

53783

Universidad del Valle de Guatemala  
Facultad de Ciencias y Humanidades  
Departamento de Ingeniería Química

**“DISEÑO, CONSTRUCCION, Y MONTAJE  
DE UN SISTEMA DE FERMENTACION PARA LA  
PRODUCCION DE BIOMASA MICROBIANA”**

**Mario Alfonso Heredia de León**



**Guatemala  
1988**

"DISEÑO, CONSTRUCCION, Y MONTAJE  
DE UN SISTEMA DE FERMENTACION PARA LA PRODUCCION  
DE BIOMASA MICROBIANA"

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES  
DEPARTAMENTO DE INGENIERIA QUIMICA

"DISEÑO, CONSTRUCCION, Y MONTAJE  
DE UN SISTEMA DE FERMENTACION PARA LA PRODUCCION  
DE BIOMASA MICROBIANA"

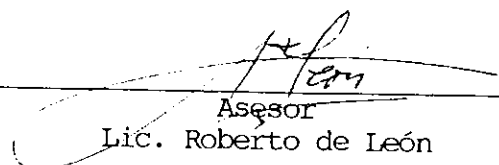
MARIO ALFONSO HEREDIA DE LEON

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO  
PARA OPTAR AL GRADO ACADEMICO DE  
LICENCIADO EN INGENIERIA QUIMICA.


GUATEMALA

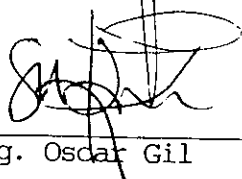
1988

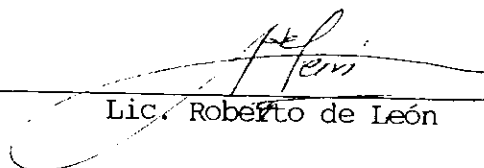
Vo. Bo.:

(f)   
Asesor  
Lic. Roberto de León

Tribunal:

(f)   
Ing. Miguel Angel Canja-Argüelles

(f)   
Ing. Oscar Gil

(f)   
Lic. Roberto de León

Fecha de aprobación: 8 de noviembre de 1988.

## INDICE DE MATERIAS

I.	INTRODUCCION .....	1
II.	LA BIOINGENIERIA.....	3
III.	FERMENTADORES .....	5
	A. Introducci3n .....	5
	B. El dise1o de los fermentadores .....	6
	1. Construcci3n del cuerpo .....	7
	2. Tipos de dispersadores de aire .....	11
	3. Arreglos para el Muestreo .....	16
	4. Filtros de entrada y salida de aire .....	17
	5. Puntos de Acceso .....	19
	6. Acceso para electrodos de pH .....	19
	7. Accesos para an1lisis de gases .....	21
	8. Acceso para otros requerimientos adicionales .....	22
	9. Control de temperatura .....	22
IV.	MATERIALES DE CONSTRUCCION .....	24
	A. Introducci3n .....	24
	1. Vidrio .....	25
	2. Metales .....	26
	i. Cobre .....	26
	ii. Lat3n, Bronce .....	26
	iii. Titanio .....	27
	iv. Hastelloy .....	27
	v. Platino .....	27
	vi. Aluminio .....	27
	vii. Acero Dulce .....	28
	viii. Acero Inoxidable .....	28
	3. Pl1sticos .....	29
	4. Hules .....	30
	B. Materiales para la construcci3n de estructuras o amazones .....	31
V.	TRANSFERENCIA DE OXIGENO Y DISE1O DE FERMENTADORES ..	32
	A. Dise1o de fermentadores .....	35
	1. Mezclado y Patrones de Flujo .....	35
	2. Tipo de Reactor .....	37
	3. Configuraci3n Geom3trica .....	40
	4. Transferencia de calor en un fermentador ..	42
	B. Nuevos dise1os .....	44

IV.	ESTERILIZACION DE LOS GASES Y DEL MEDIO DE CULTIVO ..	46
A.	Introducción .....	46
B.	Esterilización del Aire .....	47
1.	Filtración de los Gases .....	47
2.	Esterilización del aire por medio de calor	50
C.	Esterilización del medio de cultivo .....	52
1.	Vapor .....	53
2.	Filtración .....	56
3.	Esterilización química .....	57
VII.	MATERIALES, METODOS Y CRITERIOS EN EL DISEÑO .....	59
A.	Introducción .....	59
B.	Tipo de Fermentador .....	59
C.	Tamaño .....	60
D.	Materiales de Construcción .....	62
E.	Método de calentamiento y enfriamiento .....	66
F.	Sistema de agitación .....	68
G.	Esterilización del equipo, del medio de cultivo y de las corrientes gaseosas .....	69
H.	Accesos para controles .....	72
I.	Toma de muestras y puntos de acceso al fermentador .....	73
J.	Planos .....	74
VIII.	COSTOS DE INVERSION .....	78
IX.	EVALUACION Y DISCUSION DE RESULTADOS .....	79
X.	CONCLUSIONES .....	80
XI.	RECOMENDACIONES .....	81
XII.	BIBLIOGRAFIA .....	82

## INDICE DE GRAFICAS

Demanda de oxígeno en cultivos discontinuos.....	15
Efecto de la velocidad en la retención de partículas .....	48

## INDICE DE TABLAS

Efecto del flujo de aire en la velocidad de transferencia de oxígeno .....	13
Diferentes unidades de $k_L a$ .....	34
Valores relativos de los coeficientes de transferencia de calor .....	44
Condiciones de tiempo/temperatura para esterilización ....	54

## INDICE DE FIGURAS

Dimensiones típicas de un fermentador agitado .....	10
Patrones de flujo .....	36
Patrones de flujo en tanques con o sin deflectores .....	36
Patrones de flujo para diferentes tipo de fermentadores ..	38
Curvas de distribución de tiempo de residencia .....	39
Dimensiones y relaciones estándar para un fermentador ....	41
Varias configuraciones geométricas .....	42
Areas de transferencia de calor .....	43
Dimensiones y relaciones geométricas para un fermentador tipo "air lift" .....	45

## INDICE DE ILUSTRACIONES

Detalle del cuerpo del fermentador .....	62
Detalle del interior del tanque .....	63
Detalle de la tapadera .....	66
Detalle de la chaqueta .....	67
Detalle del dispersor de aire .....	69
Detalle de los filtros para el aire .....	71
Detalle de los puntos de acceso para controles .....	74

## I. INTRODUCCION.

La bioingeniería es la rama de la Ingeniería Química que más auge ha cobrado en los últimos años debido a la creciente necesidad de obtener, a gran escala, productos específicos que pueden ser sintetizados por medio de fermentaciones y por la ventaja de utilizar materias primas renovables y de bajo costo. Dado que en la Universidad del Valle no existe equipo para ensayar estos procesos por parte de estudiantes de Ingeniería Química y de otras carreras afines, surgió la idea de construir un fermentador de usos múltiples.

Entre los objetivos que se persiguen con este proyecto está demostrar que los estudiantes de Ingeniería Química tenemos los conocimientos básicos para introducirnos en el campo del diseño de equipo y no depender de los consultores externos o de la importación de maquinaria en el momento que se presenta una necesidad específica. A la vez se pretende comprobar que en Guatemala existen talleres con la tecnología y mano de obra calificada para poder llevar a cabo tales proyectos, siempre y cuando sean correctamente asesorados por el ingeniero diseñador.

El equipo se construyó según planos y especificaciones dadas a los talleres y se pudo comprobar que la calidad del trabajo era buena. El montaje se realizó con pequeños contratiempos, pero una vez instalado se puso en marcha verificándose que el diseño sí se aplica por lo menos a la

producción de levadura de panadería.

Tanto los sistemas de esterilización como los de agitación/aireación y calentamiento/enfriamiento son adecuados para poder monitorear adecuadamente el proceso.

Con el equipo construido se optimizaron las condiciones de operación para la producción de biomasa microbiana y a la vez se elaboró un manual para el usuario.

Este trabajo fue desarrollado en dos partes. Aquí se presenta lo referente al diseño, construcción y montaje del fermentador. La parte de evaluación, optimización y elaboración de manuales estuvo a cargo de José Francisco Valenzuela Mejía.

## II. LA BIOINGENIERIA.

Biotecnología es un nuevo nombre para el proceso que tiene sus raíces en la antigüedad, la fermentación.

Miles de años atrás, las personas aprendieron a producir vino, queso y pan por medio de fermentaciones. La fermentación comenzó como una ciencia en 1857 cuando Luis Pasteur descubrió que ésta es el resultado de la acción de microorganismos específicos. La fermentación como una industria comenzó a principios del siglo XX, con la producción de enzimas microbianas, ácidos orgánicos y levaduras. El uso comercial de técnicas de fermentación se desarrolló significativamente durante los primeros 30 años de este siglo.

La fermentación vino a ser utilizada por la industria farmacéutica cuando estaba siendo establecida en la década de los años cincuenta. En los años sesenta, muchos de los procesos estables en esta industria fueron convertidos a rutas de síntesis orgánica, debido a que las materias primas eran costosas y este movimiento de la economía vino a fortalecer la fermentación.

En 1950 se realizó investigación en los genes o bloques fundamentales de la vida. En 1966 se estableció el código genético completo. En 1973, fragmentos de ADN fueron insertados en ADN plásmido para crear quiméricos plásmidos.

Hoy día la biotecnología puede ser definida como la colección de procesos industriales que envuelven el uso de

sistemas biológicos, principalmente fermentación y procesos asociados. La Ingeniería Genética puede ser definida como la técnica de laboratorio usada para modificar el código hereditario de una célula viviente, dando ésta habilidades nuevas y únicas. (Bjurstrom, 1985).

#### Comidas y Bebidas:

En esta área se tienen tres tipos de productos de mayor importancia: bebidas alcohólicas, edulcorantes y proteína unicelular.

Muchos ingenieros químicos están familiarizados con el uso de la fermentación para producir cerveza y vino.

#### Sistemas de Fermentación:

El potencial de la Ingeniería Genética cubre nuevos productos que no pueden ser obtenidos de otra manera, así como aquellos producidos corrientemente por rutas sintéticas. Por esto, en los últimos años se ha venido desarrollando extensos programas de investigación en laboratorios especializados, obteniéndose mucha información acerca de nuevos procesos o rutas de síntesis. (Bjurstrom, 1985).

El reto de los ingenieros químicos es trasladar exitosamente estos procesos de la escala de laboratorio a escala industrial.

### III. FERMENTADORES

#### A. Introducción:

La función de un fermentador es proveer el medio ambiente para el crecimiento de organismos o células bajo condiciones controladas. Una fermentación usualmente toma más tiempo llevarla a cabo que la mayoría de procesos químicos. Esta es, entonces, la primera y tal vez la especificación más difícil con que pueden encontrarse los diseñadores; la versatilidad de operación medida en términos de días y no horas, (con fermentadores continuos el tiempo de operación es medido en semanas). Debido a esta necesidad de versatilidad, el ingeniero requiere comenzar de diferentes órdenes de magnitud. En esta forma los experimentos de fermentación sólo pueden ser conducidos con equipo apropiado y que generalmente puede significar un equipo costoso. Se han hecho muchos intentos por adaptar diferentes tipos de recipientes de cristalería de uso común en el laboratorio, pero nunca han sido satisfactorios. Los equipos simples e improvisados pueden trabajar, pero usualmente sólo proveen información y resultados sencillos.

