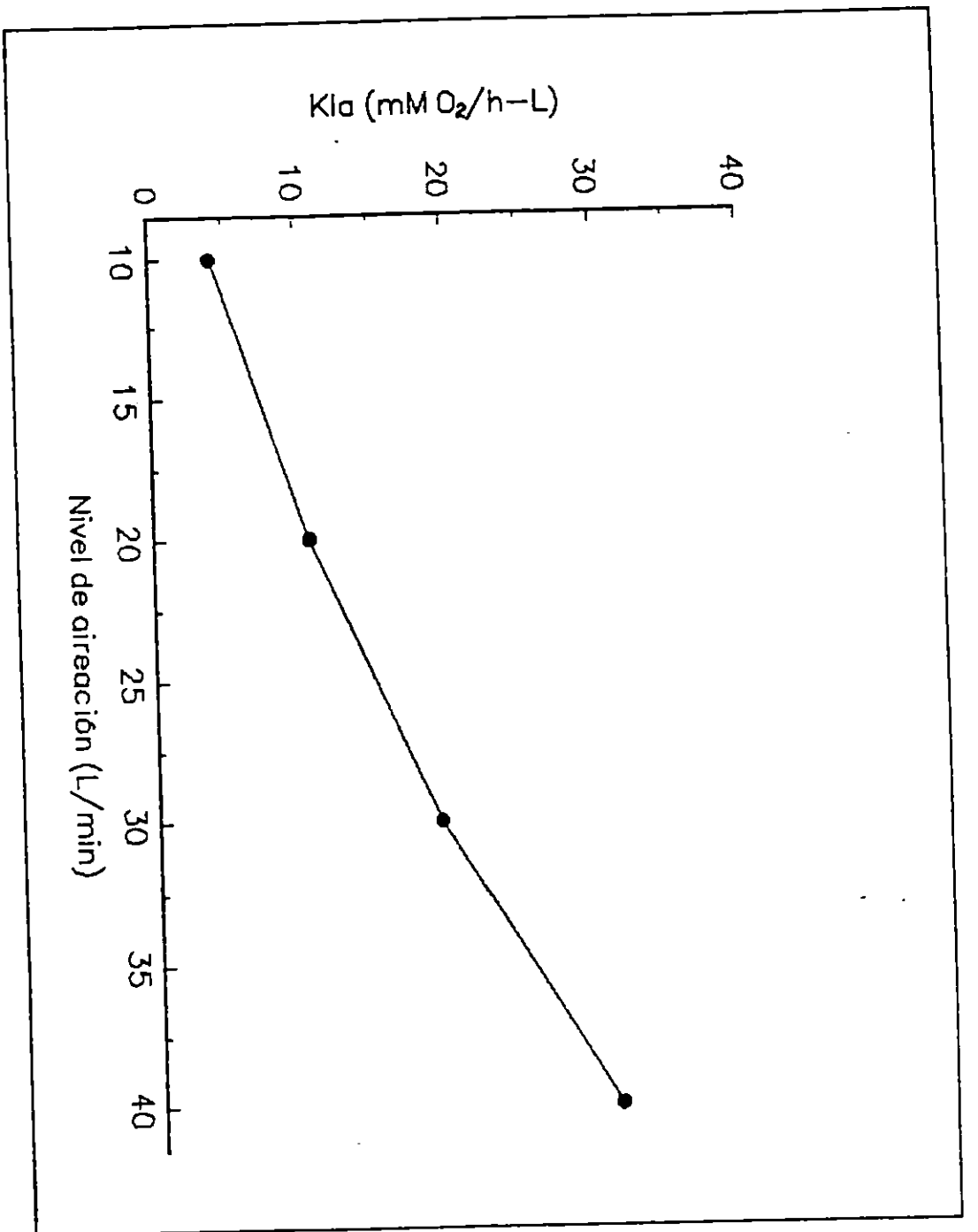


FIGURA 7: Efecto de la variación del flujo de aire sobre los valores del coeficiente global de transferencia de masa para la fase líquida, $K_L a$.

CAPITULO IV

PRODUCCION DE Candida utilis EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES A ESCALA DE 5 LITROS EN REGIMEN DISCONTINUO

En las pruebas de producción se utilizó un volumen de substrato de 5000 ml. Se hicieron pruebas para evaluar los azúcares reductores presentes al inicio y final del proceso y se cuantificaron los rendimientos de producción de levadura a diferentes flujos de aire. En las secciones de la 4.1 a la 4.6 se describe con detalle el desarrollo del proceso desde la preparación de la cepa de Candida utilis hasta el secado y pulverizado de la levadura obtenida.

4.1 MANTENIMIENTO DE LA CEPA DE Candida utilis.

La cepa utilizada en el desarrollo experimental del presente trabajo de investigación fué obtenida del cepario de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de El Salvador, donde a su vez la adquirieron de la American Type Culture Collection, U.S.A., (CEPA ATCC N°9226). Para su mantenimiento se empleó agar de papa y dextrosa (PDA) como medio de cultivo, en tubos de ensayo roscados, aplicando la técnica de formación de bisel para obtener una amplia área de crecimiento para la levadura.

Los repiques se realizaron cada 15 días y por duplicado, para disponer de cultivos activos para inocular los lotes de producción. Antes de cada inoculación, se prepararon frotis de la levadura y se observaron en un microscopio para verificar la ausencia de organismos contaminantes. Los cultivos fueron incubados a 30°C durante 18-24 horas y luego, mantenidos en refrigeración.

4.2 OBTENCION DEL SUBSTRATO

La obtención del substrato involucró una serie de pasos o etapas que van desde la recolección de los residuos vegetales hasta la preparación final que se describen de la sección 4.2.1 a la 4.2.4.

4.2.1 RECOLECCION DE LOS RESIDUOS VEGETALES.

La materia prima para la obtención del substrato consistió de frutas y verduras desechadas en el mercado San Miguelito, ubicado entre la Avenida España y 2ª Avenida norte, Barrio San Miguelito, San Salvador. Se seleccionó este mercado por estar situado cerca del laboratorio de la Escuela de Ingeniería Química y también porque los residuos vegetales de dicho mercado presentan un mayor porcentaje de frutas que los otros mercados

capitalinos (Guerrero y Aguilar, 1992), lo cual asegura un contenido adecuado de azúcares reductores para el crecimiento y reproducción de la levadura Candida utilis.

Los desechos vegetales se obtuvieron con la colaboración de un miembro del personal de limpieza del mercado antes mencionado, quien se encargó de recolectar las frutas y hortalizas desechadas por las vendedoras, las cuales se depositaban en sacos de nylon para luego ser transportados al lugar de trabajo. La recolección de los desechos se realizaba el día anterior al de prensado para minimizar los efectos de la oxidación de los azúcares reductores por microorganismos naturales y contaminantes.

Por cada lote de 5 litros de substrato se utilizaron de 3 a 4 sacos de aproximadamente 42 kilos cada uno, dependiendo de la variedad de frutas y de su estado de descomposición.

Por la época del año en que se llevó a cabo la recolección de los residuos vegetales, las variedades predominantes fueron: piña, sandía, papaya, melón, pepino, tomate, remolacha y

guisquil.

4.2.2 PREPARACION DE LOS DESECHOS PARA LA EXTRACCION DEL JUGO.

Los desechos recolectados se sometieron a un proceso de clasificación y limpieza manual. Con la limpieza se eliminaron semillas y se verificó la ausencia de componentes vegetales tóxicos para la levadura tales como cebolla, rábano y semilla de aguacate (Guerrero y Aguilar, 1992). Además se limpió de tierra y de basuras como plásticos, papel, etc., que pudieran interferir en el proceso de extracción del jugo. Durante la clasificación se eliminó toda aquella fruta y hortaliza que por su estado de descomposición se consideraba inservible para el propósito de este trabajo.

Una vez realizada la limpieza y clasificación de los residuos vegetales se procedió a lavarlos con abundante agua potable. Se continuó con la reducción de tamaño efectuando un picado manual hasta obtener trozos, de tamaño promedio de 1 cm de arista.

Para hacer una carga de 5 litros de substrato se necesitaron de 25 a 30 kg de desechos vegetales limpios.

4.2.3 EXTRACCION DEL JUGO DE LOS DESECHOS VEGETALES

El jugo de los desechos vegetales fue obtenido por medio de prensado, utilizando una prensa hidráulica marca Soil Test Inc. Evanston, Ill., USA. La capacidad de la prensa es de alrededor de 1.5 kilos por carga y dependiendo de la eficacia de la operación manual, puede realizarse una carga de prensado cada 8 minutos.

El rendimiento de extracción según Guerrero y Aguilar (1992) es de 296 ml/kg; rendimiento que podría mejorarse al utilizar un equipo adecuado de extracción para jugo de vegetales. Dado que en el proceso con la prensa hidráulica se notó que el residuo sólido aún contiene cierta cantidad de jugo y que el filtro de dicha prensa presenta diámetros de orificios muy grandes permitiendo el paso de sólidos no deseables en el jugo.

4.2.4 PREPARACION DEL SUBSTRATO.

El jugo se esterilizó para detener la oxidación que puedan causar las enzimas propias de frutas y hortalizas, y porque además el calentamiento favorece la floculación de sólidos suspendidos que a su vez favorece la separación de los mismos por centrifugación; dando lugar a la obtención de un jugo con un mínimo de sólidos suspendidos que podrían interferir durante el proceso en la transferencia de oxígeno a las levaduras debido a la resistencia que representan.

Luego que el jugo se centrifugó para separar los sólidos floculados, se esterilizó nuevamente para minimizar los efectos de cualquier posible contaminación durante el manejo.

El jugo se enfrió a temperatura ambiente antes de cargarlo al reactor y se tomó una muestra para evaluar los azúcares reductores iniciales, para lo cual se empleó el método de Lane - Eynon, cuya técnica se detalla en el anexo F; éstos se determinaron antes de cargar e inocular el reactor y al final de cada prueba de producción, luego de separar la levadura.

Los valores obtenidos para cada lote producido se presentan en el cuadro 8 de la sección 4.7 en el cual se puede observar que el contenido de azúcares reductores iniciales para todos los lotes utilizados se mantuvo constante con un valor igual a 165g para un porcentaje p/v del 3.3% en el substrato, a excepción del lote 3 que reporta un valor menor (130 g equivalentes a un 2.6% p/v); esto probablemente se deba a la variedad de fruta predominante o por el grado de oxidación que podían haber sufrido los azúcares reductores antes de su procesamiento.

4.3 CONDICIONES DE OPERACION DEL PROCESO DE PRODUCCION DE Candida utilis.

Para llevar a cabo la carga de un lote de producción de Candida utilis, fue necesario el control de ciertas variables de operación, tales como: pH, temperatura y concentración de azúcares reductores.

4.3.1 TEMPERATURA

La condición óptima de temperatura, para crecimiento de Candida utilis, se ubica en el rango de 30 a 32°C (Guerrero y Aguilar, 1992); durante su producción se trabajó a temperatura

ambiente, la cual osciló entre 25 y 35°C. Estos valores de temperatura garantizan que durante la producción se trabajó con temperaturas cercanas a la óptima; sin necesidad de recurrir a sistemas de acondicionamiento de temperatura que al final inciden en el aumento de costos del proceso.

4.3.2 pH

Las levaduras se desarrollan en medios con un pH ácido. En el caso específico de Candida utilis, la condición óptima es un pH de 4.6 (Guerrero y Aguilar, 1992). En el presente trabajo, esta variable se ajustó a dicho valor adicionando jugo de cítricos (limón y naranja) y verificando su valor mediante el uso de un potenciómetro, marca ORION, modelo 611.

4.3.3 NUTRIENTES

Las levaduras en general, necesitan, aparte de la fuente de carbono, otros elementos para su desarrollo, los cuales son denominados nutrientes, siendo los más importantes: nitrógeno, azufre, potasio, magnesio, sodio, calcio y fósforo. Las levaduras obtienen el nitrógeno que requiere su

metabolismo para la síntesis de proteínas de fuentes orgánicas e inorgánicas. Las necesidades de azufre se satisfacen por la disponibilidad de sulfatos en el substrato, pero algunas veces se favorecen del azufre orgánico (cisteína o metionina) (Pelczar et. al., 1982).

Para el caso de utilizar jugo de desechos vegetales como substrato, el contenido de nutrientes es mayor que los requeridos por Candida utilis de acuerdo a estudios realizados (Guerrero y Aguilar, 1992). Estos resultados se presentan en el cuadro 3 de la sección 1.1; por lo que en base a estos datos se decidió no adicionar nutrientes al jugo de desechos vegetales.