Combinado a la necesidad de gran versatilidad mecánica está la necesidad de operación bajo condiciones asépticas. Primero deben asegurarse las condiciones de asepsia en el fermentador y sus contenidos y en seguida la preservación de la esterilidad durante el período de operación.

En adición a estas dos primeras necesidades discutidas hay puntos generales de buen diseño (no solamente relacionados al equipo de fermentación). El equipo deberá ser flexible, es decir, condiciones controladas para el diseño y operación de los componentes individuales del fermentador, los que deberán ser posibles de alterar; control de la temperatura por medio de calentamiento y enfriamiento; control del pH; agitación por medio de la velocidad del agitador, tamaño del impulsor y/o su diseño; velocidades de aireación-velocidad del agitador y flujo del gas, diseño del dispersor-con deflectores o sin ellos, etc. Se debe prever el muestreo adecuado del contenido del fermentador, no solamente del cultivo sino también de la corriente de salida de gases y gases disueltos. A esto también es necesario proveer de un medio adecuado para adición del inóculo y para aquellas que puedan ser requeridas: antiespumante, nutrientes, ácido, álcali, etc. siempre y cuando sean bajo condiciones de asepsia.

#### **B. El diseño de los fermentadores:**

Son posibles muchos análisis en la discusión de los diseños de equipos, pero para este propósito aquí se analizarán los componentes individuales por separado. Por medio de este análisis se pretende diseñar un fermentador que pueda aplicarse para diferentes prácticas experimentales. Los diseños usados para organismos patógenos serán considerados sólo en términos muy generales,

ya que solamente investigadores especializados están capacitados para manejar patógenos en cultivos de masa.

1.- Construcción del Cuerpo: La mayoría de los cuerpos de los recipientes utilizados en plantas piloto están hechos de acero inoxidable o de vidrio. Hasta un tamaño de 10 - 20 litros los recipientes de vidrio son los más recomendados. Estos son lisos, no tóxicos, poco más o menos a prueba de corrosión y tienen la gran ventaja de permitir observar a través de él como está la agitación y aireación dentro del fermentador.

Los recipientes de vidrio tienen dos tipos de diseño principales. El primero consiste de un recipiente con fondo redondeado o plano con una pestaña en lo alto, donde usualmente llevan una tapadera plana de metal. Este tipo de construcción ha sido usada ampliamente en muchos diseños comerciales (New Brunswick Scientific Co. Inc., L. H. Engineering Ltd.). Todos estos modelos necesitan esterilización por medio de autoclaves.

Un diseño alternativo emplea un cilindro de vidrio fijado en ambos extremos con un plato de metal.

El cuerpo es usualmente hecho de cristalería industrial y puede ser esterilizado "in situ". Los máximos de presión utilizados por los fabricantes son de 172.4 KPa. (25 psig) para 15.18 cm. (6 pulg.) de diámetro, 103.4 KPa. (15 psig) para 22.8 cm. (9 pulg.) y 75.9 KPa. (11 psig) para 30.4 cm. (12 pulg.). Si se va a usar vapor como agente

esterilizante, entonces el tamaño de 30.4 cm. (12 pulg.) de diámetro se convierte en el tamaño limitante debido a que la esterilización abajo de 69.0 KPa. (10 psig) no es efectiva.

Los recipientes de vidrio con una tapa plana de metal se aseguran por medio de una pestaña simple y un aro de empaquetadura.

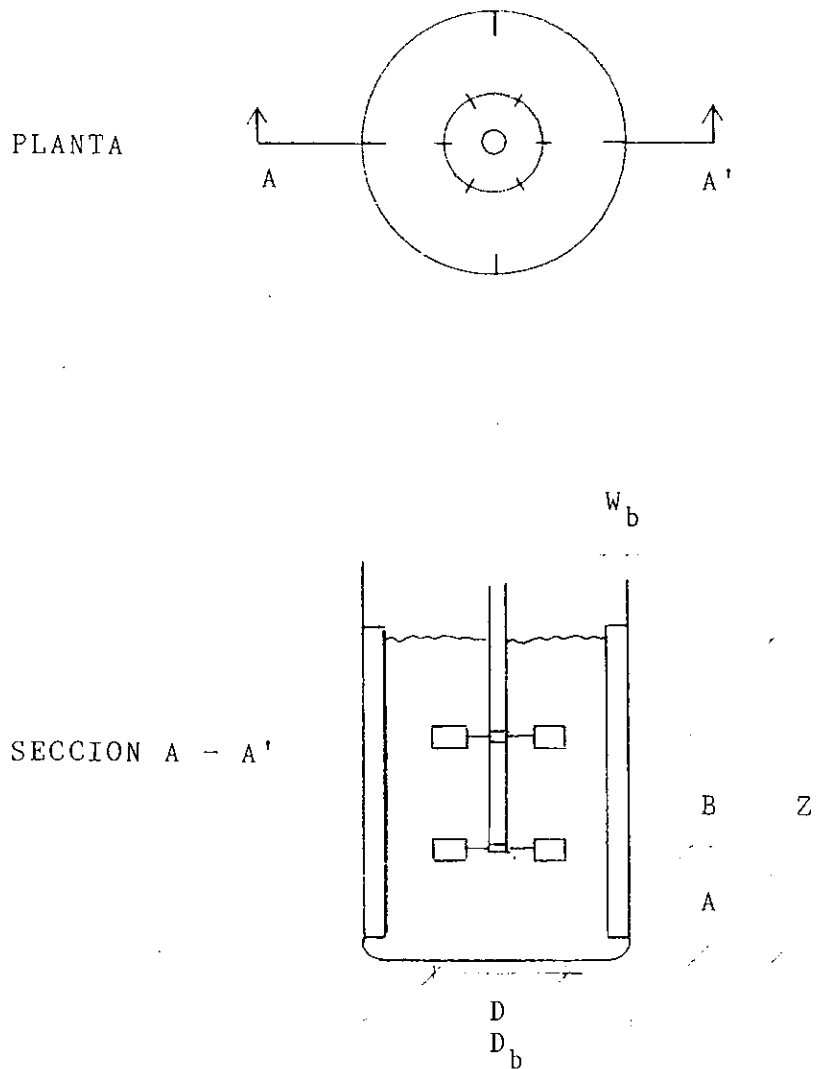
Los recipientes pequeños de acero inoxidable son contruidos de un cilindro formado de una hoja de metal soldada a lo largo de la pestaña y el fondo generalmente es cóncavo y está soldado al cilindro. Existen 3 tipos de fondos cóncavos de la British Standard (BS); el No. 2 es uno de los empleados usualmente.

En la otra terminal de cilindro se suelda una pestaña la cual permite que se pueda atornillar un plato superior. Los recipientes grandes, hasta de aproximadamente 756 litros. (200 gal.) usualmente tienen platos soldados en ambos extremos del cuerpo cilindrico, debido a que las áreas grandes envuelven la necesidad de un grosor excesivo de los platos superiores para resistir la presión. Los agujeros que permitan la entrada de personas y/o manos es necesario colocarlos en el plato del fondo para tener acceso al interior del recipiente. Algunos diseños de recipientes para pequeñas plantas piloto emplean un plato superior soldado a una pestaña, de tal manera que pueda ser atornillado a otra pestaña en el cuerpo o ser directamente soldado. Todas las partes internas deberán ser lisas.

Las dimensiones relativas de los recipientes para la

fermentación están mostrados en la Fig. No. 1.; la relación H/D deberá estar entre 1 y 2. Los recipientes pequeños son construidos usualmente con una relación de 1, mientras que para grandes plantas piloto la relación es usualmente hasta de 2. La relación es un hecho extremadamente importante debido a que el grado de aireación y de mezclado está influenciado grandemente por este factor. Un solo impulsor puede agitar adecuadamente un recipiente con una relación H/D de 1; si esta relación es mayor, entonces se requerirá de impulsores adicionales. El mezclado radial, que es un mezclado a través del tanque, en este caso es eficaz, pero de arriba hacia abajo el mezclado no es eficiente debido a que cada impulsor tiende a formar un volumen agitado a su alrededor con un intercambio comparativamente pequeño entre las diferentes regiones agitadas. El problema disminuye cuando se coloca una boquilla dispersora de aire que ayuda a la mezcla total dentro del tanque. Con relaciones H/D arriba de 2, los contenidos del tanque probablemente no estarán homogéneos. Esto quizá no es tan crítico en fermentaciones por tandas, pero con fermentaciones continuas es completamente inaceptable debido a que el mezclado perfecto es un prerrequisito para este tipo de sistema. (Quintero, 1981).

FIG. No. 1: Dimensiones típicas de un fermentador agitado:  
 $Z/D_b = 1.0$ ;  $D/D_b = 0.34$ ;  $A/D = 0.8$  a  $1.0$ ;  $B/D = 1.0$  a  $1.2$ ;  
 $w_b/D = 0.08$  a  $0.10$ . (Quintero, 1981).



2.- Tipos de dispersores de aire: En sistemas no agitados, el diseño de los dispersores es de considerable importancia debido a que la corriente de aire introducida es la única forma de potencia suministrada al sistema. Las fermentaciones con levaduras son agitadas comúnmente sólo con aire comprimido y los dispersores usados para este tipo de arreglo casi siempre consisten de una fila de tubos provenientes de un múltiple central con pequeños agujeros barrenados en el fondo y lado de los tubos. Los agujeros son colocados en el fondo con el propósito de permitir que los tubos sean fácilmente drenados, ya que el líquido remanente en los tubos es foco potencial de infección para cultivos posteriores. Otro diseño de dispersor común consiste de un simple anillo montado abajo del propulsor. Los dispersores de vidrio en tolva, cerámica, y metal se usan para proveer una corriente fina de burbujas.

Sin otra forma de agitación, estos diseños pueden ser beneficiosos, pero cuando están provistos de agitadores ofrecen una pequeña ventaja práctica. La presencia de microorganismos, especialmente micro-hongos, permiten una rápida coalescencia de las burbujas a manera de lograr una reformación de burbujas, la cual se requiere para proveer altas velocidades de transferencia de oxígeno.

La mayoría de fermentadores modernos usan un simple dispersor de un solo agujero para proveer la corriente de aire. Está montado generalmente en el centro por debajo del

agitador de manera que el agitador sea más efectivo. Así se asegura que el agitador no está "anegado" por la corriente de aire, el aire choca directamente con el agitador para luego revolver una burbuja grande de aire, decreciendo la eficiencia como un medio de mezclado. La tubería del dispersor deberá tener una unión justo debajo de la tapadera, de manera que el dispersor pueda removerse si es necesario, de forma que el fermentador se pueda convertir en un sistema de aireación de tipo remolino. Este método todavía requiere de aire para soplarlo sobre la superficie del cultivo y una boquilla de tubería recortada provee el medio para que esto ocurra.

El aire suplido al fermentador puede ser calculado de dos formas. El normalmente usado en laboratorios es el método volumétrico, es decir, volumen de aire/ volumen de medio/ minuto (VVM). Los primeros investigadores adoptaron arbitrariamente el valor de 1 VVM y éste se ha convertido en un valor estándar. En efecto, para un recipiente bien diseñado éste es un óptimo aproximado; la Tabla 1 muestra que el aire suplido en exceso de este valor de 1 VVM es prácticamente desperdiciado. Esto también regula las dificultades de la espuma y puede incrementar la velocidad de remoción de intermedios volátiles tales como el acetaldehído.

**TABLA No 1:** Efecto del flujo de aire en la velocidad de transferencia de oxígeno (sistema provisto de deflectores). (Solomons, 1969).

Dato de	Recipiente e impulsor	rpm	VTO, mM <sub>2</sub> /l/hr		
			1 VVM	2 VVM	2.5 VVM
Solomons	6" recipiente 2" turbina	850	95	101.5	106.6
Brierley y Steel	6" recipiente 2" turbina	800	75	80	---
Elsworth et. al.	13" recipiente 4" turbina	840	228	283	---

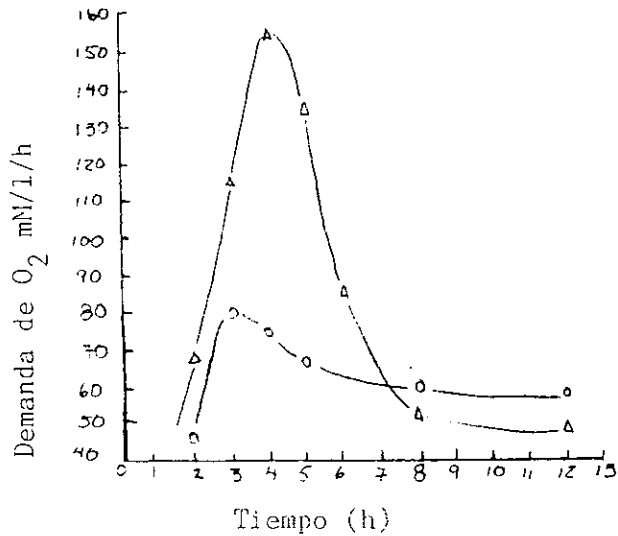
VTO = velocidad de transferencia de oxígeno.  
VVM = volumen de aire/ volumen de medio/ minuto.  
mM<sub>2</sub> = milimoles de oxígeno.

Los ingenieros químicos prefieren expresar el flujo de gas como una velocidad superficial ( $S_v$ ), que está expresada en unidades de longitud/ tiempo y corresponde a la velocidad a la que el gas se mueve a través de una sección transversal del área del recipiente. También se debe procurar mantener constante este valor en el escalamiento, pero debido a que las dimensiones del recipiente se duplican, significa que el volumen se incrementa octuplicándose, con lo que la cantidad de aire por unidad de volumen realmente decrece por este método. Muchos factores gobiernan la velocidad real a la

cual el aire suplido puede ser realmente utilizado en la fermentación. El tipo de agitador o hélice es el más crucial, ya que una hélice marina está usualmente inundada por la corriente de aire por encima de una  $S_v$  de 21.34 m/h (70 pies/hora), mientras que las disco-turbinas pueden operar con flujos de hasta 121.95 m/h (400 pies/hora) sin presentar este problema.

Las velocidades de dispersión presentan una de las paradojas del diseño y operación de fermentadores. Por un lado los requerimientos de oxígeno de un organismo permanecen casi independientes del tamaño del recipiente y por el otro, en recipientes grandes no puede pasar las velocidades de flujo volumétrico que son necesarias para satisfacer la demanda si ésta es alta. Para muchos organismos los requerimientos reales de oxígeno son relativamente bajos, 10 - 50  $\text{mMO}_2/\text{l/h}$ , dependiendo obviamente, de la concentración celular, del medio de cultivo, etc. Sin embargo, muchas bacterias aeróbicas tienen requerimientos de oxígeno extremadamente altos. En fermentaciones por lotes, este requerimiento pico se manifiesta solamente en unas pocas horas o a veces menos al inicio de la incubación, tal y como puede verse en la gráfica No. 1, pero a veces puede encontrarse al final del ciclo de fermentación y en consecuencia se obtiene un rendimiento bajo.

GRAF. No. 1: Demanda de oxígeno en cultivos discontinuos de *Pseudomonas sp.* y *B. Subtilis*.<sup>A</sup>(Solomons, 1969).



Si se tienen altas concentraciones celulares que presentan altas demandas de oxígeno, entonces se deberá recurrir a técnicas que provean suficiente oxígeno en la corriente gaseosa. Debido a que el oxígeno obedece a la ley de Henry esto se puede hacer de dos maneras; primero, simplemente incrementando la presión operacional en el fermentador, alterando la presión parcial del oxígeno en la corriente de aire, resultando en una mayor velocidad de transferencia. O por medio de la sustitución de oxígeno por aire provocando un incremento quintuple de la velocidad de transferencia para obtener el mismo efecto.

3.- Arreglos para el muestreo: Los requerimientos de un buen sistema de muestreo son que primeramente pueda proveer de una muestra representativa del cultivo, como segundo requisito la línea de muestreo deberá ser capaz de retornar el flujo hacia el fermentador para reducir la cantidad de muestra tomada, y por último el sistema deberá ser rápido y fácil de usar para asegurar la operación aséptica. Las bacterias y otros microorganismos unicelulares usualmente no presentan problemas respecto del muestreo, su tamaño pequeño y la baja viscosidad del cultivo (excepto cuando se forman polímeros) asegura que el fluido que saldrá a través de la tubería muestreadora es representativo del cultivo total. Con cultivos de mohos, generalmente éste no es el caso. Idealmente, la velocidad de muestreo deberá ser la misma que la del líquido en el tanque. Si la muestra está fluyendo a través de la tubería muy lentamente, puede haber una marcada tendencia a que el líquido de soporte (medio de cultivo) pase a través de la tubería, en preferencia al material suspendido (mohos u otros organismos filamentosos). Se aplica el contrario si el muestreo es demasiado rápido, a pesar de que éste no es el problema con los mohos; el problema es frecuentemente obtener que fluya todo a través de una pequeña tubería. La tubería de muestreo deberá terminar a 2.54 cm. (1 pulg.) del agitador para asegurar así que la muestra está lo mejor mezclada posible. Es un error común tener el muestreador entre 1.27 y 2.54 cm. (1/2 y 1 pulg.) del fondo del

recipiente. (Quintero, 1981).

Se debe prever que el aire estéril vacíe las líneas antes de cada muestreo con el propósito de remover el material de los "espacios muertos", que es el cultivo que llena la línea de muestreo debido al nivel de cultivo dentro del recipiente. El procedimiento se deberá repetir luego que se ha tomado la muestra. Se considera buena práctica, descartar los primeros 20-25 ml de muestra que salen de la línea de muestreo.

4.- Filtros de entrada y salida del aire: La mayoría de los diseños de fermentadores toman en cuenta los filtros para aire, a pesar de que pocos usan aire caliente esterilizado, ésta podría ser una excepción. Consideraciones detalladas del diseño y funcionamiento de un filtro se encuentran en el capítulo VI, pero la construcción práctica y su distribución se discute aquí.

Se requieren filtros de entrada para remover los microorganismos presentes en el aire comprimido suplido para la fermentación. El filtro de salida es principalmente importante para prevenir la entrada de infección al fermentador durante la etapa de enfriamiento del ciclo de esterilización, a pesar que también se usa para prevenir el retorno de la infección durante la corrida en sí. El filtro de entrada deberá estar cerca o fijo a la tubería del dispersor, la cual termina abajo del nivel del medio en el fermentador, excepto en el caso de la aireación de vórtice.

Si el medio y el fermentador son esterilizados juntos en un autoclave, la tubería del dispersor deberá cerrarse antes del filtro, ya que de otra forma el medio de cultivo saldrá a través de la línea, vaciándose toda la tanda.

El sistema de filtros comúnmente usados, consiste de un tubo, de metal o vidrio, empacado con un material fibroso, lana de vidrio, lana de algodón, lana de escoria, etc. Se utiliza uno en la entrada y otro a la salida, montados horizontalmente. Este arreglo es satisfactorio a pesar que en el filtro de salida ocurre condensación. Para evitar el problema de condensación en la salida, existen dos caminos a tomar. En pequeños fermentadores de laboratorio, la solución más práctica es la de remover el exceso de vapor de agua o gotas, por medio de un condensador de agua fría, en fermentadores comerciales producidos por New Brunswick Scientific Co. Inc. y Chemap Ltd., por ejemplo, se utiliza este tipo de equipo. Cuando el espacio es restringido, los filtros frecuentemente son de diámetros pequeños, 2.54 - 5.08 cm. (1-2 pulg.), resultando en un considerable desarrollo de contra presión en el fermentador, provocando rebalses o evitando que las líneas de adición para antiespumante, ácido o álcali, funcionen correctamente. Casi siempre la presión generada debido al condensado que moja el material de empaque forma un tapón y genera contrapresión causando que las líneas de adición "fluyan hacia atrás" y se rebalse el fermentador. Para fermentadores grandes con una tubería que provee vapor, la solución está en colocarle una

chaqueta de vapor al filtro, asegurándose así que el material filtrante se mantenga seco y efectivo. La condensación de seguro ocurrirá fuera del filtro, en una línea que no es estéril y por lo tanto puede ser fácil de drenar. (Aiba, 1973).

5.- Puntos de acceso: Debe pensarse al construir un fermentador, en proveer puntos para la introducción del inóculo, de aditivos estériles tales como nutrientes adicionales, o antiespumante, etc. Para grandes cantidades de fluidos, arriba de 50 ml, es conveniente el uso de recipientes adicionales. Los recipientes de la QVF Ltd. hechos de tubería de vidrio de 15.24 cm. x 5.08 cm. (6"x2"), con capacidad de 300 ml, son apropiados para recipientes de 10 litros; son dos, uno se utiliza para el antiespumante y el otro para el inóculo. Están provistos de líneas equilibrantes de la presión de manera que la presión pueda ser reducida en los recipientes, durante el llenado, sin afectar la presión del fermentador. El mismo diseño es bastante satisfactorio para recipientes en plantas piloto. Una alternativa a los recipientes de adición fijos es el uso de una conexión esterilizable con el propósito de adaptarle un recipiente esterilizado por separado, usualmente una botella o un aspirador. (Quintero, 1981).

6.- Acceso para electrodos de pH: Hay dos sistemas disponibles para el montaje de electrodos de pH en un fermentador. El primero, por un sistema de corriente

desviada, ya sea en circuito abierto o cerrado donde la muestra es aspirada del fermentador, pasando a través de una tubería en la cual están montados los electrodos. En el sistema abierto que puede ser usado en el cultivo continuo, el flujo puede ser inducido ya sea por una bomba, o puede salir junto con el cultivo en el punto de descarga. El sistema cerrado es el más común de estos arreglos, aquí la muestra es aspirada del fondo del recipiente por medio de una bomba, pasa a los electrodos y retorna a lo alto del tanque.