4.3.4 FUENTE DE CARBONO

La fuente de carbono principal está constituida por los azúcares reductores (glucosa y fructosa) contenido en el jugo de desechos vegetales; los cuales, según los análisis realizados se encontraron a una concentración de 3.3% p/v (ver sección 4.2.4). Esta concentración suple las necesidades teóricas para Candida utilis, las cuales se reportan ser de 46 g de C/100 g de

materia seca según Guerrero y Aguilar (1992).

4.3.5 VELOCIDAD DE AIREACION

Esta fue la variable evaluada en el presente trabajo. Para ello se realizaron pruebas de producción a diferentes niveles de aireación con el objeto de poder conocer y cuantificar la incidencia de esta variable sobre el rendimiento de producción de Candida utilis a partir del jugo de los desechos vegetales en estudio. Los niveles de aireación evaluados fueron: 10, 20 y 30 litros por minuto.

Estos niveles de aireación se fijaron partiendo de los resultados de Guerrero y Aguilar (1992) quienes reportaron un rendimiento de producción de 11.15 g/L al aplicar 31.25 L/min de aire. Se fijaron valores abajo del máximo indicado a fin de verificar si no se estaba sobreaireando el sistema; pues los costos de aireación en este tipo de procesos son de los que más inciden en los costos totales de producción. Además por limitantes técnicas del sistema de aireación no fue posible evaluar niveles arriba de 30 L/min.

4.4 CARGA Y CONTROL DE LAS PRUEBAS DE PRODUCCION.

Todas las pruebas de producción se realizaron en un volumen de substrato de 5 litros y las operaciones involucradas en la puesta en marcha de los lotes de producción se realizaron en área estéril, desinfectando las superficies de trabajo con fenol, empleando solución de yodo en aerosol para desinfectar el entorno de trabajo y manteniendo área de mechero para evitar cualquier posible contaminación.

Previo a inocular el reactor, se realizaron dos acostumbramientos de la levadura a las condiciones de operación de cada prueba de producción, a volúmenes de 150 ml, el primero y a 500 ml, el segundo; éste último representa un 10% del volumen total de trabajo. Cada acostumbramiento duró 18 horas, tiempo necesario para que el microorganismo se encuentre en la fase de crecimiento exponencial, lo cual constituye una condición recomendada en este tipo de reacciones con crecimiento microbiológico.

Para preparar el primer acostumbramiento, de cada prueba de producción, se tomó un tubo de ensayo conteniendo levadura Candida utilis, de los descritos en la sección 4.1; se le agregó 5 ml de substrato; mediante agitación

manual se suspendieron las levaduras; se vertió en un frasco erlenmeyer conteniendo suficiente jugo de desechos vegetales para llegar a un volumen de 150 ml; luego de 18 horas de incubación con aireación mediante el uso de bombas similares a las utilizadas en las peceras caseras, ese volumen de reacción se depositó en otro frasco erlenmeyer conteniendo 350 ml de substrato para llegar a un volúmen final de inóculo de 500 ml luego de otras 18 horas de crecimiento y bajo condiciones de aireación similares a las del acostumbramiento inicial.

Antes de cargar el reactor éste se esterilizó empleando una solución de alcohol etílico al 70% y luego se realizó un enjuague con una pequeña cantidad de substrato, de tal forma de lavar la solución desinfectante y evitar cualquier posible efecto adverso que esta pudiese tener sobre la levadura empleada.

Para inocular el reactor, éste se cargo previamente con 4500 ml de substrato y posteriormente se vertió, sobre el mismo, el inóculo de 500 ml, obteniéndose un volumen final de 5000 ml.

Luego de inocular el reactor, se procedió a regular el flujo de aire según la condición de aireación deseada en cada una de las pruebas de producción.

El control de proceso consistió únicamente en verificar en forma periódica, el nivel de aireación, de forma tal que éste se mantuviera constante. Además, se controló el calentamiento del equipo de compresión y del motor del sistema de agitación. En caso de calentamiento, en cualquiera de esos equipos, se procedió a propiciar un enfriamiento convectivo mediante el uso de un ventilador.

El tiempo de reacción fue, en todos los casos, de 40 horas. Este tiempo se basó en la información obtenida por Guerrero y Aguilar en 1992 referente a la evaluación de la curva de crecimiento de Candida utilis en jugo de desechos vegetales (Anexo J). En dicha investigación se encontró que la fase de crecimiento exponencial luego del punto diáuxico, finalizó luego de 36 horas de reacción, y considerando una holgura técnica del 10%, por la variación de algunas condiciones de operación de éste trabajo con respecto al citado, se obtuvo el tiempo de reacción de 40 horas, asegurando con éste, que la levadura Candida utilis se encontrara en la fase de muerte.

El azúcar consumido también se evaluó a las 40 horas de producción (Cuadro 8). En la mayoría de las pruebas de producción (lotes 1, 2 y 4) el consumo total de azúcares reductores fue de 150 g; para los lotes 5 y 6 el consumo

de azúcares fue de 145 y 135 g, respectivamente; finalmente puede decirse que en promedio el 88.5% del azúcar suministrado por el jugo de desechos vegetales fue consumido.

4.5 DESCARGA DEL REACTOR Y RECUPERACION DE LA CREMA DE LEVADURA.

Una vez finalizada la reacción de producción de levadura, se procedió al proceso de descarga del reactor. Inicialmente se suspendió la inyección de aire y se desconectó la tubería que conecta el reactor con el sistema de aireación. Luego se desensambló el mecanismo de sujeción del agitador con el motor del mismo y se separó el reactor de la estructura de soporte. Finalmente, se removió el sello de hule y se procedió a la fase de recuperación de la levadura.

El caldo obtenido luego de finalizada la reacción, se centrifugó a 2,000 rpm durante 25 minutos para obtener la crema de levadura. La crema se recuperó de los recipientes de la centrífuga mediante la adición de agua estéril y empleando un frasco lavador. Esta operación de lavado se realizó de dos a tres veces, para eliminar materias extrañas y residuos del mismo substrato que pudieron haber quedado junto con la levadura luego de

separada del caldo. La levadura una vez lavada se depositó en un un erlenmeyer de 500 ml.

Esta fase debe realizarse con sumo cuidado, trabajando en área desinfectada empleando soluciones biocidas apropiadas como alcohol etílico al 70%, fenol y yodo. Además la persona que realiza la manipulación de la levadura y que ejecuta las operaciones de centrifugado y lavado, debe tomar las medidas asépticas necesarias para evitar cualquier posible contaminación, dado que la humedad con que se obtiene la crema de levadura y esta por sí misma, pueden constituir un medio propicio para el crecimiento de otros microorganismos contaminantes tales como Escherichia coli y Salmonella sp.

4.6 SECADO Y PULVERIZADO DE LA LEVADURA.

La crema de levadura obtenida se secó en estufa a temperatura constante de 51°C durante 8 horas. La crema de levadura se extendió sobre una superficie amplia y con un espesor de película de 2 a 3 mm para mejorar el tiempo de secado. La levadura debe separarse de la superficie del recipiente de secado antes de que seque por completo y cuando aún guarda cierta humedad, para evitar la adherencia de la levadura a dicha superficie, lo cual dificulta seriamente su recuperación. Después de secada,

la levadura se pulverizó empleando mortero y pistilo, hasta que se obtuvo un polvo más o menos fino y homogéneo. El paso final, consistió en pesar la levadura secada y pulverizada, para evaluar los rendimientos de producción.

4.7 PRODUCTIVIDAD, RENDIMIENTOS DE PRODUCCION Y CALIDAD BACTERIOLOGICA Y QUIMICA DE LA LEVADURA PRODUCIDA.

Todo producto destinado al consumo humano o animal debe cumplir con ciertos requerimientos nutricionales e higiénicos; en el caso particular de la levadura Candida utilis además de poseer un contenido alto en proteínas, ésta debe tener una calidad microbiológica aceptable. En las secciones siguientes se detallan la productividad y los rendimientos de producción obtenidos así como los resultados de los análisis microbiológico y químico proximal realizados a la levadura producida.

4.7.1 PRODUCTIVIDAD OBTENIDA Y DETERMINACION DE LOS RENDIMIENTOS DE LEVADURA PRODUCIDA EN EL REACTOR DE 5 LITROS.

En el cuadro 8 se presentan los resultados en cuanto a la producción en gramos de levadura seca por lote contrastados con respecto al nivel de

aireación (10, 20 y 30 L/min), a los contenidos iniciales y finales de azúcares reductores y al consumo de los mismos. Los contenidos de azúcares reductores iniciales fueron, en todos los casos, de 3.3% p/v , a excepción del lote de producción No.3 en el cual el contenido de azúcares bajó a 2.6% p/v ; para el caso de esta variable, los valores presentados en el cuadro 8 representan los contenidos de azúcares reductores tal y como se obtuvieron del jugo de desechos de vegetales, es decir, durante las pruebas, esta variable no fue manipulada. Los contenidos finales de azúcares reductores fueron para los lotes 1, 2, 3 y 4 de 0.3% p/v y de 0.4 y 0.6% p/v para los casos de las pruebas 5 y 6 respectivamente. Dado que los contenidos de azúcares reductores iniciales y finales se mantuvieron constantes en 4 de 6 pruebas realizadas (pruebas 1,2, 4 y 5), se puede inferir que la producción se incrementa hasta 5 veces en el rango de aireación experimentado (de 10 a 30 L/min).

Al comparar las pruebas 3 y 4, ambas realizadas a un nivel de aireación de 20 L/min, pero con contenidos iniciales de azúcares reductores diferentes, se observa que hubo una disminución en

el rendimiento de producción para el caso en el que el contenido inicial de dichos azúcares y el consumo de los mismos fueron menores. Cosa muy diferente sucede para las pruebas 5 y 6, en donde, a un mismo nivel de aireación, 30 L/min, pero a diferentes cantidades de azúcares reductores consumidos, se obtuvo mayor rendimiento para el caso en el que el consumo de azúcares reductores fue menor (prueba 6). Sin embargo es de hacer notar la poca confiabilidad del método empleado y único disponible en el laboratorio para el análisis de azúcares reductores; por lo que existe la posibilidad de que dichos resultados sean atribuibles a errores en cuanto al método de análisis utilizado.

El cuadro 9 presenta los rendimientos de producción obtenidos en cada una de las 6 pruebas de escalamiento realizadas contrastados con el nivel de aireación experimentado, pero expresados sobre diferentes bases: por cantidad de azúcar consumida, por cantidad de oxígeno suministrado y por volumen de substrato empleado.

La Figura 8 presenta en forma gráfica la relación existente entre el nivel de aireación y el

rendimiento de levadura obtenido en gramos por litro de substrato. En dicha figura se observa claramente que el rendimiento de producción incrementa a medida que aumenta el nivel de aireación aplicado. Cabe hacer notar que la variación en el rendimiento de producción en el rango de 20 a 30 L/min es mayor que la variación experimentada de 10 a 20 L/min. Lo anterior se debe a que al aumentar los niveles de aireación se tiene mayor cantidad de oxígeno disponible para oxidar los azúcares presentes en el substrato y como resultado de esta oxidación se libera la energía que la levadura necesita para sus actividades fisiológicas.

La influencia del nivel de aireación en el rendimiento de producción de Candida utilis se analizó también estadísticamente, mediante un análisis de varianza haciendo uso del programa de computación STATGRAPHIC (1989); resultado que a un nivel de significancia del 95% $F_c = 90.23 > F_T = 9.55$; lo que indica que existe diferencia estadística significativa en el rendimiento de producción de Candida utilis a los tres niveles de aireación ensayados (Anexo G.1).

Posteriormente el análisis de comparación múltiple de promedios por el método de Tukey indicó que los promedios aritméticos de los rendimientos de producción obtenidos son estadísticamente diferentes entre sí; reportándose el mayor promedio al aplicar un nivel de aireación de 30 L/min (Anexo G.2).

Al comparar estos resultados con los resultados de Guerrero y Aguilar (1992) quienes observaron un rendimiento de 11.15 g/L a un nivel de aireación de 31.25 L/min se tiene que ambos resultados son muy similares puesto que en esta investigación se obtuvo un rendimiento de 10.61 g/L para un nivel de aireación de 30 L/min.

Así mismo la limitante técnica del sistema de aireación no permitió optimizar el rendimiento de producción con respecto al nivel de oxígeno aplicado, limitándose a pruebas con cambio de escala de 1 a 5 litros variando los niveles de aireación de 10 a 30 L/min.