El segundo método de montaje de electrodos de pH es directamente en el tanque. También se puede hacer de 2 formas, ya sea por el montaje de los electrodos en una muesca completa, la cual puede hacerse descender entre el fermentador, o un sistema en el cual los electrodos son montados directamente a través de la tapadera o de las paredes del recipiente.

Los primeros electrodos esterilizables requerían de medios químicos para lograrlo, ya sea mediante el uso de óxido de etileno gaseoso, o desinfectantes líquidos, por ejemplo: cloruro de benzalconio al 0.5% y posiblemente era más fácil insertar éstos asepticamente en un sitio conveniente fuera en la tubería que dentro del fermentador directamente. Las desventajas reales de los sistemas de circuitos cerrados son, que necesitan de una bomba y una tubería, con lo cual aumentan las dificultades de fugas y asepsia e implica que cierta parte del cultivo esté fuera de

contacto con el oxígeno suministrado cuando está pasando por el sistema de bombeo.

Con cultivos continuos, el sistema abierto de corriente desviada es bastante adecuado, aunque al disponer de excelentes electrodos esterilizables con vapor, ha declinado su uso ya que se tiene la posibilidad del método del montaje directo.

Para uso en fermentadores pequeños es posible montar los electrodos directamente en la tapadera superior, sellando ésta, ya sea con un anillo de empaque o pasándolo a través de un tapón de hule ayudado por un tipo de collarín o cuello. El tamaño del recipiente en el cual va a ser ensamblado el electrodo dictará la longitud a utilizar, éstas pueden variar considerablemente.

7.- Accesos para análisis de gases: En fermentadores por lotes, la salida de gases es fácilmente muestreable del lado no estéril del filtro de salida, pero con la mayoría de diseños de fermentadores continuos, la corriente de aire deja el fermentador por la misma tubería conforme el cultivo fluye y se separan en el receptor del producto. Ahora bien, esto es usual en el caso de pequeños fermentadores de laboratorio, para los cuales el receptor es mucho mayor que el fermentador, una relación de 20:1 es bastante común. Si el receptor está medio lleno, se tienen 10 veces el volumen de cultivo respecto del fermentador y si el proceso metabólico continúa producirá una alteración en la composición del gas en la cavidad superior. Por esta

razón se prefiere tomar la muestra de la corriente de gas de salida directamente de la cavidad superior de los fermentadores pequeños de este diseño. La corriente de gas que será proporcionada al instrumento analítico a utilizar, por ejemplo, analizadores de oxígeno y dióxido de carbono, deberán estar libres de condensado y al mismo tiempo no deben presentar riesgo de contaminación que puedan incurrir al fermentador por las líneas de gas no estériles.

8.- Acceso para otros requerimientos adicionales: Otras aberturas que son necesarias en las tapaderas de los fermentadores son para los sensores de nivel de espuma, indicadores de presión e indicadores de nivel o contenido. Las sondas para oxígeno disuelto y para dióxido de carbono requieren ser montadas en forma similar a los electrodos de pH. Los tubos necesarios para introducir ácido o álcali, para el control del pH, pueden usarse conjuntamente con los recipientes para adición descritos anteriormente. Preferiblemente, los tubos de alimentación deberán terminar por debajo de la superficie del cultivo y en la entrada del flujo del rodete. Si la solución es meramente goteada en la superficie del cultivo, la presencia de la capa espumosa retardará grandemente el mezclado y consecuentemente se tendrá un control pobre.

9.- Control de temperatura: La incubación en cuartos a temperatura constante no es posible, ya que a veces se

requiere de calentamiento y otras de enfriamiento. Los baños térmicos de agua son bastante utilizados para el control de la temperatura, pero se prefieren generalmente los sistemas individuales de control de temperatura ya que al mismo tiempo ofrecen un control más flexible. Los baños térmicos de agua raramente presentan problemas de contaminación. (Kern, 1988).

Para fermentadores de plantas piloto de más de veinte litros de capacidad, invariablemente deben estar provistos de chaquetas ya que se utilizan para pasar vapor durante la esterilización y para pasar agua con temperatura controlada durante la incubación. Los recipientes mayores de 3785 litros. (1000 gal.) usualmente tienen serpentines internos en lugar de las chaquetas, ya que la relación de área superficial a volumen es desfavorable para este tamaño. Para recipientes de hasta 20 litros de capacidad, el método usual para proveer calentamiento y enfriamiento es por medio de alguna forma de espiral o un tubo delgado. Algunas veces están dotados de pequeños calentadores de inmersión con un tubo delgado para calentamiento, lo que permite que el controlador actúe directamente. Con fermentadores muy pequeños la introducción de serpentines o tubos delgados conducen a un disturbio considerable en el patrón de circulación de la agitación. Por estas razones se ha hecho uso de un plato intercambiador de calor en la base del fermentador.

#### IV. MATERIALES DE CONSTRUCCION.

##### A. Introducción:

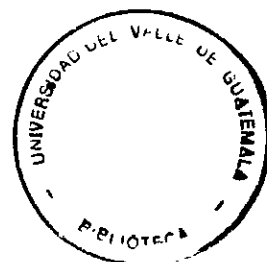
Los requerimientos de los equipos de fermentación respecto de los materiales de construcción son algo modestos pero a la vez exigentes. Las presiones raramente exceden de 103.4-206.9 KPa. (15-30 psig); y las temperaturas alcanzan solamente de 121-130°C y muy raramente caen por debajo de 25°C. Estos requerimientos son bastante modestos comparados con los de la mayoría de plantas químicas. Cuando se empieza a tomar en cuenta los intervalos de pH, las necesidades son ligeramente más demandantes, un recipiente para propósitos generales puede esperarse que alcance un pH de 1 a 2 (por ejemplo, en la fermentación de ácido cítrico) y un máximo de alrededor de 9 a 10 (en el estado de autólisis de algunas fermentaciones bacterianas). Sin embargo, la necesidad de evitar contaminación por iones de metales pesados usualmente excluye el uso de cobre y sus aleaciones, plomo y algunas veces el hierro, en la construcción de las partes del sistema que están en contacto con el cultivo. Similarmente los requerimientos de esterilidad con vapor húmedo remueve la posibilidad de usar algunos plásticos y muchos grados de hules que tampoco son tolerantes de este tratamiento. (Quintero, 1981).

La escogencia de los materiales debe tomar en cuenta todos los requerimientos anteriores y también todos aquellos necesarios para mantener la esterilidad, una vez se ha

alcanzado y que pueda permitir la expansión y contracción que ocurre durante los periodos de esterilización. Todos los equipos modernos de fermentación incorporan controles de pH y la fuente de ácido y álcali fuertes, junto a la inmunidad contra cualquier contaminante corrosivo causada por ellos. (DeClerk, 1986).

1.- Vidrio: Para muchos propósitos el vidrio es un material ideal, especialmente en equipo de laboratorio y pequeñas plantas piloto, la habilidad de "ver que está sucediendo" en un fermentador es la mayor ventaja. Existen vidrios combinados que resisten a la corrosión virtualmente en cualquier proceso de fermentación con una completa falta de toxicidad. Por medio del uso de tubería industrial Pyrex es posible construir fermentadores de 10 a 15 litros, los cuales pueden ser esterilizados con una presión interna de 103.4 KPa. (15 psig) seguido por una inmersión inmediata en un baño de agua de alrededor de 30°C. Miles de tales ciclos de esterilización pueden realizarse sin que se incurra en la rotura del equipo.

A pesar que el vidrio es un pobre conductor del calor, esto no dificulta que se haya encontrado un medio de mantener el control de la temperatura durante la fermentación.



## 2.- Metales:

### No Ferrosos:

#### i. Cobre:

Este es usado principalmente en forma de tubería para acarrear gases no estériles como aire para sistemas de control neumático, etc., y agua para los serpentines de intercambio de calor, etc. El cobre tiene buena resistencia al vapor, pero se corroe en presencia de ácidos y álcalis.

Los recipientes de cobre fueron ampliamente utilizados en la producción de levaduras para pan, pero los diseños modernos favorecen al acero inoxidable.

#### ii. Latón, Bronce:

Son utilizados en válvulas para conducir vapor, agua y aire, estos metales se usaron con frecuencia para partes de máquinas que no entraban en contacto con el crecimiento de la fermentación. Se utilizan en tapaderas de filtros de aire, cojinetes para agitadores, etc. Tienen la ventaja que se pueden usar junto con los aceros inoxidables. El latón es muy usado como material de alta calidad de maquinado, el más conocido, el Latón "Admiralty", está compuesto de 70% de cobre, 29% de zinc y 1% de estaño.

El verdadero bronce es una aleación de cobre y estaño, pero es llamado "Gunmetal" cuando contiene zinc. El "Admiralty Gunmetal" tiene una composición de 88% de cobre, 10% de estaño y 2% de zinc.

### iii. Titanio:

A pesar que el titanio es un metal exótico, debido a su excelente resistencia a los ácidos incluyendo el ácido clorhídrico, a su no toxicidad y a su fortaleza mecánica, es muy útil en sistemas de control de pH manejando ácidos minerales. Se encuentra disponible en tubos de pared delgada.

### iv. Hastelloy:

Esta es una de las aleaciones más resistentes a la corrosión y puede ser usado para la fabricación de bombas, etc., se requiere para manejo de ácidos minerales fuertes en el sistema de control del pH.

### v. Platino:

Es utilizado en forma de alambre, el platino junto con la plata son empleados en algunos electrodos para la determinación del oxígeno disuelto.

### vi. Aluminio:

Este metal y sus aleaciones no encuentran mucha aplicación en los procesos de fermentación debido a que requieren primordialmente de técnicas especializadas de soldadura y son también propensos a la corrosión por varios tipos de cultivos y procesos.

## Metales Ferrosos:

### vii. Acero Dulce:

Los aceros de bajo contenido de carbono han sido usados para la construcción de recipientes de fermentación pero, así como en el caso del cobre, la práctica moderna es usar acero inoxidable. Sin embargo, el acero dulce es utilizado todavía para tuberías y chaquetas de recipientes de acero inoxidable.

### viii. Acero Inoxidable:

Este grupo de aleaciones es el de mayor importancia para la tecnología de fermentación ya que la mayoría de constructores de fermentadores los usan como el principal material de fabricación. El acero inoxidable existe en una variedad de calidades pero hay que tomar en cuenta que no todas tienen la misma resistencia a las diferentes sustancias químicas que se utilizan o requieren para un proceso.

Las tuberías de acero inoxidable son ampliamente usadas en el equipo de fermentación, sus aplicaciones varían de líneas de acceso para la salida de gases, introducción de álcali en el control del pH y la construcción de esterilizadores por medio de la inyección directa de vapor. Se encuentran en la mayoría de grados requeridos por las especificaciones.

3.- Plásticos: A pesar que no son usados para la fabricación primaria, los materiales de plástico son usados y encontrarán una mayor aplicación en el futuro en el equipo auxiliar, como revestimientos, etc. La mayoría de los plásticos no son tóxicos y muchos son a prueba de corrosión para una amplia variedad de compuestos químicos; sin embargo, su sensibilidad al calor es lo que limita sus aplicaciones. Comercialmente, los materiales a base de plásticos son invariablemente mezclados con aditivos, tales como plastificantes, extruidores, llenadores, etc., y éstos pueden dar un marcado efecto en la aplicación del material terminado. Es una buena regla evaluar las partes de plástico bajo las condiciones que se requieren antes de tratar de emplearlas en el equipo o el proceso.

Entre los materiales más comunes tenemos: el polietileno de alta y baja densidad, que no es posible esterilizarlo pero tolera ácidos débiles y bases fuertes; el polipropileno que es similar al polietileno y tiene la ventaja de resistir mejor el calor; el cloruro de polivinilo (P.V.C.) resistente a ácidos y bases, pero es soluble en cetonas, ésteres e hidrocarburos aromáticos, se utiliza en tuberías; el nylon que es muy resistente a químicos y solventes y se puede esterilizar en autoclaves, se usa en tuberías, aunque con el uso de vapor se vuelve quebradizo; plásticos fluorinados, los que incluyen una variedad de materiales caracterizados por su alta resistencia al ataque químico y también su alta estabilidad en caliente, pero su

costo es muy alto y esto limita sus aplicaciones; las resinas epóxicas se utilizan como pegamentos para unir vidrio a metales, metal a metal, etc., también se utilizan como materiales sellantes o para recubrir superficies.

4. Hules: La otra clase de materiales importantes usados en equipo de fermentación son los hules. Se utilizan para una gran variedad de servicios, algunos son similares a los materiales plásticos y otros, por el contrario, tienen propiedades únicas requeridas por ciertas especificaciones especiales.

Además que son utilizados en la industria química para recubrir reactores de acero dulce completos para protegerlos del ataque ácido, en la tecnología de fermentación también se utilizan para fines específicos tales como: diafragmas en las válvulas y las agujas hipodérmicas de los sistemas de muestreo; como materiales de empaque y anillos de empaque ("O" ring); y en la forma de tubos y tarugos para taponear.

Los hules muestran una amplia diversidad, así como los plásticos en sus propiedades físicas y químicas, y la elección correcta del grado puede hacer la diferencia entre el éxito o el fracaso de un sistema de fermentación.

Entre los más utilizados están: el hule natural, el isobutileno-isopreno, el neopreno que se utiliza generalmente como material de empaque en las tapaderas de los fermentadores, los nitrilos que se utilizan en los anillos de empaques, los silicones que son excelentes para

altas temperaturas, los fluorosilicones y hules fluorinados que también se usan para empaques y diafragmas.

B. Materiales para la construcción de estructura o amazonas:

Muchos sistemas de fermentación requieren del soporte de una amazona estructural. Para unidades grandes se utiliza normalmente acero dulce soldado. En escalas de laboratorio o plantas piloto es fácil fabricar estas estructuras de cualquier material estructural disponible comercialmente. Probablemente el más conocido sea el perfil estructural de acero producido en varios tamaños. Estos son bastante fáciles de cortar y unir por medio de tornillos o tarugos. En escalas de laboratorio y planta piloto, el tanque de fermentación debe ser fácilmente desmontable de la estructura para fines de limpieza.

## V. TRANSFERENCIA DE OXIGENO Y DISEÑO DE FERMENTADORES

En los procesos de fermentación aeróbicos es necesario un suministro adecuado de oxígeno que satisfaga los requerimientos metabólicos de los organismos. La oxidación de la fuente de carbono y su transformación en células, productos y  $\text{CO}_2$  establece una demanda de oxígeno que es esencial satisfacer a través de la aireación y mezclado del cultivo.

Es indispensable conocer los requerimientos de oxígeno del cultivo para asegurarse que su suministro sea suficiente.

Cuando se evalúa la transferencia de oxígeno en una fermentación es necesario calcular las resistencias a la transferencia que encuentra el oxígeno antes de llegar a la célula.

El mecanismo total de la transferencia se puede dividir en una serie de pasos de la manera siguiente: transferencia difusional del oxígeno a través de las películas de gas y líquido que rodean las burbujas de aire; su camino en la solución; transferencia a través de la película del líquido que rodea la célula y, la reacción bioquímica intracelular. Se ha demostrado que la resistencia mayor la opone la película que rodea las burbujas. Pero esto sólo ocurre en el caso de organismos unicelulares; en los agregados celulares la difusión a través del agregado mismo constituye el paso controlante. (Miller & Melick, 1987).

La velocidad de transferencia de oxígeno se puede expresar así:

$$\begin{array}{l} \text{Velocidad de transferencia} \\ \text{de masa} \end{array} = \begin{array}{l} \text{Coeficiente de} \\ \text{transferencia} \\ \text{de masa} \end{array} \times \begin{array}{l} \text{Area} \\ \text{X} \end{array} \begin{array}{l} \text{Fuerza} \\ \text{direc-} \\ \text{triz} \end{array}$$

En el caso de absorción de gases en líquidos mediante burbujeo de gas, la resistencia total está representada por la película del líquido. La concentración de oxígeno en la interfase gas-líquido es casi igual a su solubilidad,  $C_g$ , y  $C_L$  es la concentración del oxígeno en el seno de la solución. Es posible, por lo tanto, tener un coeficiente de transferencia de oxígeno en la fase líquida,  $k_L$  y una área interfacial,  $a$ ; sustituyendo todos estos parámetros en la ecuación anterior se obtiene:

$$\begin{array}{l} \text{Velocidad de transferencia} \\ \text{de masa} \end{array} = k_L a (C_g - C_L) \quad [1]$$

Cuando la ecuación [1] se expresa por unidad de volumen se convierte en:

$$\begin{array}{l} \text{Velocidad total de transferencia de} \\ \text{oxígeno por unidad de volumen} \end{array} = Na \quad [2]$$

$$Na = k_L a (C_g - C_L) \quad [3]$$

la ecuación [3] representa cuantitativamente la transferencia de oxígeno del sistema de aireación. Hay varias formas de expresar  $Na$ : la Tabla No. 2 indica las unidades de  $k_L a$  para los diferentes casos.  $C_g$  varía entre 9 y 7 ppm;  $C_L$  puede llegar a ser, en teoría, cero, pero en

fermentaciones reales aparece una concentración crítica para cada microorganismo (entre 10 y 20% de  $C_g$ ) que, si se deja que la concentración de oxígeno disuelto en el agua baje a dicho valor, ocasiona una disminución en la velocidad específica de consumo del organismo y altera su metabolismo.

**TABLA No. 2:** Diferentes unidades de  $k_{La}$ . (Quintero, 1981).

Na	C	$k_{La}$
$lbO_2/pie^3-h$	$lbO_2/pie^3*$	$h^{-1}$
$gO_2/m^3-h$	$gO_2/m^3$ ó $ppm*$	$h^{-1}$
$mMO_2/l-h$	$mMO_2/l*$	$h^{-1}$
$lbO_2/pie^3-h$	atm	$lbO_2/pie^3-h-atm$
$mMO_2/l-h$	atm	$mMO_2/l-h-atm$

\* Suponiendo que  $pO_2 = HCO_2$ , donde p = presión parcial en atmósferas y H es la constante de la ley de Henry para gases insolubles sin reacción química.

Na = Velocidad de transferencia por unidad de volumen.

C = Gradiente de concentración.

$k_{La}$  = Coeficiente de transferencia.

La demanda de oxígeno deberá ser siempre igual o menor que Na para que el sistema no esté limitado por oxígeno.

$$\text{Demanda de oxígeno} = Q_{O_2}x$$

### A. Diseño de fermentadores:

Todo fermentador debe cumplir con dos requisitos fundamentales: mantener un medio homogéneo sin zonas "muertas" y a la vez transferir oxígeno al medio, empleando el mínimo de energía posible.

Cuando se inicia el diseño de un fermentador, de cualquier escala, se deben considerar los siguientes aspectos:

- a) mezclado y patrones de flujo
- b) configuración geométrica y tipo de reactor
- c) transferencia de oxígeno
- d) consumo de energía.

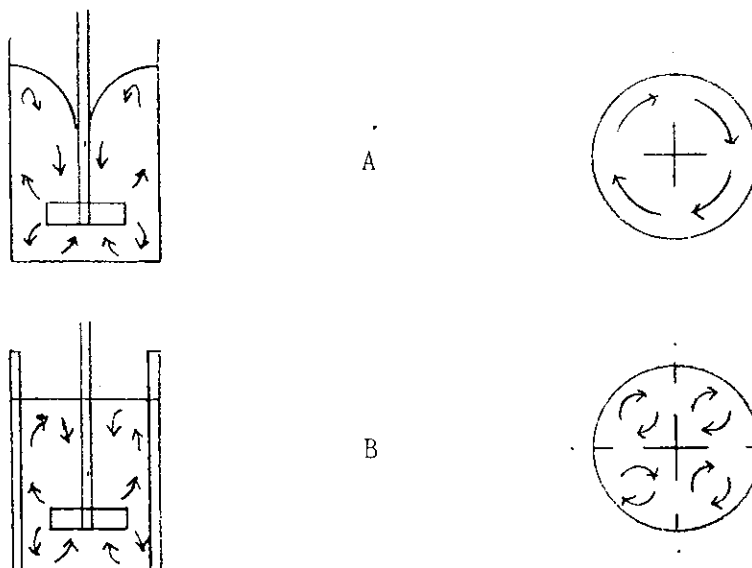
Cada uno de estos aspectos debe estar enmarcado dentro de las especificaciones del equipo disponible. Por ejemplo, los tanques agitados de más de 10000 litros no tienen, por lo general, un control de velocidad de agitación, sino que esta es fija y depende del tamaño de motor que use.

1.- Mezclado y patrones de flujo: Las Figuras No. 2 y No. 3 muestran claramente los diferentes patrones de flujo que se pueden obtener en un tanque agitado, dependiendo del tipo de impulsor utilizado y de si usan o no deflectores para evitar el vórtice.

FIG. No. 2: Patrones de flujo. A: impulsor de flujo axial (por ejemplo, propela); B: impulsor de flujo radial (por ejemplo, turbina). (Quintero, 1981).



FIG. No. 3: Comparación de patrones de flujo en tanques con o sin deflectores. A: tanque sin deflectores (se forma vórtice) B: tanque con deflectores (no se forma vórtice). (Quintero, 1981).



En la Figura No. 2.A el impulsor de flujo axial genera corrientes de flujo paralelo al eje de la flecha que gira (movimiento longitudinal). La Figura No. 2.B presenta un impulsor de flujo radial, tipo turbina, que genera corriente de flujo en dirección radial o tangencial (movimiento transversal y de rotación). En fermentación se prefiere el segundo tipo de impulsores porque asegura un mejor mezclado, y al absorber más energía el P/V es mayor y por lo tanto el  $k_L a$ .