CUADRO 8

RESULTADOS OBTENIDOS EN LA PRODUCCION DE Candida utilis A
 PARTIR DE JUGO DE DESECHOS VEGETALES DE MERCADO EN REGIMEN
 DISCONTINUO A ESCALA DE 5 LITROS

N°de Lote	Aireación (L/min)	azúcares reductores		azúcares reductores		azúcar consumido (g)	levadura producida por lote (g)
		iniciales (% p/v)	finales (% p/v)	iniciales (g)	finales (g)		
1	10	3.3	0.3	165	15	150	9.9
2	10	3.3	0.3	165	15	150	11.8
3	20	2.6	0.3	130	15	115	24.5
4	20	3.3	0.3	165	15	150	31.5
5	30	3.3	0.4	165	20	145	51.7
6	30	3.3	0.6	165	30	135	54.4

CUADRO 9

EFFECTO DEL NIVEL DE AIREACION EN EL RENDIMIENTO DE PRODUCCION DE Candida utilis A PARTIR DE JUGO DE DESECHOS VEGETALES DE MERCADO A ESCALA DE 5 LITROS EN REGIMEN DISCONTINUO.

Nº Lote	Nivel de aireación (L/min.)	g/ de levadura x 10 ² g de azúcar consumido.	g de levadura x 10 ³ L de O ₂ suministrado.	g de levadura L de sustrato
1	10	6.60	1.96	1.98
2	10	7.87	2.34	2.36
3	20	21.30	2.43	4.90
4	20	21.00	3.13	6.30
5	30	35.66	3.42	10.34
6	30	40.30	3.60	10.88

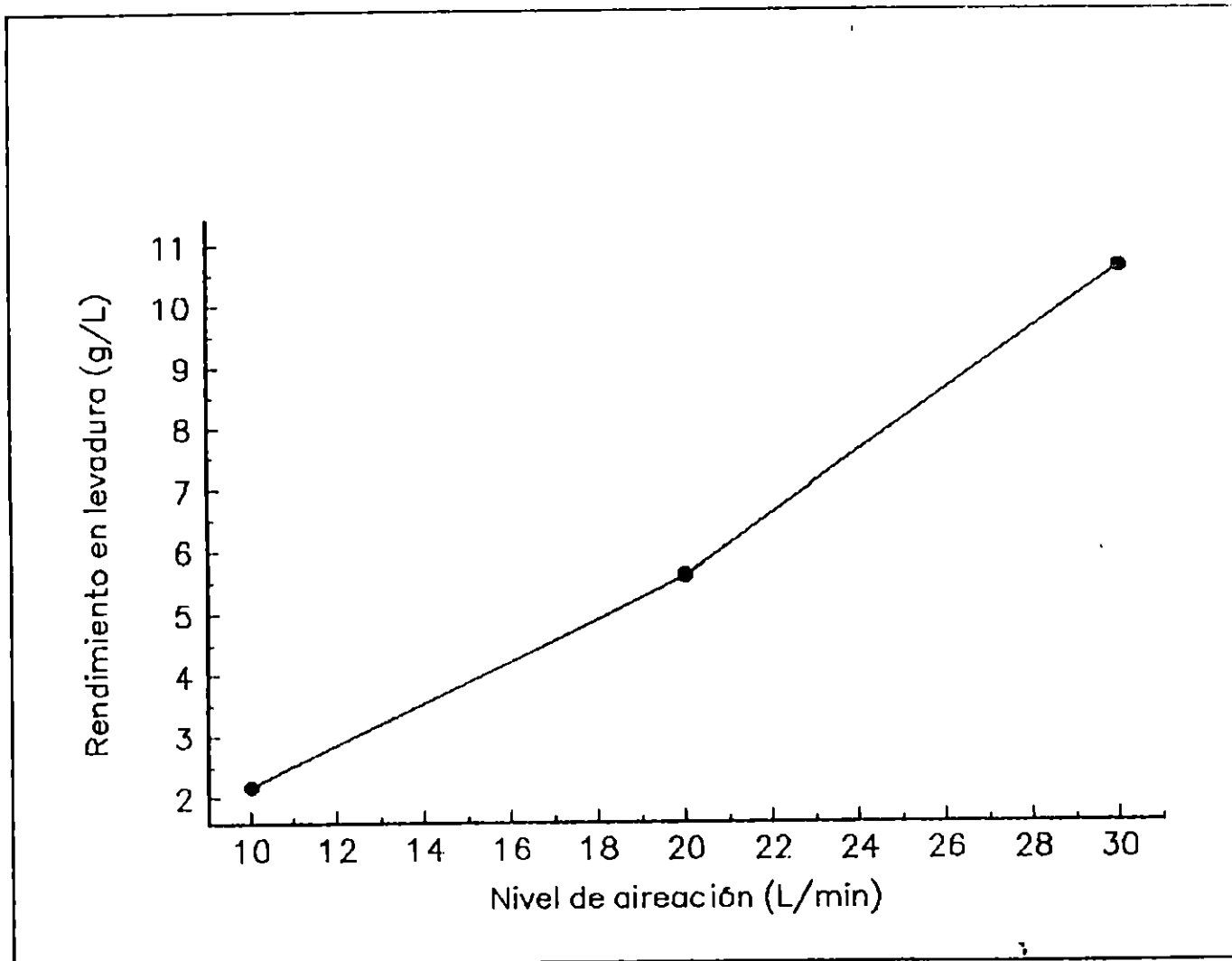


FIGURA 8: Rendimientos promedio vrs. niveles de aireación para la producción de Candida utilis a partir de jugo de desechos vegetales de mercado a escala de 5 litros en régimen discontinuo.

4.7.2 CALIDAD BACTERIOLOGICA DE LA LEVADURA PRODUCIDA

El análisis microbiológico realizado en la levadura, se presenta en el Cuadro 10 donde se observa contaminación por Escherichia coli. El recuento total de bacterias aeróbicas mesófilas, presenta valores de 79,300 y 737,100 unidades formadoras de colonias por gramo (ufc/g). Como conclusión de los valores reportados en dicho cuadro se extrae que el producto obtenido no reúne los requisitos de calidad microbiológica para el consumo humano, dado que la contaminación con Escherichia coli debe ser negativa y además el recuento estándar en caja no debe sobrepasar de 10,000 ufc/g (Gamero et. al., 1992); ver anexo H para requisitos de calidad microbiológica en un producto comercial. No se encontró Salmonella lo cual es adecuado en este tipo de productos cuando se destinan al consumo humano o animal. Estos resultados no eran los esperados; sin embargo se cree que la contaminación microbiológica no fue producto del proceso de producción, sino del manejo posterior del producto puesto que no se contó con áreas adecuadas para realizar dicho trabajo y las medidas asépticas tomadas resultaron ser insuficientes.

CUADRO 10

RESULTADOS DEL ANALISIS MICROBIOLOGICO REALIZADO A LA LEVADURA OBTENIDA EN LOS LOTES 5 Y 6 DE PRODUCCION EXPERIMENTAL Y LAS ESPECIFICACIONES DE CALIDAD REQUERIDA.

ANALISIS	LOTE 5 *	LOTE 6 *	ESPECIFICACION DE CALIDAD **
<u>Escherichia coli</u> (ufc/gramo)	2,300	1,800	negativo
<u>Salmonella sp.</u>	negativo	negativo	negativo
Recuento total de bacterias aeróbicas mesófilas (ufc/gramo)	737,100	79,300	menos que 10,000

** FUENTE: Gamero et. al, (1992).

* Análisis realizado en Especialidades Microbiológicas Industriales S.A. de C.V. (ESMI). San Salvador.

4.7.3 CALIDAD QUIMICA DE LA LEVADURA PRODUCIDA

Los resultados del análisis proximal realizado a la levadura obtenida en los lotes 3, 4, 5 y 6 se presentan en el Cuadro 11, pudiéndose apreciar que los lotes 3 y 4 presentan un contenido de proteínas más elevado (53.49 y 38.84% p/p, respectivamente) que los obtenidos en los lotes 5 y 6 (26.99 y 26.38% p/p, respectivamente), aún cuando estos últimos arrojaron un mayor rendimiento en biomasa (Cuadro 8). Para los lotes 3 y 4, el contenido de proteína resultante está en el rango reportado para otros substratos tales como los presentados en el Cuadro 2 (Capítulo I). No así los obtenidos para los lotes 5 y 6 lo cual se cree se debe a la deficiencia en el contenido de nutrientes puesto que la composición química del jugo de desechos vegetales no queda bien definida al usar las frutas y verduras a disponibilidad como residuos que varían a diario. Los valores obtenidos de humedad, grasa y cenizas en los cuatro lotes son comparables a los reportados por Guerrero y Aguilar (Cuadro 2, Capítulo I).

CUADRO 11

ANÁLISIS PROXIMAL DE LA LEVADURA Candida utilis PRODUCIDA EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES EN UN REACTOR DISCONTINUO DE 5 LITROS (ANÁLISIS BASE HUMEDA EN % P/P).

Nº de Lote	(%) Humedad	(%) Proteína	(%) Grasa	(%) Fibra	(%) Cenizas	Carbohidratos solubles **
* 3	8.55	53.49	-	-	-	-
* 4	9.35	38.84	-	-	-	-
+ 5	6.22	26.99	2.58	1.22	9.33	53.66
+ 6	5.88	26.38	1.09	0.92	9.16	56.57

* Análisis realizado en la unidad de Química de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

+ Análisis realizado en los laboratorios de control de calidad La Sultana, S.A.

** Por diferencia.

4.8 CURVA DE CRECIMIENTO DE Candida utilis EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES.

La importancia de la construcción de la curva de crecimiento reside en el hecho de que permite evaluar la velocidad específica de crecimiento, μ , el tiempo de duplicación, t_d y la población celular máxima que podría obtenerse en un proceso microbiológico particular. Además, ayuda a conocer el tiempo óptimo de producción celular bajo determinadas condiciones de operación: velocidad de aireación, fuente de carbono, nutrientes, etc.

4.8.1 METODO UTILIZADO PARA LA DETERMINACION DE LA CURVA DE CRECIMIENTO DE Candida utilis EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES.

Para la determinación de la curva de crecimiento de Candida utilis, se empleó el método directo de conteo de células usando una cámara Hausser Scientific que consiste de un porta-objetos especial que en una de sus superficies posee dos divisiones plateadas con dos cavidades, cada una, separadas entre sí. El volumen de substrato, entre la cámara y el cubre-objetos, es de 1 mm^3 ; cada división contiene una serie de rayados dobles,

formando 25 cuadros los que a su vez se subdividen en otros 16 cuadros interiores cada uno. El área total de los cuadros exteriores es de 1 mm^2 (Erazo Cornejo, 1994).

Para elaborar la curva de crecimiento se realizó un lote de producción en 5 litros de substrato, con un nivel de aireación de 30 litros/minuto y un contenido de azúcares reductores iniciales del 3.3% p/v. Se tomó muestras del reactor, de aproximadamente 5 ml de volúmen cada una a intervalos de 3 horas entre muestra y muestra, iniciando desde el tiempo cero hasta finalizar luego de 40 horas de reacción. Luego de una adecuada dilución que según el tiempo de reacción puede variar desde 1/10 hasta 1/100 ó 1/1000, se colocó la muestra en las cavidades de la cámara con una pipeta especial, de tal forma que la muestra fluyera entre el cubre-objeto y la división plateada, luego se sustrajo el remanente empleando papel absorbente, teniendo el cuidado de evitar la formación de burbujas de aire dentro de la cámara. Realizado lo anterior, se procedió a observar el microscopio empleando un aumento de 400x. El criterio para preparar las diluciones fué



el de no tener más de 20 células en cada cuadro interior del cuenta células.

Para conocer el número de células por milímetro cúbico de substrato se utilizó la siguiente ecuación (Ferrufino y Boyle, 1984):

$$\frac{\text{número de células}}{\text{mm}^3} = \frac{\text{células contadas} \times \text{dilución} \times 4000}{\text{número de cuadros contados}} \quad (9)$$

Los resultados del conteo celular se presentan en el Cuadro 12, y se presentan en forma gráfica en la Figura 9.

De la curva de crecimiento obtenida, se puede observar que la fase LAG comienza con un número bastante alto de células; esto se debe a que el bio-reactor se cargó con un inóculo de volumen relativamente alto y en fase logarítmica de crecimiento. A partir de aquí, el número de células comienza a aumentar gradualmente con el tiempo, hasta llegar a un punto (15 horas) en el cual se puede decir que comienza la primera fase logarítmica; durante esta fase la levadura asimila la glucosa que es el azúcar reductor que está más fácilmente disponible hasta agotarla completamente

a las 18 horas; a partir de éste punto la levadura comienza otra pequeña fase LA₀ de acostumbramiento para luego comenzar a asimilar la fructosa, el otro azúcar reductor presente en el substrato y que se encuentra en mayor cantidad. Esta segunda fase logarítmica comienza a las 24 horas y continúa hasta las 30 horas, punto en el cual su crecimiento comienza a disminuir y a mantenerse constante a partir de las 33 horas, dándose inicio a la fase estacionaria, etapa en la cual los azúcares se han agotado, los nutrientes han disminuido, existe una acumulación de metabolitos y la velocidad de nacimiento de células nuevas es igual a la velocidad de muerte de las células viejas. A pesar de que en éste punto los azúcares reductores se han agotado, el nacimiento de células nuevas se debe principalmente a que al morir las células viejas sufren un fenómeno de "lisis", es decir, se destruye su pared celular y los carbohidratos, aminoácidos y otros componentes se liberan para ser usados por las células restante para su crecimiento y reproducción. Eventualmente el número de células vivas comienza a disminuir debido a la escasez de nutrientes y por la acumulación de sustancias tóxicas. El comportamiento que presenta ésta curva de

crecimiento, se conoce como comportamiento diaúxico.