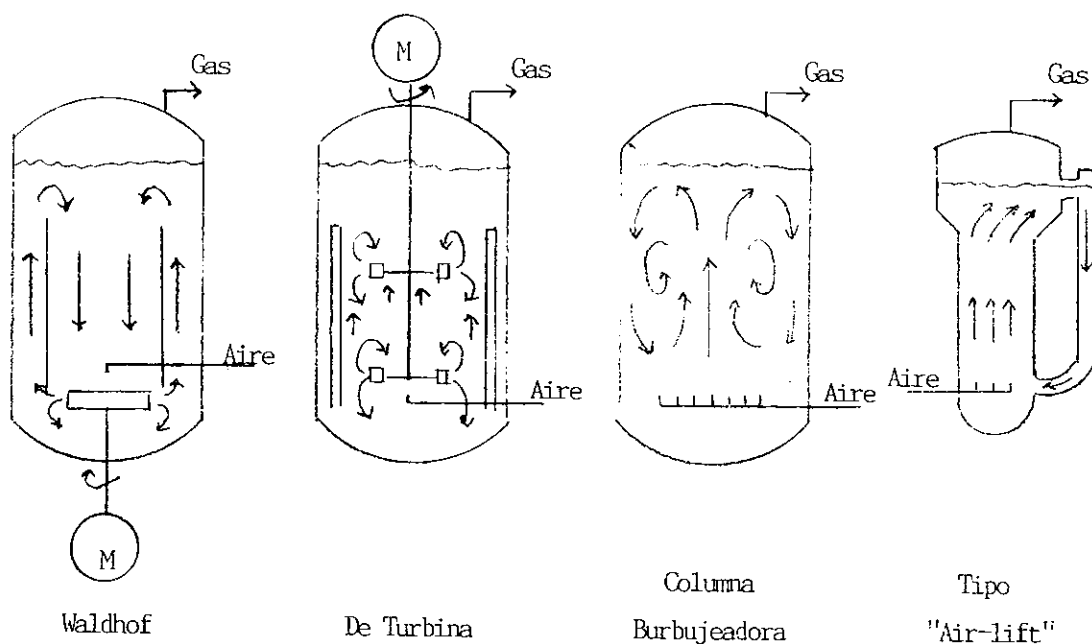
La Figura No.3 muestra cómo afecta a los patrones de flujo el uso de deflectores. En la Figura No. 3.B se ve un patrón típico de un tanque de fermentación con cuatro deflectores, con lo que se logra un mezclado eficiente.

Un mal mezclado acarrea, además de pérdidas de producto y desperdicio de energía y espacio, un cambio en la cinética del fermentador.

2.- Tipo de reactor: A nivel de laboratorio y planta piloto existen muchos tipos de fermentadores, pero a escala industrial y en operación son cuatro los tipos principales: el Waldhof, el de turbina, la columna burbujeadora y el "air lift" (levantado por aire). En la Figura No. 4 se pueden apreciar las características, diferencias en geometría y patrones de flujo de estos fermentadores. De los cuatro tipos, el fermentador de turbina es el más usado en fermentación por ser capaz de

suministrar altas cantidades de oxígeno por unidad de tiempo y de volumen.

FIG. No. 4: Patrones de flujo para diferentes tipos de fermentadores. (Quintero, 1981).



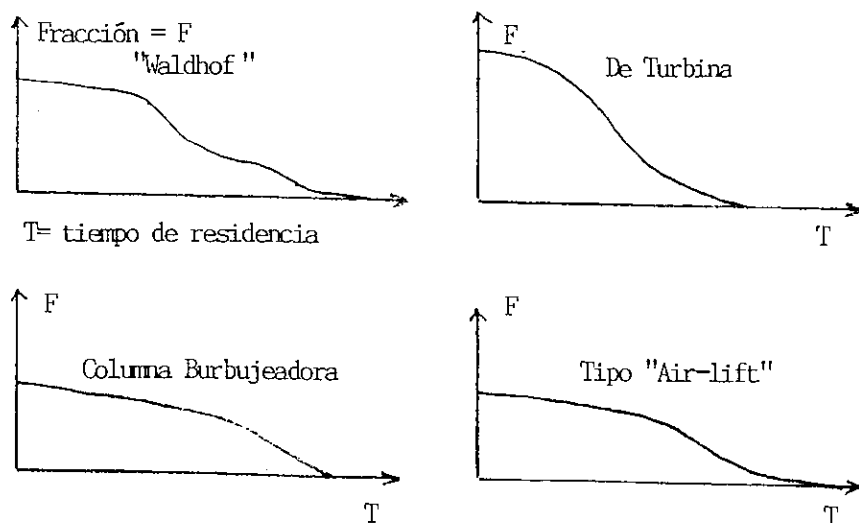
El fermentador tipo "air lift" opera con menos energía y es capaz de suministrar más oxígeno, pero todavía su uso no está muy difundido.

Las formas y velocidades de las corrientes de líquido en el fermentador definen un factor llamado redispersión de burbuja. La cantidad de burbujas recién formadas o redispersas en el fermentador se obtiene con la función de distribución del tiempo de residencia de las burbujas. La distribución del tiempo de residencia muestra las cantidades

relativas de burbujas de diferentes edades: la edad de la burbuja se cuenta a partir de su formación hasta el momento en que se redispersa.

La Figura No. 5 muestra curvas de distribución de edades, directamente relacionadas con las configuraciones de la Figura No. 4. Las figuras intentan dar una idea aproximada de las diferencias entre los tipos de fermentadores. Un análisis cualitativo de las curvas en el fermentador de turbina indica que la cantidad de burbujas nuevas o redispersas es muy alta. Esto se debe a que los dos impulsores crean corrientes pequeñas y por lo tanto alta redispersión. En el "air lift" hay muchas burbujas con un tiempo de residencia largo, lo que indica que la redispersión no ocurre con frecuencia.

FIG. No. 5: Curvas de distribución de tiempo de residencia para diferentes tipos de fermentadores. (Quintero, 1981).

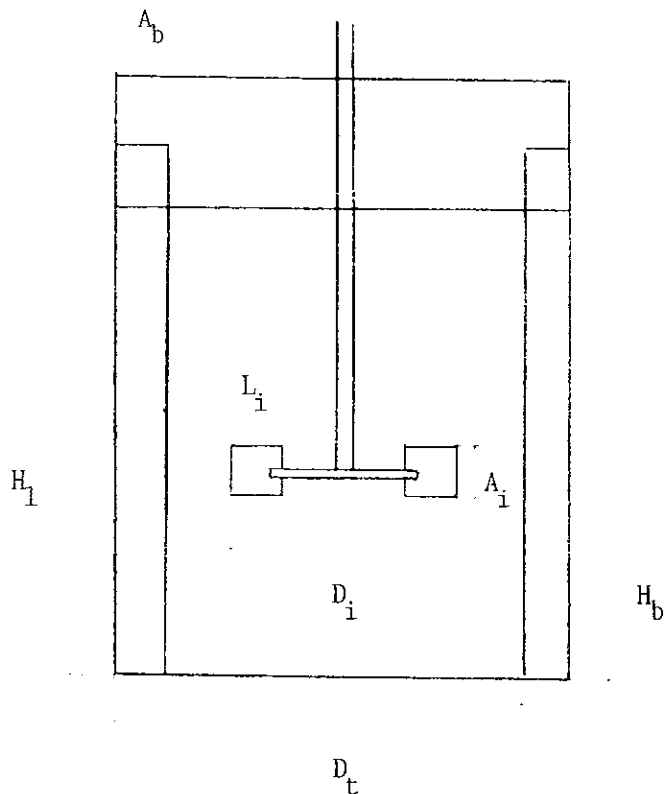


La distribución de edades de las burbujas es, por dos razones, un concepto importante desde el punto de vista del diseño. El tamaño del fermentador y la configuración geométrica influyen muy marcadamente en el patrón de flujo y en la distribución de edad de las burbujas. Como resultado, la distribución de edad de las burbujas que ocurre en un fermentador pequeño no se puede obtener en uno más grande pero similar, porque las corrientes de flujo crecen con el tamaño del fermentador. La segunda razón es que la velocidad de transferencia de la burbuja cambia bastante con la edad de ésta. La concentración de oxígeno en el interior de la burbuja disminuye por transferencia al medio, por cambio de presión hidrostática y por difusión del  $\text{CO}_2$  producido.

3.- Configuración geométrica: La geometría de los fermentadores de tipo tanque agitado se ha estandarizado; en la Figura No. 6 se presentan los valores más comunes y en función de ellos se efectúa el diseño y el escalamiento de los fermentadores. En la Figura No. 6 la relación entre la altura del líquido y el diámetro del tanque es igual a 1, aunque exteriormente el tanque parezca más alto, pues sólo se utiliza del 75% al 60% de su volumen total. A medida que la escala aumenta la relación se hace mayor de 1 (aunque se siga utilizando el mismo porcentaje del volumen total). La Figura No. 7 muestra varias opciones de geometrías y número de impulsores. Cuando  $H_1/D_t > 1$  se

emplean dos impulsores para asegurar un mezclado eficiente y una buena transferencia de oxígeno.

FIG. No. 6: Dimensiones y relaciones estándar para un fermentador. (Quintero, 1981).

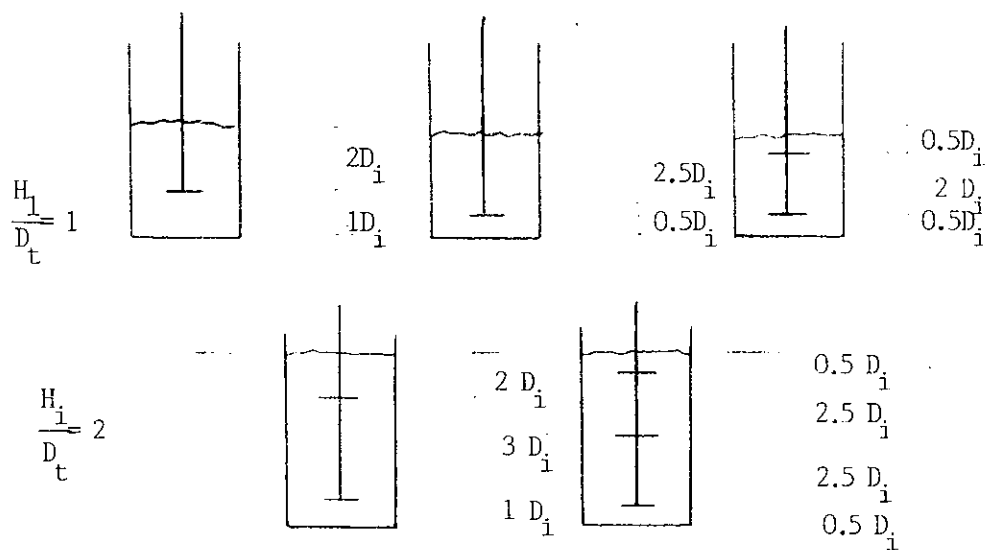


Relaciones geométricas para un fermentador estándar

Tipo de impulsor	$D_i/D_t$	$H_l/D_t$	$L_i/D_i$	$A_i/D_i$	$H_b/D_i$	$N_b$	$A_b/D_t$
Turbina de álabe plano	1/3	1.0	1/4	1/5	1.0	4	1/10
De paleta	1/3	1.0	-	1/4	1.0	4	1/10
Hélice marina	1/3	1.0	-	-	1.0	4	1/10

$N_b$  = número de deflectores.

FIG. No. 7: Varias configuraciones geométricas:  $D_i/D_t = 0.33$ ;  $H_t/D_t$  es sin airear; velocidad superficial del aire 3.05 cm/seg (0.1 pie/seg) ( $D_i$  = diámetro del anillo de aireación). (Quintero, 1981).



4.- Transferencia de calor en un fermentador: Las fermentaciones son procesos exotérmicos. En ocasiones, el problema de enfriamiento se convierte en el limitante del proceso (obtención de proteína unicelular en países tropicales). En la Figura No. 8 se muestran las formas convencionales de transferencia de calor: por chaqueta y con serpentines. En tanques menores de 400 litros no es necesario enfriar con serpentines, pero si son mayores se emplean serpentines y en ocasiones se deriva una corriente del fermentador para enfriarla externamente. Si

se desea hacer el cálculo para la transferencia de calor se puede emplear la siguiente ecuación:

$$h_i D_t / k = 0.74 (D_i^2 N \delta / \mu_C)^{0.66} (C_p \mu_C / k)^{0.33} (\mu_C / \mu_w)^{0.14}$$

donde  $h_i$  es el coeficiente de transferencia de calor. La ecuación anterior se emplea para tanques agitados, enchaquetados y funciona para diferentes geometrías. La Tabla No. 3 se puede aplicar junto con esta ecuación para determinar las áreas de transferencias necesarias. El serpentín es mejor enfriador, puesto que el agua de enfriamiento que circula por él tiene una velocidad alta, lo que hace que el coeficiente  $h_i$  aumente.

FIG. No. 8: Areas de transferencia de calor en tanques agitados: Chaqueta y Serpentín. (Beck, 1987).

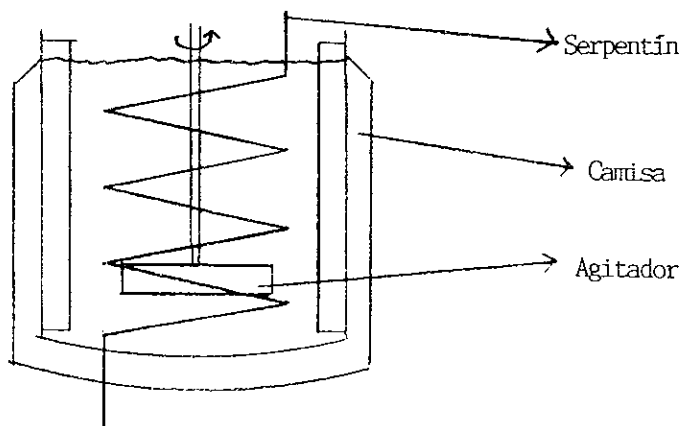


TABLA No. 3: Valores relativos de los coeficientes de transferencia de calor comparados con serpentines. (Quintero, 1981).

Factor	Serpentín	Tubos verticales	Chaqueta
Coeficiente del lado del mezclador	1	1.0	0.65
Area disponible	1	0.5	0.5
Película interna, agua de enfriamiento	1	0.1	0.5
Película interna, vapor de agua	1	1.0	1.0

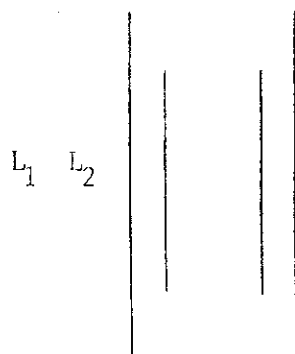
B. Nuevos Diseños:

La Figura No. 9 proporciona las dimensiones óptimas para diseñar un fermentador tipo "air lift"; desafortunadamente los datos de operación son escasos y en cuanto al método de cálculo de transferencia de oxígeno en dicho sistema se sabe muy poco.

Otras configuraciones que tienen posibilidades de uso son: fermentadores de torre, y los filtros biológicos aplicados a procesos de producción de metabolitos.

Quizá las áreas que merecen mayor atención sean la búsqueda de nuevos materiales de construcción (madera, fibra de vidrio, etc.) y el desarrollo de sistemas de aireación y agitación no mecánica.

FIG. No. 9: Dimensiones y relaciones geométricas para un fermentador tipo "air lift". (Quintero, 1981).

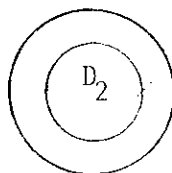


$$L_1/D_1 = 10 - 15$$

$$L_2/L_1 = 0.9 - 0.6$$

$$D_1/D_2 = \sqrt{2} - \sqrt{1.8}$$

$D_1$



$D_1$

## VI. ESTERILIZACION DE LOS GASES Y DEL MEDIO DE CULTIVO

### A. Introducción:

La remoción o destrucción de todos los organismos presentes en el medio sería una esterilización total, sin embargo una esterilización industrial efectiva constituye aquella capaz de eliminar algún organismo deseado bajo las de cultivo.

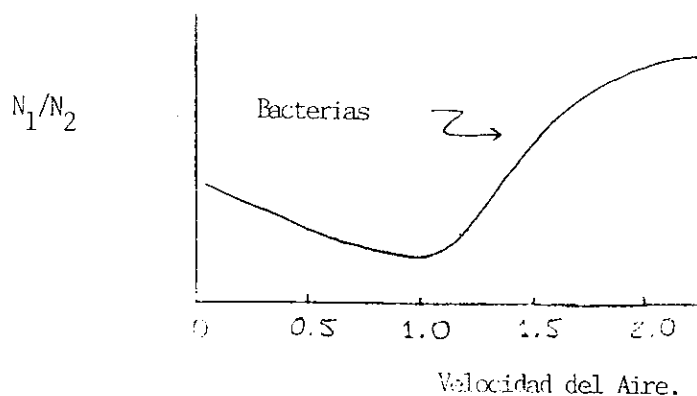
En la preparación de pequeñas cantidades de medio de cultivo es fácil de alcanzar la remoción o destrucción de todos los organismos, pero éste no es el caso con grandes volúmenes de medio o aire. Consecuentemente la esterilización en esta escala es efectuada en base de una probabilidad aceptable. El ingeniero debe escoger el grado de probabilidad adecuado y con base en él diseña el equipo. La esterilización del medio de cultivo en particular depende grandemente de la composición así como también del pH. Es interesante notar que se usa más la palabra gases que meramente aire. Esto refleja el amplio uso de sustratos para estudios de fermentación. El metano y el hidrógeno son considerados ahora junto con el aire y el oxígeno como corrientes gaseosas que se adicionan a cultivos en crecimiento. Estudios recientes se han dedicado a la utilización del metano como fuente de carbono.

## B. Esterilización del aire:

Aún cuando los compresores reciprocantes pueden producir aire estéril, se ha desarrollado un método que requiere la mayor proximidad entre el compresor y el fermentador, aunque esto no siempre se logra en los fermentadores de laboratorio o en la mayoría de fermentadores de plantas piloto debido a que carecen de la flexibilidad requerida para esos propósitos. En la práctica la escogencia de los métodos está entre (a) la filtración, sin la destrucción de los organismos, sólo los remueve, o (b) la aplicación de calor para destruir los organismos. El primer método es de hecho el más utilizado, pero el segundo es útil para estudios con organismos patógenos, especialmente en la corriente de salida de aire. Obviamente este segundo método no es aplicable para el caso del metano y del hidrógeno. (Quintero, 1981).

1.- Filtración de los gases: Este método es aplicable para todos los gases, siempre y cuando no ocurra ninguna reacción química entre el gas y el material filtrante. El funcionamiento de los filtros fibrosos depende de la velocidad del aire y del tamaño de la partícula.

GRAF. No. 2: Efecto de la velocidad del aire en la retención de partículas por los filtros fibrosos. (Solomons, 1969).



Aquí se puede notar que la remoción de bacterias tiene un mínimo de efectividad cuando la velocidad del aire a través del filtro es de 30.5 cm/seg (1 pie/seg). A velocidades de flujo más bajas, las fuerzas gravitacionales, difusionales y electrostáticas predominan, mientras que a altas velocidades de flujo las fuerzas inerciales son de mayor importancia. Así se demostró que el logaritmo del número promedio de organismos entrando al filtro  $N_1$  y aquel dejando el filtro  $N_2$  es una proporción directa a la longitud  $L$  del filtro.

$$\ln N_1/N_2 = kL$$

donde  $k$  es la constante de filtración y es una función de la velocidad del aire, densidad del filtro, tamaño de la fibra y el tamaño y densidad de los organismos que serán removidos. La constante de filtración puede ser expresada

en términos del paso de filtro necesario para remover el 90% de los organismos presentes en la entrada de aire o gas, es decir,  $L_{90}$ .

$$\ln N_1/N_2 = 2.3 L/L_{90} \quad \text{cuando } L = L_{90} \log N_1/N_2$$

Cuando se calcula la longitud de filtro necesaria es claramente advertible que el cálculo se basa en la velocidad superficial de 30.5 cm/seg (1 pie/seg). la cual, para bacterias corresponde al flujo menos efectivo. Debido a que no se puede garantizar que el flujo no pueda cambiar hacia un nivel más favorable, esto es equivalente a tener un margen de seguridad en el diseño y la construcción. El valor de  $N_2$ , el número de organismos dejando el filtro, puede ser tomado como 0.001, ya que es una probabilidad de 1 a 1000 que un solo organismo pasará a través del filtro. Este valor de hecho afectará el largo del filtro, pero éste debe ser finito y nunca debe tomar el valor de 0, ya que, entonces, la ecuación no tendrá sentido.

El criterio de diseño de filtros de aire es de más importancia para fermentadores y flujos de aire grandes, que en los casos de laboratorio o planta piloto, donde el sobre diseño no es muy caro en cuanto a consumo de materiales y/o potencia. Esto es considerado debido a que siempre una caída de presión a través de un filtro en condiciones de laboratorio es, usualmente, despreciable.

De mayor importancia es la humedad relativa del gas, ya que si es muy alta, la eficiencia del filtro comienza a ser

errática y la presencia de gotas de agua pueden arruinar completamente un filtro. (Shucosky, 1988).

2.- Esterilización del aire por medio de calor: Este proceso es encaminado a la destrucción física de los microorganismos, volviéndolos incapaces de reproducirse, si se usa suficiente calor todo el carbón celular es oxidado a CO<sub>2</sub> pero esto requiere altas temperaturas, arriba de los 600°C, lo que obviamente es un gran desperdicio de energía, pero con temperaturas muy por debajo de ésta se puede alcanzar la esterilización.