La curva de crecimiento obtenida por Guerrero y Aguilar (1992) que se presenta en el anexo J, tiene una forma geométrica similar a la gráfica de la figura 9 con dos puntos diaúxicos; pero con tiempos de duplicación de 1.54 y 0.77 h y velocidades específicas de crecimiento de 0.45 y 0.90 h^{-1} para la primera y segunda fase de crecimiento respectivamente. Estos resultados no son del todo comparativos con los encontrados en este trabajo (Cuadro 13 y Figura 9) debido a que los métodos de conteo celular utilizados para la construcción de la curva de crecimiento de Candida utilis son diferentes; el método empleado por las ya citadas autoras es de conteo en cajas, en el cual se cuentan únicamente células vivas (formadoras de colonias) y en el método aquí empleado se consideran células totales (vivas y muertas).

CUADRO 12

VARIACION DE LA POBLACION DE Candida Utilis EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES RESPECTO AL TIEMPO DE CULTIVO EVALUADA POR EL METODO DE CONTEO DIRECTO EN CAMARAS HAUSSER SCIENTIFIC.

Tiempo (horas)	células/ml (totales)	Log ₁₀
0	5.6 x 10 ⁶	6.75
3	7.4 x 10 ⁶	6.87
6	8.9 x 10 ⁶	6.95
9	12.8 x 10 ⁶	7.11
12	18.1 x 10 ⁶	7.26
15	19.9 x 10 ⁶	7.30
18	54.9 x 10 ⁶	7.74
21	57.5 x 10 ⁶	7.76
24	60.2 X 10 ⁶	7.78
27	128.8 X 10 ⁶	8.11
30	204.1 X 10 ⁶	8.31
33	234.4 X 10 ⁶	8.37
36	234.4 X 10 ⁶	8.37
40	234.4 X 10 ⁶	8.37

Conteos realizados por Erazo Cornejo (1994).

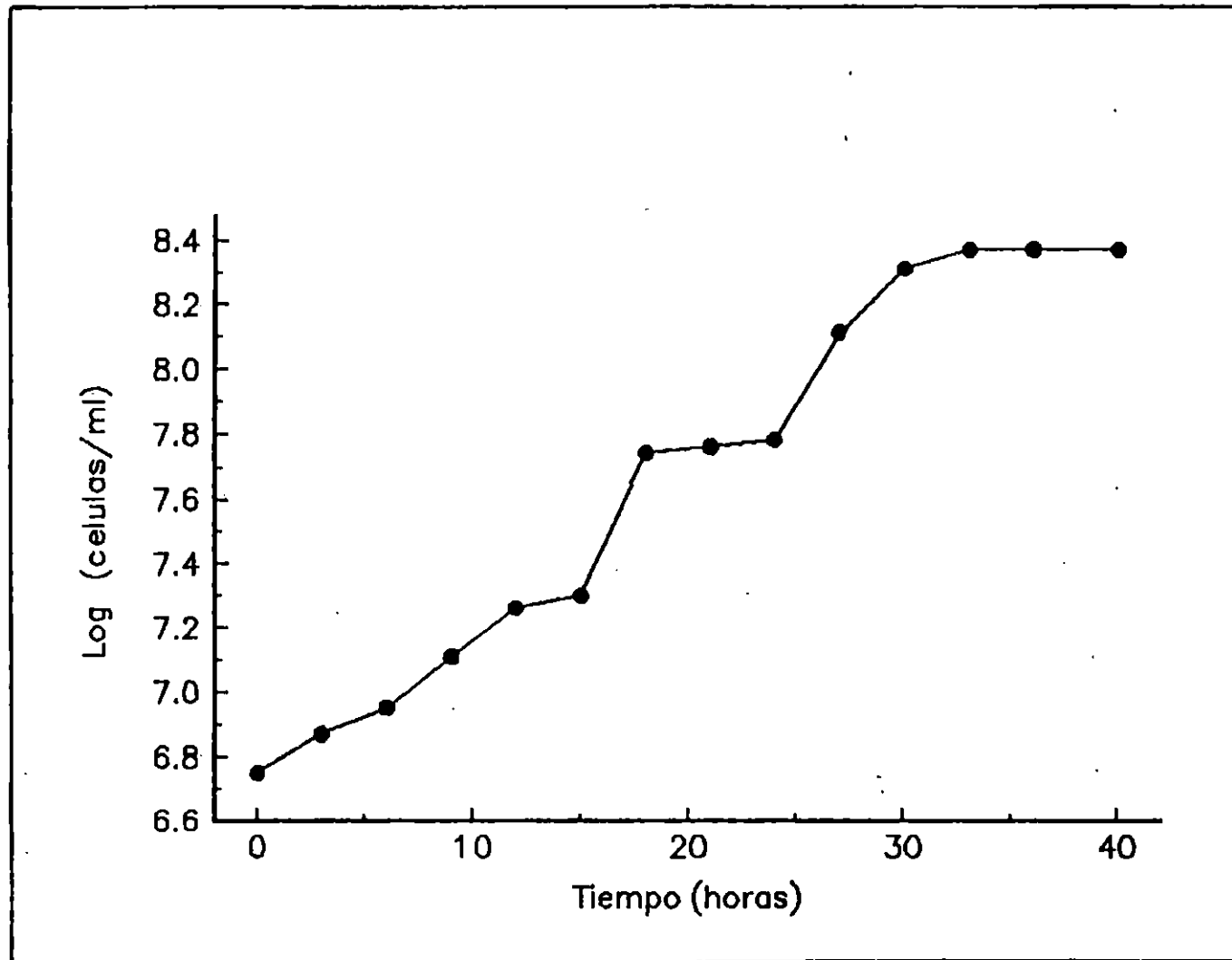


FIGURA 9: Curva de crecimiento de Candida utilis en jugo de desechos vegetales con un flujo de aire de 30 L/min y un contenido inicial de azúcares reductores de 3.3% p/v.

CUADRO 13

VELOCIDAD ESPECIFICA DE CRECIMIENTO Y TIEMPO DE DUPLICACION DE Candida utilis PRODUCIDA EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES

fase exponencial	velocidad específica de crecimiento	tiempo de duplicación t_d	máxima producción celular
1	0.147 hr ⁻¹	1.47 hr	234.4x10 ⁶ <u>células</u> ml
2	0.1177 hr ⁻¹	5.88 hr	

El método utilizado para el cálculo de las velocidades específicas de crecimiento y de los tiempos de duplicación se presenta en el Anexo I.

OBSERVACIONES

1. La prensa hidráulica utilizada para la extracción del jugo presenta un rendimiento de extracción muy bajo, observándose que después de extraer el jugo, el residuo sólido aún contiene una cantidad considerable de jugo; por lo que el rendimiento de extracción del jugo puede mejorarse empleando un sistema de prensado más adecuado.
2. El valor numérico del K_{la} presenta una tendencia creciente con respecto al aumento en el nivel de aireación. Sin embargo, no se observa variación alguna al alterar la concentración de sulfito de sodio empleada. Pero para obtener resultados más concluyentes se deben llevar a cabo mayores estudios manipulando dichas variables.
3. Para optimizar el rendimiento de producción de levadura a escalas de 5 y 10 litros, se hace necesario disponer de equipos de compresión de mayor potencia a los 3.5 HP aquí utilizados, dados los niveles de aireación necesarios para los volúmenes de reacción ya citados y por lo prolongado de cada lote de producción (36 horas).
4. El rendimiento de producción de Candida utilis en jugo de desechos vegetales fue de un 10.61 g/L de substrato a una

6. La potencia del motor calculada para los bio-reactores construidos de 5 y 10 L fue de 1/15,000 y 1/3,800 HP respectivamente; valores muy bajos que indican que a las escalas de operación planteadas no es necesario el empleo de agitación mecánica, siendo suficiente la aireación para mantener los sólidos en suspensión.

5. El trabajar a temperatura ambiente (25-35°C) garantizó que siempre se estuviera operando a una temperatura que incluía el rango óptimo para el crecimiento de Candida utilis (30-32°C); esto reduce los costos de operación al prescindir de equipos auxiliares para regular la temperatura.

aireación de 30 L/min y un contenido de azúcares reductores iniciales de 3.3% p/v, rendimiento muy similar al obtenido por Guerrero y Aguilar (1992) que reportan un valor de 11.15 g/L de sustrato a una aireación de 31.25 L/min y un contenido inicial de azúcares reductores de 6.1% p/p.

CONCLUSIONES

1. En el análisis proximal realizado a la levadura obtenida, se encontró que el contenido porcentual de proteínas oscila entre 26.38 y 53.49%, pero en su mayoría el porcentaje fue menor que el rango reportado por la bibliografía para Candida utilis el cual varía de 45.2 a 54% dependiendo del substrato utilizado; esto posiblemente se deba a la deficiencia de nutrientes minerales, la variedad de frutas utilizada y a alguna alteración en la constitución de la cepa debido al almacenamiento.
2. Como la concentración de azúcares reductores iniciales se mantuvo prácticamente constante, se pudo comprobar que el nivel de aireación empleado en la producción de Candida utilis en jugo de desechos vegetales es una variable determinante con respecto al rendimiento. Esto se comprueba con el hecho de que a un nivel de aireación de 20 L/min la producción en biomasa (5.6 g/L de substrato) se incrementa en un 158% respecto a la biomasa (2.17 g/L de substrato) obtenida a 10 L/min. Y a una aireación de 30 L/min se incrementa (10.61 g/L de substrato) en un 89.46% respecto al obtenido a 20 L/min.

3. De la curva de crecimiento obtenida se puede concluir que el tiempo de asimilación de azúcares reductores para cada lote de producción puede reducirse de las 40 horas empleadas en ésta investigación, a 36 horas, garantizando que al cabo de dicho tiempo, la levadura se encuentra en la fase estacionaria la cual ya no es recomendable a nivel industrial. Este aspecto se refuerza con el hecho de que Guerrero y Aguilar, obtuvieron idénticos resultados en su trabajo experimental.

4. Durante las pruebas de producción no se obtuvo una contaminación microbiológica apreciable, ésto de acuerdo a conteos directos realizados por medios visuales al microscopio y a repiques efectuados en cajas petri, en donde de 39 cajas inoculadas con Candida utilis provenientes de diferentes niveles del reactor y a distintos tiempos de reacción, solamente 3 cajas presentaron crecimiento microbiano; ésto arroja una efectividad en el sistema de filtros del 92.3% lo que lleva a concluir que el sistema de filtro de algodón en combinación con el filtro de hipoclorito de sodio, resultan ser muy eficaces en la retención de la carga microbiológica del aire. Por lo que se deduce que la contaminación con Escherichia coli se dió durante el tratamiento posterior a la descarga del reactor.

5. Las diferencias encontradas entre las velocidades específicas de crecimiento y duplicación, con respecto a las reportadas por la bibliografía, no se pueden considerar concluyentes debido a que se necesitaría un mayor número de evaluaciones de la curva de crecimiento. Esto se deduce del hecho de que a igual tiempo de operación se obtuvieron rendimientos muy similares a los obtenidos por Guerrero y Aguilar, aún cuando las velocidades específicas de crecimiento y de duplicación encontradas son menores que las reportadas por las autoras ya mencionadas.

6. Con el bio-reactor utilizado y con las condiciones de operación aquí empleadas se concluye que la cepa de Candida utilis utilizada fué capaz de asimilar un valor promedio del 88.1% de los azúcares reductores presentes en el jugo de desechos vegetales.

RECOMENDACIONES

1. Como el mayor valor de K_{La} que se obtuvo (31.01 $mM O_2/h-L$) se encuentra muy abajo de los reportados por la literatura (70-400 $mM O_2/h-L$) se sugiere realizar pruebas de evaluación del K_{La} modificando la geometría del sistema y empleando el método de oxidación del sulfito de sodio a concentraciones mayores de los aquí probados (0.1 y 0.2N) para estudiar el efecto de esas dos variables sobre los valores del coeficiente en el sistema a utilizar.
2. En el presente trabajo se utilizó aceite de maíz como antiespumante el cual presentó desventaja al momento de recuperar la levadura por centrifugación, debido a que se forma una especie de suspensión entre el aceite y la biomasa, ocasionando una disminución en el rendimiento de producción; por lo anterior, se recomienda desde un inicio probar antiespumantes industriales apropiados, ya que se hace necesario el empleo de estos para minimizar la formación de espumas en los niveles de aireación probados.
3. Hacer análisis verificando el contenido de nutrientes en el jugo de desechos vegetales debido a que el nivel de proteína obtenido en el desarrollo de las pruebas de

afirmación sustentada sobre la base de experiencias realizadas por otros investigadores, quienes han obtenido buenos resultados utilizando únicamente este último tipo de filtro.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Aiba, S., A. E. Humphrey and N. F. Millis, "Biochemical engineering", Academic Press, New York, (1965).
2. Bautista Justo, M., "Caracterización química-biológica y funcional de la proteína de Candida utilis en bajo contenido de ácidos nucleicos", Tesis M. Sc., Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, Guatemala, (1981).
3. Bonilla, H.E., H. Parada, A. Salazar, A. Escobar, "Caracterización experimental de la curva de crecimiento de la levadura Candida utilis en régimen de flujo continuo utilizando como substrato melaza de caña y vinaza y diseño preliminar del proceso de producción a escala industrial", Trabajo de Graduación, Universidad Centroamericana José Simeón Cañas, (1985).
4. Brown, G., A. Foust, D. Katz, R. Schneidewind, "Operaciones básicas de la ingeniería química", Editorial Manuel Marín y Compañía, Barcelona, España, 1955.

5. Choto Berrios, C.E., "Obtención de proteína microbiana a partir del mucílago de café", Trabajo de Graduación, Universidad Centroamericana José Simeón Cañas, (1978).
6. Déras Montalvo, I.E., "Producción de proteína unicelular a partir de jugo de pulpa de café", Trabajo de Graduación, Universidad Centroamericana José Simeón Cañas, (1984).
7. Dickey, D. S. and J. G. Fenic, "Dimensional analysis for fluid agitation systems", Chemical Engineering, January 5, (1976).
8. Dickey, D.S. and R.W. Hicks, "Fundamentals of agitation", Chemical Engineering, February 2, (1976).
9. Erazo Cornejo, J. A., Asesoría personal, Instructor de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de El Salvador, (1994).

10. Ferrufino, R. F. y T. Boyle, "Investigación experimental sobre la producción de levadura alimenticia a partir de jugo de pulpa de café en régimen de flujo continuo, y diseño y evaluación económica del proceso a escala industrial", Trabajo de Graduación para optar al título de Ingeniero Químico, Universidad Centroamericana "José Simeón Cañas", El Salvador, (1984).
11. Figueroa Olmedo, R., "Producción de proteína unicelular utilizando vinaza como sustrato", Trabajo de Graduación, Universidad de El Salvador, (1988).
12. Gamero Rodríguez, E.S., L.E. Mendoza Fuentes, R.A. Rodas Artiga, "Producción de extracto de levadura a partir de Saccharomyces cerevisiae residual de las fermentaciones alcohólicas", Trabajo de Graduación para optar al título de Ingeniero Químico, Universidad de El Salvador, El Salvador, (1992).
13. Gates, L. E., T. L. Henley, J. G. Fenic, "How to select the optimum turbine agitator", Chemical Engineering, December 8, (1975).

14. Gates, L.E., J.R. Morton, P.L. Fondy, "Selecting agitator systems to suspend solids in liquids", Chemical Engineering, may 24, (1976).
15. Guerrero, R. M. y M. A. Aguilar, "Producción de Candida utilis en jugos de desechos vegetales de mercado", Trabajo de Graduación para optar al título de Ingeniero Químico, Universidad de El Salvador, El Salvador, (1992).
16. Harrison, J.S., "Yeast production", Prog. Ind. Microbiology, Vol. 10, Churchill Livingstone, London, (1971).
17. Hicks, R.W., J.R. Morton, J.G. Fenic, "How to desing agitators for desired process response", Chemical Engineering, April 26, (1976).
18. López Preza, J.R., "Investigación experimental sobre la producción de la levadura alimenticia a partir de vinaza en régimen de flujo continuo y diseño preliminar del proceso de producción a escala industrial", Trabajo de Graduación, Universidad Centroamericana José Simeón Cañas, (1984).

19. Mateles, P. I. and S. R. Tannenbaum, (Eds.) "Single cell protein", Massachusetts Institute of Technology Press, USA, (1968).
20. McCabe, W. y J. Smith, "Operaciones Básicas de Ingeniería Química", Editorial Reverté, S.A., Segunda Edición, España, (1981).
21. Pearson, D., "The chemical analysis of foods", Chemical Publishing Co, Inc., Seventh Edition, USA, (1977).
22. Rushton, J.H., E.W. Costich, H.J. Everett, "Power characteristics of mixing impellers. Part 2", chem. Eng. Progress 46, 467, (1950).
23. STATGRAPHICS versión 2.6, Statistical Graphics Corp., Graphic software system Inc., U.S.A., (1989).
24. Tauk, S. M. y G. Valdemir, "Efeito de Adicao de Acido fosfórico em cultura Mista de levadura em Vinhaca", Brasil Acucareiro, pp. 11, Organo Oficial del Instituto del Azúcar y del Alcohol, Brasil, Mayo, (1978).

25. Shenderei, E. R., "Evolución de la tecnología y la experiencia en el uso de proteína unicelular para alimentos de animales en la Unión Soviética", Boletín del grupo asesor del sistema de las Naciones Unidas sobre proteínas y calorías (GAP), Volúmen VI, No. 3, Septiembre, (1976).

26. Treybal, R. E., "Operaciones de transferencia de masa". Editorial McGraw-Hill/Interamericana de México S.A. de C.V., Segunda Edición, México, (1988).

27. Webb, F.C., "Biochemical engineering", Editorial D. Van Nostrand Company Ltd., Londres, (1964).

A N E X O S

ANEXO A

CALCULOS DE LOS REQUERIMIENTOS DE O₂ DE LA LEVADURA Candida utilis EN JUGO DE DESECHOS VÉGETALES.

Datos:

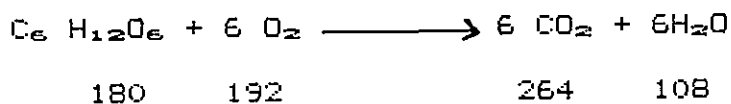
$$\rho_{\text{jugo}} = 1.16 \text{ g/ml (Guerrero y Aguilar, 1992)}$$

$$\rho_{\text{O}_2} = 1.4289 \text{ g/l (Perry y Chilton, 1985)}$$

$$\% \text{ azúcares} = 3.3\% \text{ p/v (Ver sección 4.2.4).}$$

a) Contenido de azúcares reductores en el jugo:

reacción fundamental:



$$\text{Masa de azúcar} = 0.033 \frac{\text{g}}{\text{ml}} \times 5000 \text{ ml} = 165 \text{ g}$$

b) Oxígeno necesario para oxidar todo el azúcar presente:

$$165\text{g azúcar} \times \frac{192 \text{ g O}_2}{180 \text{ g azúcar}} = 176 \text{ g O}_2$$

$$\text{Volumen de O}_2 = 176\text{gO}_2 \times \frac{1\text{L O}_2}{1.4289 \text{ gO}_2} = 123.17 \text{ L O}_2$$

$$\text{para 36 h de reacción} = \frac{123.17 \text{ L O}_2}{36 \text{ h}} = 3.42 \frac{\text{L}}{\text{h}} \text{ de O}_2$$

Para una eficiencia del 12%, el O₂ a suministrar es:

$$28.5 \frac{\text{L}}{\text{h}} \text{ de O}_2, \text{ equivalente a:}$$

$$28.51 \frac{\text{L O}_2}{\text{h}} \times \frac{100 \text{ L aire}}{21 \text{ L O}_2} \times \frac{1 \text{ h}}{60 \text{ min}} = 2.26 \frac{\text{L aire}}{\text{min}}$$

C) K_{1a} requerido de acuerdo al contenido de azúcares reductores, volumen de substrato y tiempo de reacción:

$$\text{Volumen de substrato} = 5 \text{ L}$$

$$\text{Tiempo de reacción} = 36 \text{ h}$$

$$\text{Contenido de azúcar} = 165 \text{ g}$$

$$K_{1a} [=] \frac{\text{m MO}_2}{\text{h} \cdot \text{L}}$$

$$\text{milimoles O}_2 = \frac{176}{32} \times 1000 = 5,500$$

$$K_{1a} = \frac{5500}{36 \times 5} = 30.55 \frac{\text{mMO}_2}{\text{h} \cdot \text{L}}$$

ANEXO B

DIAGRAMAS DE CONSTRUCCION DE
LOS BIO-REACTORES DE 5 Y 10
LITROS DE CAPACIDAD

A N E X O C

CALCULO DE LA POTENCIA DEL AGITADOR

C.1 Reactor de 5 lt.C.1.1 Cálculo del número de Reynolds (N_{RE}).

En base a la ecuación 2 de la sección 2.4.2 se tiene:

$$N_{RE} = \frac{D_i^2 \cdot N \cdot \rho}{\mu}$$

Donde:

$$D_i = 0.0762 \text{ m}$$

$$N = (100/60) \text{ s}^{-1}$$

$$\rho = 1,160 \text{ Kg/m}^3$$

$$\mu = 0.00475 \text{ Kg/m.s}$$

Así:

$$N_{RE} = \frac{(0.0762)^2 \times (100/60) \times (1,160)}{0.00475}$$

$$N_{RE} = 2,363$$

C.1.2 Cálculo del número de potencia (N_p).

El agitador del sistema diseñado consiste de 6 palas inclinadas con ángulo de 75° (Sección 2.5.4); pero como ninguna de las gráficas del N_p vs. N_{Re} corresponden al tipo exacto del agitador se aplicó una interpolación gráfica de curvas con ángulos entre 45° y 90° (Figura 2 de Dickey and Fenic, 1976); obteniéndose un número de potencia de 1.8. Igual valor se obtuvo al usar la Figura 9.14 de McCabe y Smith (1981) correspondiente a agitadores de turbina de 6 palas, tanques sin baffles e inclinación de palas no definida.

C.1.3 Cálculo de la Potencia (P).

Para sistemas con un rodete se calcula por:

$$N_p = (P g_c / \rho N^3 D_i^5)$$

Sin embargo, el agitador diseñado consiste de dos rodetes para lo cual, Hicks, Morton y Fenic (1976) sugieren multiplicar el resultado del cálculo de potencia por el número de rodetes en el agitador. Por lo que la ecuación planteada queda como:

$$P = (N_p \rho N^3 D_i^5) / g_c \times 2$$

Sustituyendo valores, en la ecuación anterior:

$$P = \frac{(1.8) \times (1160) \times ((100/60)^3) \times (0.0762)^5 \times 2}{(9.80665)}$$

$$P = 0.0050648 \text{ Kg} \cdot \text{m/s} \times 9.807 \text{ N/ 1 Kg}$$

$$P = 0.0496705 \text{ N.m/s} \times 1 \text{ HP/745.7 N.m/s}$$

$$P = 0.0000666 \text{ HP}$$

Se hace necesario aplicar el factor de corrección sugerido por Brown et. al. (1965), porque los factores de forma del sistema diseñado (sección 2.5.4) no corresponden a los de las figuras utilizadas; por lo tanto al aplicar el factor de corrección, resulta:

$$P = 0.0000666 \text{ HP} \times \sqrt{\left(\frac{D_t}{D_i}\right)\left(\frac{H_1}{D_i}\right)_{\text{diseado}} / \left(\frac{D_t}{D_i}\right)\left(\frac{H_1}{D_i}\right)_{\text{gráfica}}}$$

$$P = 0.0000666 \times \sqrt{(2)(4) / (3)(3)}$$

$$P = 0.0000666 \text{ HP} \times 0.94$$

$$P = 0.0000626 \text{ HP}; (1/15,000 = 0.0000666)$$

C.2 Reactor de 10 lt.

Aplicando el procedimiento ya mostrado, siendo $D_i = 0.1016\text{m.}$ y manteniéndose invariables los demás parámetros, se tiene:

$$P = 0.0002804 \text{ HP}$$

Mediante el factor de corrección por forma se llega a lo siguiente:

$$P = 0.0002804 \times 0.94$$

$$P = 0.00026358 \text{ HP}; \quad (1/3,800 = 0.00026316)$$

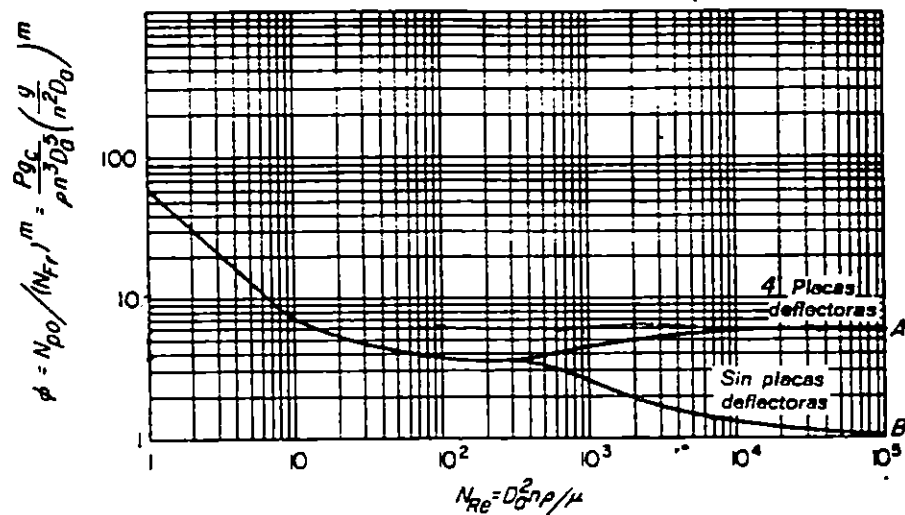
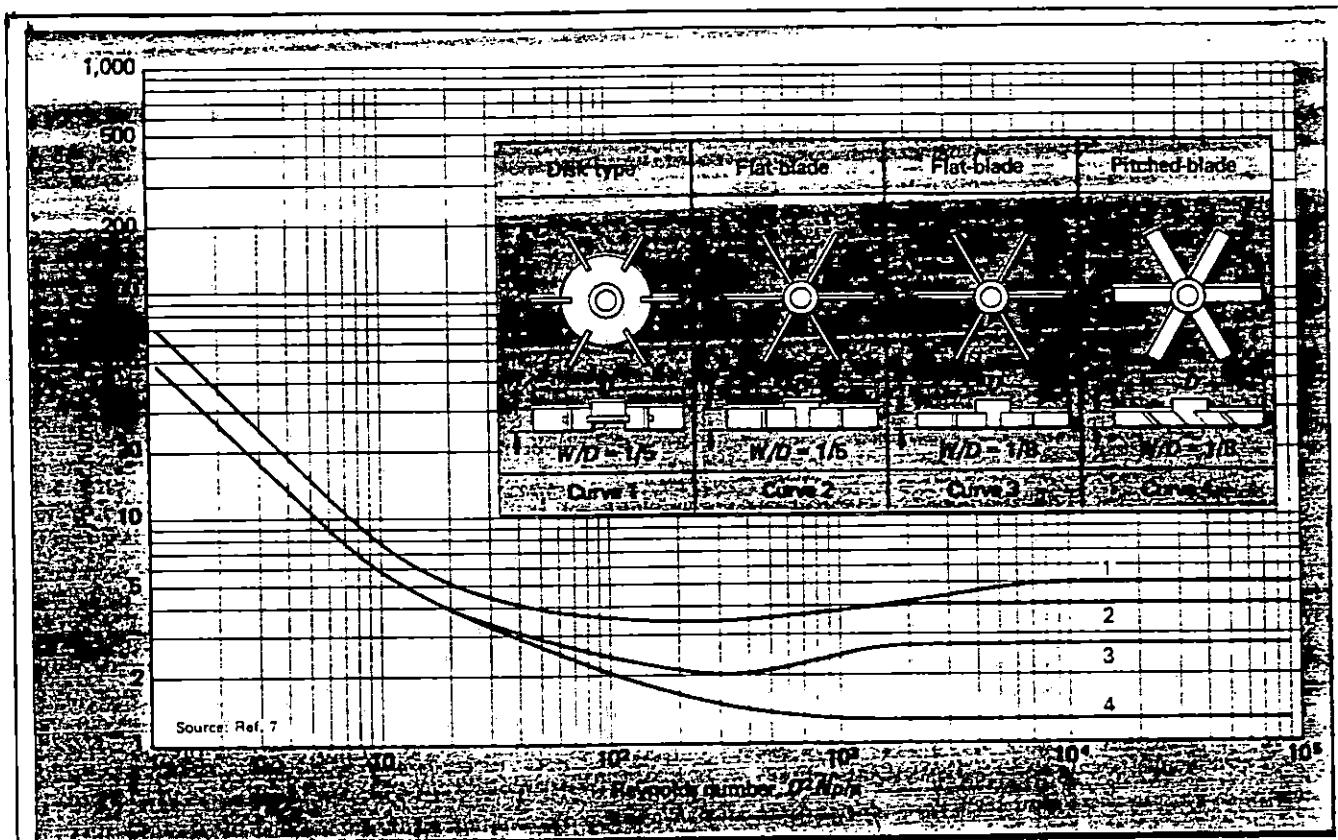


Fig. 9-14. Función de potencia ϕ frente a N_{Re} para un agitador de turbina de seis palas. (Rushton, Costich y Everett ".)

FUENTE: McCabe y Smith, (1981).



Turbine design affects power requirements for agitated systems

Fig. 2

FUENTE: Dickey and Fenic, (1976).

ANEXO D
DESCRIPCION Y CALIBRACION DEL ROTAMETRO UTILIZADO
EN EL SISTEMA DE SUMINISTRO DE AIRE

D.1 DESCRIPCION DEL ROTAMETRO UTILIZADO

El rotámetro mostrado en la Figura D.1 consta esencialmente, de un tubo cónico, generalmente de vidrio, mantenido fijo entre dos cabezales, que se monta verticalmente con el extremo más ancho hacia arriba, y una armazón. El tubo cónico lleva en su interior un pequeño "flotador" (que en realidad no flota, sino que está completamente sumergido en el fluido). El fluido a medir penetra por el cabezal inferior y fluye hacia arriba por el tubo, saliendo por el cabezal superior. Durante su paso ascendente levanta el flotador desde su posición inferior de reposo hasta cierta altura en el tubo de vidrio. El flotador es el elemento indicador y cuanto mayor es la velocidad de flujo, tanto mayor es la altura que alcanza en el tubo. El rotámetro posee una escala graduada cuya lectura viene dada por el borde del flotador, que corresponde a la mayor sección transversal del mismo. Es necesario, por lo tanto, disponer de una curva de calibrado para convertir la lectura de la escala en velocidad de flujo dependiendo del fluido a medir, ya sea éste un líquido o un gas (McCabe y Smith, 1981).

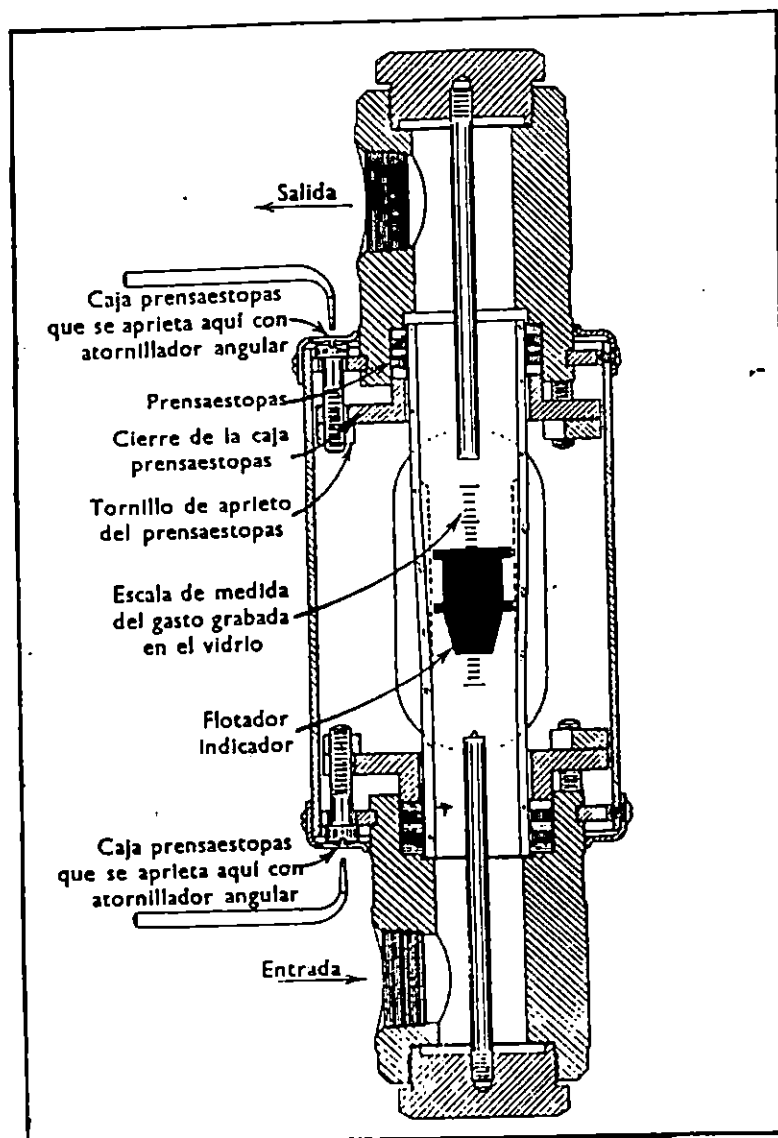


FIGURA D.1: Sección longitudinal de un rotámetro, como el utilizado en la medición del flujo de aire. (Fischer and Porter Co.)

FUENTE : Brown et. al, 1965.

D.2 METODO DE CALIBRACION DEL ROTAMETRO

En vista de que no existía curva de calibración de los rotámetros disponibles, se ideó un método empírico para obtener una correlación que representara las características del rotámetro seleccionado.

El equipo necesario consistió de un compresor de aire, una manguera flexible, una garrafa de vidrio de volumen conocido y un cronómetro.

El método se basa en un principio físico de desplazamiento hidroneumático. Inicialmente se llena la garrafa de vidrio con agua, en su totalidad, luego se invierte, cuidando de no permitir la entrada de burbujas de aire en su interior, sobre una pila con agua que tenga capacidad de recibir el volumen de líquido de la garrafa, sin rebalsar. Después se abre la válvula del compresor estabilizando el flotador del rotámetro a un valor específico de la escala, cada vez; y con la manguera flexible se introduce el aire dentro de la garrafa invertida, midiendo los tiempos en los cuales se desplaza todo el líquido contenido en su interior. Las pruebas se realizaron por duplicado comenzando desde una altura de 10 mm hasta 200 mm en la escala del rotámetro, variando de 10 en 10 mm en cada prueba.

En base a la capacidad de la garrafa utilizada, cuyo volumen fue de 19.285 litros y tomando un tiempo promedio entre los resultados de las pruebas por duplicado se calcularon los caudales de flujo de aire para cada altura de medición en la escala del rotámetro. Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro D.1.

D.3 ANALISIS DE REGRESION DE LOS DATOS OBTENIDOS DE LA CALIBRACION Y SU CORRELACION OBTENIDA

Dado que para un rotámetro, la relación entre la velocidad de flujo y la lectura en la escala del mismo es aproximadamente lineal (McCabe y Smith, 1981) se procedió a realizar una regresión lineal para correlacionar los datos obtenidos en las pruebas de calibración del rotámetro.

Las ecuaciones utilizadas para tal efecto son las siguientes:

Para el cálculo del coeficiente de correlación,

$$r = \frac{\sum xy - \sum x \sum y / n}{\sqrt{(\sum x^2 - (\sum x)^2 / n) (\sum y^2 - (\sum y)^2 / n)}} \quad (D.1)$$

Para la línea recta que correlaciona las variables,

$$\bar{y} = y + r (S_y/S_x) (x - \bar{x}) \quad (D.2)$$

Siendo,

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum x^2 - (\sum x)^2/n}{n - 1}} \quad (D.3)$$

$$S_y = \sqrt{\frac{\sum y^2 - (\sum y)^2/n}{n - 1}} \quad (D.4)$$

Para el cálculo de los términos empleados en las ecuaciones de la (D.1) a la (D.4) se utilizan los valores de las columnas 4 y 5 del Cuadro D.1 y se resumen sin en el cuadro D.2 donde:

x = variable independiente (mm de la escala del rotámetro)

y = variable dependiente (L/min de aire)

Así pues,

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum x^2 - (\sum x)^2/n}{n - 1}}$$

$$S_x = \sqrt{\frac{287,000 - (2199)^2/20}{20 - 1}}$$

$$S_x = 59.16079783$$

Y,

$$S_y = \sqrt{\frac{y^2 - (\Sigma y)^2/n}{n - 1}}$$

$$S_y = \sqrt{\frac{9491.3 - (375.1)^2/20}{20 - 1}}$$

$$S_y = 11.37015831$$

De tal forma que:

$$r = \frac{\Sigma xy - \Sigma x \Sigma y/n}{\sqrt{(\Sigma x^2 - (\Sigma x)^2/n) (\Sigma y^2 - (\Sigma y)^2/n)}}$$

$$r = \frac{52144 - (2100)(375.1)/20}{\sqrt{(287000 - (2100)^2/20) (9491.3 - (375.1)^2/20)}}$$

$$r = 0.998$$

Además,

$$y = \bar{y} + r (S_y/S_x) (x - \bar{x})$$

$$y = (375.1/20) + 0.998 (11.3701583/59.16079783) (x - 2100/20)$$

$$y = 0.19180637 (x) - 1.384669037$$

Los resultados, son los siguientes:

$$r = 0.998$$

$$x = 5.21y + 7.22$$

donde "x" representa la altura en la escala del rotámetro, en mm; e "y", el caudal, en L/min.

En el cuadro D.3 se presenta una comparación entre los datos obtenidos experimentalmente y los predichos por la ecuación (D.5) observándose que la ecuación obtenida reproduce fielmente los datos experimentales, en el rango de 6.2 a 28.7 L/min.

CUADRO D.1

VALORES OBTENIDOS EN LA CALIBRACION DEL ROTAMETRO
POR EL METODO DE DESPLAZAMIENTO HIDRONEUMATICO.

VOLUMEN DE MEDICION = 19.285 Litros.

Lectura en la escala de rotámetro (mm)	Toma de tiempo Prueba 1 (Seg)	Toma de tiempo Prueba 2 (Seg)	Tiempo promedio (Seg)	Caudal (Litros/minuto)
10	715.62	713.93	714.77	1.6
20	402.94	379.95	391.44	3.0
30	307.78	294.09	300.93	3.8
40	183.96	187.03	185.49	6.2
50	127.54	126.20	126.87	9.1
60	111.08	113.03	112.05	10.3
70	97.08	97.28	97.18	11.9
80	85.15	84.96	85.5	13.6
90	82.15	80.03	81.09	14.3
100	64.84	64.17	64.50	17.9
110	61.65	60.11	60.88	19.0
120	51.73	54.48	53.11	21.8
130	50.28	49.34	49.81	23.2
140	46.15	46.67	46.41	24.9
150	43.65	42.16	42.91	27.0
160	40.65	39.90	40.27	28.7
170	36.41	36.98	36.69	31.5
180	34.85	34.28	34.56	33.5
190	32.00	32.28	32.17	36.0
200	31.78	29.43	30.61	37.8

CUADRO D.2

RESULTADOS DE LOS CALCULOS REALIZADOS PARA OBTENER UNA CORRELACION LINEAL Y EVALUAR EL COEFICIENTE DE REGRESION PARA LA CALIBRACION DEL ROTAMETRO.

X	Y	X ²	Y ²	XY
10	1.6	100	2.56	16
20	3.0	400	9.00	60
30	3.8	900	14.44	114
40	6.2	1600	38.44	248
50	9.1	2500	82.81	455
60	10.3	3600	106.09	618
70	11.9	4900	141.61	833
80	13.6	6400	184.96	1088
90	14.3	8100	204.49	1287
100	17.9	10000	320.41	1790
110	19.0	12100	361.00	2090
120	21.8	14400	475.24	2616
130	23.2	16900	538.24	3016
140	24.9	19600	620.01	3486
150	27.0	22500	729.00	4050
160	28.7	25600	823.69	4592
170	31.5	28900	992.25	5355
180	33.5	32400	1122.25	6030
190	36.0	36100	1296.00	6840
200	37.8	40000	1428.84	7560
$\Sigma X=2100$	$\Sigma Y=375.1$	$\Sigma X^2=287000$	$\Sigma Y^2=9491.3$	$\Sigma XY=52144$

CUADRO D.3

COMPARACION DE LA CORRELACION OBTENIDA EN LA CALIBRACION
DEL ROTAMETRO CON RESPECTO A LOS VALORES EXPERIMENTALES

ESCALA EN EL ROTAMETRO (mm)	FLUJO DE AIRE OBTENIDO EXPERIMENTALMENTE (L/min)	FLUJO DE AIRE PREDECIDO POR LA CORRELACION OBTENIDA (L/min)
10	1.6	0.5
20	3.0	2.4
30	3.8	4.3
40	6.2	6.2
50	9.1	8.1
60	10.3	10.0
70	11.9	11.9
80	13.6	13.8
90	14.3	15.7
100	17.9	17.6
110	19.0	19.5
120	21.8	21.4
130	23.2	23.3
140	24.9	25.2
150	27.0	27.1
160	28.7	29.0
170	31.5	30.9
180	33.5	32.8
190	36.0	34.7
200	37.8	36.6

ANEXO E

DETERMINACION DEL K_{La} (GUERRERO Y AGUILAR, 1992)

El procedimiento que se utiliza para evaluar el K_{La} se fundamenta en el Método de Oxidación del sulfito de sodio.

Los reactivos necesarios son:

- Solución de yodo 0.1 N.
- Solución de HCl 6N.
- Indicador de almidón.
- Solución de tiosulfato de sodio 0.1 N.
- Sulfito de sodio.

PROCEDIMIENTO:

Se pipetea 25 ml de solución de yodo 0.1 N en un erlenmeyer de 250 ml, se añade 1 ml de HCl 6N y 60 ml de agua destilada, luego se miden con pipeta 10 ml de muestra (solución de sulfito que sale del reactor) los que se adicionan lentamente y agitando al frasco que contiene la solución de yodo, posteriormente se agrega 5 ml de indicador de almidón. Finalmente se titula con solución de tiosulfato de sodio 0.1N hasta desaparición del color azul.

ANEXO F

DETERMINACION DEL CONTENIDO DE AZUCARES REDUCTORES POR EL
METODO DE LANE Y EYNON (PEARSON, 1977)

PRINCIPIO:

El volumen de solución de azúcares reductores requerido para reducir completamente 10 ó 25 ml de solución de Fehling es determinado empleando azul de metileno como indicador redox para la evaluación del punto final. Un pequeño exceso de solución de azúcares reductores es necesario para la reducción del propio indicador.

REACTIVOS:

Solución A: Disolver 69.278 g de Sulfato de Cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en agua destilada y aforar a 1 litro.

Solución B: Disolver 100 g de Hidróxido de Sodio (NaOH) Y 346 g de Tartrato Sódico Potásico tetrahidratado ($\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) en agua destilada y aforar a 1 litro.

Solución Azul de Metileno: Disolver 1 g de Azul de Metileno en agua destilada y aforar a 100 ml.

PROCEDIMIENTO:

La solución de azúcares debe ser neutra y preferiblemente clarificada (las sales de plomo y calcio deberán removerse con Oxalato de Potasio). La concentración de la solución de azúcares deberá ser tal que en la titulación se empleen 15-50 ml de titulante (ésto es usualmente alcanzado con 0.1-0.3% p/v para 10 ml de Solución de Fehling y con 0.25-0.80% p/v para 25 ml de la misma solución). La solución de azúcares se coloca en una bureta de 50 ml.

TITULACION PRELIMINAR. Pipetear 10 ó 25 ml de solución de Fehling, colocarlos en un matraz Erlenmeyer de 250 ml y adicionar, de la bureta, 15 ml de la solución de azúcares. Calentar el líquido hasta ebullición empleando malla de asbesto y luego agregar 1 ml a la vez de solución titulante a intervalos de 10 a 15 segundos sobre el líquido ebullición hasta que el color azul esté por desaparecer. Entonces, agregar, de 3 a 5 gotas de azul de metileno (al 1%) y continuar la titulación hasta que el indicador sea completamente decolorado.

TITULACION FINAL. Repetir la titulación, agregando antes del calentamiento casi todo el volúmen de solución de azúcares requeridos para reducir el cobre. Dejar ebullicir la solución suavemente durante dos minutos, agregar de 3 a 5 gotas de azul de metileno como indicador y completar la titulación antes de un tiempo total de ebullición de 3 minutos. En el punto final todo el color azul deberá haber desaparecido y el líquido deberá tener una tonalidad rojo-anaranjada.

Para cuantificar los azúcares equivalentes a 10 ó 25 ml de solución de Fehling se emplean los cuadros F.1 y F.2.

CUADRO F. 1

INVERT SUGAR TABLE FOR 10 ml FEHLING'S SOLUTION

ml of sugar solution required	Solutions containing besides invert sugar:												
	No sucrose	1 g sucrose per 100 ml	5 g sucrose per 100 ml	10 g sucrose per 100 ml	25 g sucrose per 100 ml								
	Invert sugar factor*	invert sugar factor*	invert sugar factor*	invert sugar factor*	invert sugar factor*	invert sugar factor*	invert sugar factor*	invert sugar factor*	invert sugar factor*	invert sugar factor*	invert sugar factor*	invert sugar factor*	invert sugar factor*
	mg sugar per 100 ml	mg sugar per 100 ml	mg sugar per 100 ml	mg sugar per 100 ml	mg sugar per 100 ml	mg sugar per 100 ml	mg sugar per 100 ml	mg sugar per 100 ml	mg sugar per 100 ml	mg sugar per 100 ml	mg sugar per 100 ml	mg sugar per 100 ml	mg sugar per 100 ml
15	50.5	336	313	317	46.1	207	288	43.4	289				
16	50.6	316	312	297	46.1	288	271	43.4	271				
17	50.7	298	295	280	46.1	256	256	43.3	255				
18	50.8	282	278	264	46.1	243	243	43.3	240				
19	50.8	267	264	250	46.1	243	227	43.3	227				
20	50.9	254.5	251.0	238.0	46.1	230.5	230.5	43.2	216				
21	51.0	242.9	239.0	226.7	46.1	219.5	219.5	43.2	206				
22	51.0	231.8	228.2	216.4	46.1	209.5	209.5	43.0	196				
23	51.1	222.2	218.7	207.0	46.1	200.4	200.4	43.0	187				
24	51.2	213.3	209.8	198.3	46.1	192.1	192.1	42.9	179				
25	51.2	204.8	201.6	190.4	46.0	184.0	184.0	42.8	171				
26	51.3	197.4	193.8	183.1	46.0	176.9	176.9	42.8	164				
27	51.4	190.4	186.7	176.4	46.0	170.4	170.4	42.7	158				
28	51.4	183.7	180.2	170.3	46.0	164.3	164.3	42.7	152				
29	51.5	177.6	174.1	164.3	46.0	158.6	158.6	42.6	147				
30	51.5	171.7	168.3	159.0	46.0	153.3	153.3	42.5	142				
31	51.6	166.1	163.1	153.9	45.9	148.1	148.1	42.5	137				
32	51.6	161.2	158.1	149.1	45.9	143.4	143.4	42.4	132				
33	51.7	156.6	153.3	144.5	45.9	139.1	139.1	42.3	128				
34	51.7	152.2	148.9	140.3	45.8	134.9	134.9	42.2	124				
35	51.8	147.9	144.7	136.3	45.8	130.9	130.9	42.2	121				
36	51.8	143.9	140.7	132.3	45.8	127.1	127.1	42.1	117				
37	51.9	140.2	137.0	128.9	45.7	123.5	123.5	42.0	114				
38	51.9	136.6	133.5	125.3	45.7	120.3	120.3	41.9	111				
39	52.0	133.3	130.2	122.3	45.7	117.1	117.1	41.9	107				
40	52.0	130.1	127.0	119.2	45.6	114.1	114.1	41.8	104				
41	52.1	127.1	123.9	116.3	45.6	111.2	111.2	41.8	102				
42	52.1	124.2	121.0	113.5	45.6	108.5	108.5	41.7	99				
43	52.1	121.4	118.2	110.9	45.5	105.8	105.8	41.6	97				
44	52.2	118.7	115.6	108.4	45.5	103.4	103.4	41.5	94				
45	52.3	116.1	113.1	106.0	45.4	101.0	101.0	41.4	92				
46	52.3	113.7	110.6	103.7	45.4	98.7	98.7	41.4	90				
47	52.4	111.4	108.2	101.5	45.3	96.4	96.4	41.3	88				
48	52.4	109.2	106.0	99.4	45.3	94.3	94.3	41.2	86				
49	52.5	107.1	104.0	97.4	45.2	92.3	92.3	41.1	84				
50	52.5	105.1	102.0	95.4	45.2	90.4	90.4	41.0	82				

*mg of invert sugar corresponding to 10 ml of Fehling's solution.

CUADRO F. 2

INVERT SUGAR TABLE (25 ml)

Solutions containing besides invert sugar:				For 10 ml of Fehling's solution		For 25 ml of Fehling's solution		
ml of sugar solution required	No sucrose		1 g sucrose per 100 ml		mg dextrose per 100 ml	Dextrose factor ^a	mg dextrose per 100 ml	
	Invert sugar factor ^a	mg invert sugar per 100 ml	Invert sugar factor ^a	mg invert sugar per 100 ml				
15	123.6	824	123.6	817	49.1	327	120.2	801
16	123.6	772	123.7	767	49.1	307	120.2	751
17	123.6	720	123.7	713	49.3	289	120.2	707
18	123.7	667	123.7	662	49.3	274	120.2	668
19	123.7	631	123.8	626	49.4	260	120.3	633
20	123.8	619.0	123.8	614.0	49.5	247.4	120.3	601.5
21	123.8	569.5	123.8	564.8	49.5	235.8	120.3	571.8
22	123.9	563.2	123.9	558.2	49.6	225.3	120.4	543.3
23	123.9	528.7	123.9	524.0	49.7	216.1	120.4	523.6
24	124.0	516.7	123.9	512.1	49.8	207.4	120.5	501.9
25	124.0	496.0	123.0	492.0	49.8	199.3	120.5	482.0
26	124.1	477.3	123.0	473.1	49.9	191.8	120.6	463.7
27	124.1	459.7	123.0	455.6	49.9	184.9	120.6	446.8
28	124.2	443.6	123.1	439.6	50.0	178.5	120.7	431.1
29	124.2	428.3	123.1	424.4	50.0	172.5	120.7	416.4
30	124.3	414.3	123.1	410.4	50.1	167.0	120.8	402.7
31	124.3	401.0	123.2	397.4	50.2	161.8	120.8	389.7
32	124.4	388.7	123.2	385.0	50.2	156.9	120.8	377.6
33	124.4	377.0	123.3	373.4	50.3	152.4	120.9	366.3
34	124.5	366.2	123.3	362.6	50.3	148.0	120.9	355.6
35	124.5	355.8	123.3	352.3	50.4	143.9	121.0	345.6
36	124.6	346.1	123.3	342.5	50.4	140.0	121.0	336.3
37	124.6	336.8	123.4	333.5	50.5	136.4	121.1	327.4
38	124.7	328.1	123.4	324.7	50.5	132.9	121.2	318.8
39	124.7	319.7	123.4	316.4	50.6	129.6	121.1	310.7
40	124.8	311.9	123.4	308.6	50.6	126.5	121.2	303.1
41	124.8	304.4	123.5	301.2	50.7	123.6	121.3	295.0
42	124.9	297.3	123.5	294.1	50.7	120.8	121.3	286.0
43	124.9	290.5	123.5	287.3	50.8	118.1	121.4	282.4
44	125.0	284.1	123.6	280.9	50.8	115.5	121.5	276.1
45	125.0	277.9	123.6	274.7	50.9	113.0	121.5	270.1
46	125.1	272.0	123.6	268.7	50.9	110.6	121.6	264.3
47	125.1	266.3	123.7	263.1	51.0	108.4	121.6	258.8
48	125.2	260.8	123.7	257.7	51.0	106.2	121.7	253.5
49	125.2	255.5	123.7	252.5	51.0	104.1	121.7	248.4
50	125.3	250.6	123.8	247.6	51.1	102.2	121.8	243.6

^amg of invert sugar corresponding to 25 ml of Fehling's solution.^amg of dextrose corresponding to 10 ml of Fehling's solution.
^bmg of dextrose corresponding to 25 ml of Fehling's solution.

ANEXO G

ANALISIS ESTADISTICO PARA EL RENDIMIENTO DE PRODUCCION DE Candida utilis A PARTIR DE JUGO DE DESECHOS VEGETALES DE MERCADO EN FUNCION DEL NIVEL DE AIREACION APLICADO EN ESCALA DE PRODUCCION DE 5 LITROS EN REGIMEN DISCONTINUO.

G.1 ANALISIS DE VARIANZA EN UNA DIRECCION

One-Way Analysis of Variance

Data: CANDIDA.rendi

Level codes: CANDIDA.nivel

Labels:

Range test: Tukey

Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	72.065733	2	36.032867	90.233	.0021
Within groups	1.198000	3	.399333		
Total (corrected)	73.263733	5			

0 missing value(s) have been excluded.

REF.: STATGRAPHICS (1989).

CLAVES: CANDIDA. rendi: Rendimientos en g levadura/L substrato.

CANDIDA. nivel: Nivel de aireación.

(Ver Cuadro 9, Sección 4.7.1)

6.2 ANALISIS DE COMPARACION MULTIPLE DE PROMEDIOS (METODO DE TUKEY).

Multiple range analysis for CANDIDA.rendi by CANDIDA.nivel

Method: 95 Percent Tukey HSD Intervals

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
1	2	2.170000	*
2	2	5.600000	*
3	2	10.610000	*

REF.: STATGRAPHICS (1989).

CLAVES: Level 1: Aireación 10 L/min.
 Level 2: Aireación 20 L/min.
 Level 3: Aireación 30 L/min.
 Average: Promedios de los rendimientos de producción en y levadura/L de substrato a los niveles de aireación 1, 2 y 3 (Cuadro 9, Sección 4.7.1).

Count: Número de repeticiones = 2.

ANEXO H

REPORTES DE LOS LABORATORIOS
DE ANALISIS DE CALIDAD DE LA
LEVADURA PRODUCIDA

ANALISIS BROMATOLOGICO

Bachiller

Miguel Angel Vargas

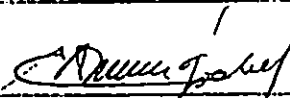

Estudiante de Ingenieria Química

Presente.

Por este medio le informo sobre los resultados obtenidos en nuestro laboratorio de las siguientes muestras:

N° de Lab.	Identificación de la muestra.	Humedad %	Cenizas %	Extracto Etereo %	Proteínas %	Fibra Cruda %	Carbohidratos %	Fósforo %	Calcio %
155	LEVADURA M-1 (LOTE N°6 Candida utilis)				27.19				
156	LEVADURA (BATCH N°4) M-2				38.84				
157	LEVADURA (BATCH No.3) M-3				53.49				

OTRAS DETERMINACIONES U OBSERVACIONES DEL LABORATORIO: **Carbohidratos por diferencia= 100-(%Cenizas+%E.E.+%Fibra Cruda+%Proteínas)

F. 
 Jefe de la Unidad de 

F. 
 Recibido

F. 
 Responsable de análisis.-

E
S
M
I

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD
ESPECIALIDADES MICROBIOLÓGICAS INDUSTRIALES
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS-CONSULTORÍA

San Salvador, 14 de Febrero de 1994.

S.A DE C.V.

Señor
 MIGUEL VARGAS
 Presente

Estimado Sr. Vargas:

Por medio de la presente estamos remitiendole los resultados de los análisis bacteriológicos efectuados en muestras según detalle:

Muestra	Levadura	Levadura
Lote número	5	6
<u>Escherichia coli</u> ufc por gramo	2,300	1,800
Recuento total de bacterias aeróbicas mesófilas, ufc/ g	737,100	79,300
<u>Salmonella</u>	Negativa	Negativa
Conclusión	Las muestras no reúnen requisitos de calidad microbiológica.	

ufc: unidades formadoras de colonias.

Atentamente,

ESPECIALIDADES MICROBIOLÓGICAS INDUSTRIALES, S.A. DE C.V.

Elvia Bertrando Húez de Oliva
 Dra. Elvia Bertrando Húez de Oliva
 Laboratorio de Investigación en
 Microbiología

LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN EN MICROBIOLOGÍA
 S.A. DE C.V.
 REG. J. V. P. D. F. No. 524

República de El Salvador
 MINISTERIO DE SALUD
 PROA. SOCIEDAD ANONIMA S.A. DE C.V.
 San Salvador, C.A. San Salvador

ANEXO I
DE LA VELOCIDAD ESPECIFICA DE CRECIMIENTO Y DEL TIEMPO
DE DUPLICACION, t_d .

Al terminar la fase de acostumbramiento, las células de levadura se han adaptado al medio de cultivo y comienzan a multiplicarse rápidamente, duplicándose regularmente con el tiempo el número de células vivas. El comportamiento que presentan se puede describir mediante las siguientes ecuaciones (Ferrufino y Boyle, 1984):

$$\left(\frac{dn}{dt}\right) = \mu n \quad \text{ó} \quad \left(\frac{1}{n}\right)\left(\frac{dn}{dt}\right) = \mu \quad (I.1)$$

donde,

μ = velocidad específica de crecimiento.

n = masa celular.

t = tiempo.

Integrando, se tiene:

$$\ln(n/n_0) = \mu t \quad (I.2)$$

La relación entre la velocidad de crecimiento y el tiempo de duplicación, viene dada por la ecuación:

$$t_d = (\ln 2 / \mu) \quad (I.3)$$

Aplicando las ecuaciones de la (I.1) a la (I.3) se calculan los valores de las variables aquí descritas. Los resultados obtenidos se exponen en el Cuadro 13 de la sección 4.8.1.

AD. ... CB ... 1948

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

ANEXO J

CURVA DE CRECIMIENTO DE Candida utilis EN JUGO DE DESECHOS VEGETALES OBTENIDA POR GUERRERO Y AGUILAR (1992).

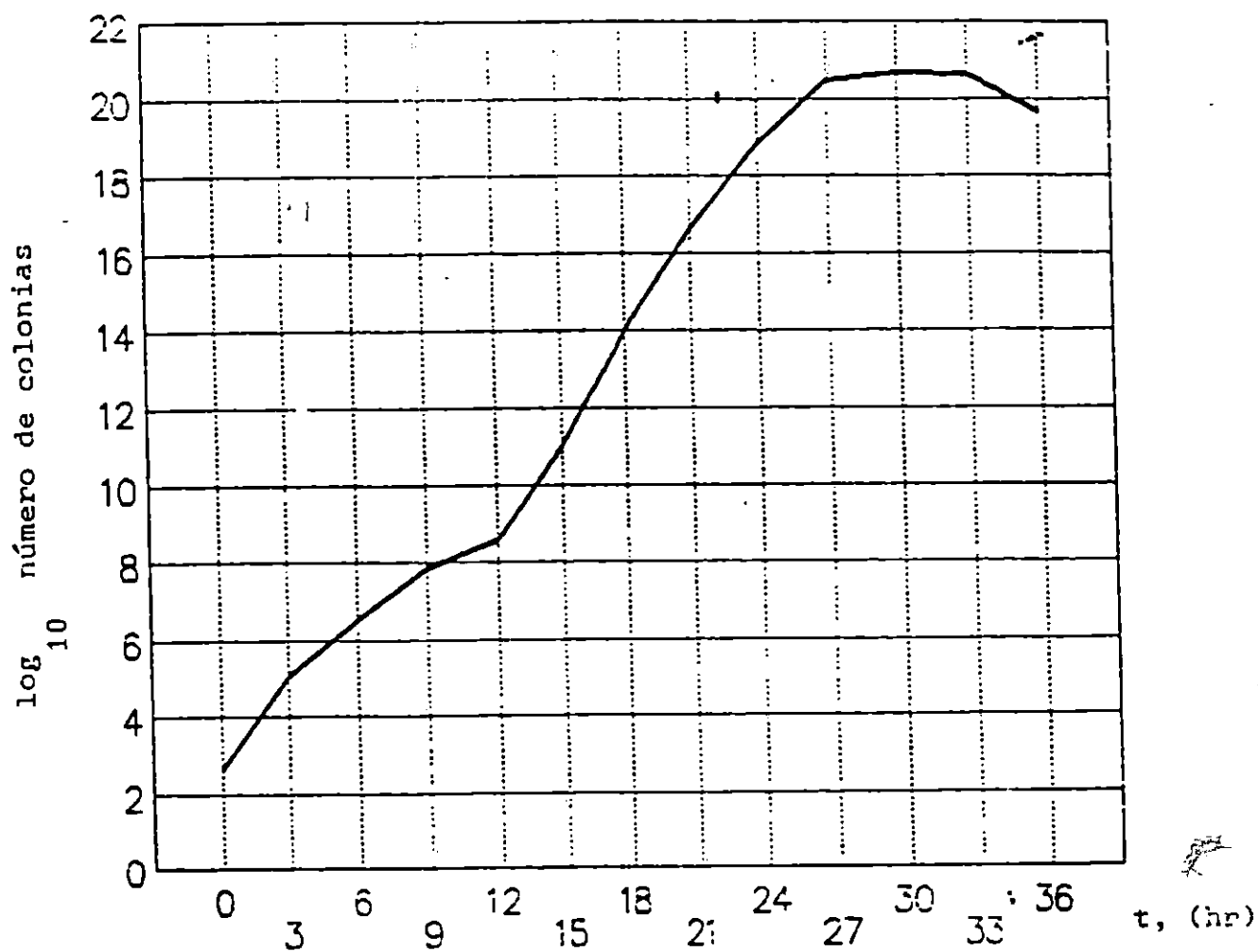


Figura 4.1 Curva de crecimiento de Candida utilis en jugo de desechos vegetales.