El decrecimiento de la viabilidad (capacidad de reproducción) de los organismos sujetos a calor seco o húmedo sigue aproximadamente una cinética de primer orden. La mayoría de las células vegetativas pueden eliminarse con temperaturas por debajo de los 100°C, pero las esporas de las especies "Bacillus" son muy resistentes al calor, por lo que la mayoría de trabajos de esterilización están enfocados a eliminarlas.

Debido a que la esterilización sigue una cinética de primer orden, ésta puede ser expresada como:

$$dN/d\theta = -k\theta$$

donde: N= número de esporas sobrevivientes

$\theta$ = tiempo de calentamiento

k= constante de velocidad

dN/d $\theta$ = razón de destrucción de esporas

Esta ecuación conduce a:

$$\theta = 2.3/k * \log N_1/N_2$$

donde:  $\theta$  = tiempo de calentamiento

$N_1$  = número de esporas iniciales

$N_2$  = número de esporas sobrevivientes al tiempo  $\theta$

$k$  = constante de velocidad

Debe notarse que  $N_2$  siempre debe tener un valor finito diferente de 0 ya que de otra forma la ecuación carece de sentido. Dependiendo del grado de seguridad requerido, a  $N_2$  se le puede dar un valor de 0.01 si la probabilidad que una espora sobreviva es de 1 en 100 ó 0.001 si la probabilidad requerida es de 1 en 1000 y así en adelante.

El valor de la constante  $k$  depende de la temperatura y puede ser expresada por la ecuación de Arrhenius:

$$k = Ae^{-\mu/RT}$$

donde:  $A$  = constante de proporcionalidad ( $s^{-1}$ )

$\mu$  = energía aparente de activación (cal/g mol)

$R$  = constante de los gases ideales (aprox.

2 cal/gmol/°C)

$T$  = temperatura absoluta (°K)

Esta ecuación se convierte en:

$$\log k = -\mu/2.3RT + \log A$$

$\log A$  para propósitos prácticos puede ser considerada como una constante de valor 36.2. Un ploteo de  $\log k$  vrs.  $1/T$  da una línea recta con una pendiente de:

$$-\mu/2.3RT$$

Para esterilización por calentamiento seco, el valor de  $\mu$  es entre 12,000 y 24,000 cal/mol, el cual es un valor típico para procesos de oxidación química, mientras que el

valor para esterilización húmeda está entre 40,000 y 80,000 cal/mol el cual está de acuerdo con el proceso de desnaturalización de proteínas. (Quintero, 1981).

La falta de interés general en la esterilización por medio de calentamiento del aire es debida en gran parte al alto costo de correr el proceso, lo cual contrasta con los métodos de filtración que son más económicos. Se deben tomar precauciones para asegurar el cierre instantáneo de la alimentación de aire si la potencia eléctrica que llega hasta el esterilizador falla. A diferencia de los métodos de filtración los cuales pueden evitar la penetración cuando hay cambios en la velocidad del flujo, si una falla de potencia causa una disminución en la temperatura de operación, entonces la penetración al medio es inmediata.

### C. Esterilización del medio de cultivo:

Hay tres métodos que son usados para la esterilización del medio de cultivo excluyendo los métodos más exóticos, tales como las técnicas de radiación, la cual requiere equipo bastante costoso. De los tres métodos discutidos, el primero, el uso de vapor, es el más utilizado en los ciclos de esterilización efectuados en estudios de fermentación. Los otros dos tienen una aplicación industrial limitada, pero debido a que tienden a dañar el medio de cultivo en un menor grado del que lo hace el vapor, encuentran algunas aplicaciones en técnicas de laboratorio.

Métodos utilizados para la esterilización del medio de cultivo:

1. Vapor
2. Filtración
3. Agentes Químicos

1.- Vapor: La destrucción de microorganismos por medio de la aplicación de calor sigue una cinética de primer orden tal y como se describió en la sección anterior. El vapor es, usualmente, aplicado a la esterilización del medio en dos formas, primeramente en condiciones estáticas de un autoclave y la segunda opción en ciclos de esterilización agitada acompañada de inyección directa del vapor.

El autoclave es utilizado para la esterilización de frascos de agitación y pequeños fermentadores, así como también las cajas de agar para el cultivo de microorganismos. Muchos autoclaves generan su propio vapor a partir de agua calentada por resistencias eléctricas de inmersión o por quemadores de gas. Sin embargo, no importando si el vapor es aplicado directamente o por una fuente externa, es importante que sea vapor saturado y no sobrecalentado. La diferencia en eficiencias entre el vapor saturado y el sobrecalentado estriba en que el vapor sobrecalentado se comporta más como un verdadero gas y la esterilización por este medio es más coherente.

Para pequeñas cantidades de medio de cultivo se considera que la penetración de calor es buena y rápida, por lo que se pueden tomar como referencia los valores de la Tabla No. 4.

**TABLA No. 4:** Condiciones de tiempo/temperatura para esterilización

Tiempo (min)	Temperatura (°C)
30	116
18	118
12	121
8	125
2	132

Cuando se considera la esterilización de un medio de cultivo con vapor para un fermentador, se dispone de dos métodos, el de tandas y el continuo. El primero de éstos es también aplicable a medios esterilizados en autoclaves, pero usualmente es complicado por el hecho de que generalmente no son agitados.

Cuando se tienen volúmenes de medio muy grandes en los cuales no es práctica la esterilización por medio de autoclaves, se puede usar el calentamiento con vapor

aplicándolo por medio de chaquetas o serpentines, aunque generalmente debe ir acompañada de agitación. Existe también la posibilidad de esterilizar en continuo derivando una corriente de alimentación al medio, haciéndola pasar por un intercambiador de calor para alcanzar la esterilización y luego por un enfriador para disminuirle la temperatura, antes de ser alimentada al fermentador.

También se acostumbra practicar ciclos de calentamiento y enfriamiento súbitos, especialmente cuando se trabaja con microorganismos muy resistentes al calor y/o con medios que se dañan fácilmente.

A pesar de que la esterilización de los medios de cultivo usualmente se efectúan por calentamiento con vapor, ciertos tipos de medios, particularmente aquellos usados para el cultivo de tejidos, son tan sensitivos que no permiten el uso de este método sin que ocurra un deterioro sustancial. Para solucionar este problema existen dos métodos alternativos. El primero es el uso de filtros, para la remoción física de los organismos contaminantes. El segundo es el tratamiento del medio con esterilizantes químicos para matar los microorganismos, o para prevenir su crecimiento.

Las ventajas o desventajas de ambos sistemas son que los métodos de filtración requieren de aparatos caros, pero por la técnica en sí, el método sólo puede producir un líquido claro, no necesariamente estéril. El tratamiento del medio es mínimo. Si el medio de filtración y los

aparatos son elegidos correctamente para una aplicación particular, entonces el método puede ser considerado ideal. La esterilización por medio del uso de químicos no está muy difundida, pero se ha demostrado, que bajo ciertas condiciones, produce medios de cultivo de la misma calidad que aquellos que han sido esterilizados en autoclaves. El método es relativamente económico y no presenta problemas en el escalamiento ya que se aplica en relaciones volumétricas. Claramente la desventaja más importante del método es el peligro que un esterilizante no neutralizado pueda pasar al proceso junto con el medio, ya que causa inhibición en el crecimiento del cultivo. (Bailey, 1977).

2.- Filtración: Comercialmente existen dos formas de filtrar medios de cultivo para alcanzar esterilidad. Ambos tipos se producen en modelos que varían desde los pequeños filtros de laboratorio con capacidades de unos cuantos cientos de mililitros por hora, hasta las escalas de plantas comerciales con cientos de miles de litros por hora.

Los primeros filtros para medios pueden ser descritos como los del tipo "Seitz" de asbesto-celulosa, los cuales remueven los organismos, mientras el medio pasa por ellos, el diámetro promedio de los poros es siempre mayor que el de los organismos más pequeños que se removerán. También están disponibles los filtros de membrana contruidos de una gran variedad de materiales, pero todos poseen la cualidad que la filtración es efectuada solamente por la superficie para que

los organismos no penetren al filtro.

Los filtros normalmente se producen en una variedad de tamaño de poro de alrededor de  $12\mu$  hasta  $0.01\mu$  con un grosor de alrededor de  $80 - 150\mu$ , a pesar que se le puede llegar a tener poros tan pequeños como  $5\mu$ . Aproximadamente del 65 al 80% del volumen de un filtro tiene alrededor de  $108 \text{ poros /cm}^2$ . Otra propiedad que tienen es la uniformidad de los poros.

La velocidad de filtración depende de la presión aplicada, viscosidad, área del filtro, tamaño del poro, y están afectados adversamente por las partículas que bloquean o entorpecen las superficies.

3.- Esterilización química: Con el propósito de que un reactivo pueda tener éxito como un químico esterilizante deberá cumplir con los siguientes requisitos.

- ( i) Ser completamente "biocidal" a bajas concentraciones.
- ( ii) Ser inocuo ante los nutrientes en el medio.
- (iii) El compuesto residual, si es que hay, deberá ser fácil de remover o los productos resultantes de la descomposición deberán ser inertes para el crecimiento de los organismos deseados.
- ( iv) Debe ser efectivo bajo condiciones atmosféricas ordinarias.
- ( v) Su acción debe ser rápida, fácil de usar, barata y debe estar disponible comercialmente.
- ( vi) Debe ser inflamable, no explosivo ni tóxico para seres

humanos.

Las formas de aplicar este tipo de esterilización varían mucho dependiendo del tipo de medio y de la clase de agente químico, por lo general tienen un uso específico. Ejemplos de esterilizantes químicos son:  $\beta$ -propiolactona (BPL), óxido de etileno, etc.

Esterilización química de superficies: Durante los estudios de fermentación, en ocasiones es necesario esterilizar el equipo o las superficies por medio de algún desinfectante químico. La esterilización de ciertos tipos de electrodos de vidrio para pH y electrodos de oxígeno disuelto son ejemplos de aparatos sensibles al calor. Los diafragmas de hule son utilizados conjuntamente con agujas hipodérmicas como un medio conveniente para el muestreo o la adhesión aséptica de líquidos al fermentador. Estos diafragmas deben esterilizarse antes de insertar las agujas hipodérmicas con el propósito de minimizar el riesgo de infección.

Para esterilizar los recipientes estando vacíos se ha acostumbrado usar tanto a escala de laboratorio como a escala industrial, productos tales como el formaldehído y en el caso de la esterilización de los empaques se lleva a cabo frecuentemente frotando la superficie con metanol o etanol y solventes.

## VII. MATERIALES, METODOS Y CRITERIOS EN EL DISEÑO

### A. Introducción:

Nos referiremos a los distintos criterios que se tomaron en cuenta en el diseño del sistema de fermentación y se presentarán aquellas ecuaciones que sirvieron de base para tales propósitos. Hay que tomar en cuenta que se deseaba construir un sistema de fermentación que pudiera servir para propósitos generales y para los distintos procesos que existen, ya sean aeróbicos o anaeróbicos. Por esta razón algunos criterios se tomaron sin toda la base matemática apropiada para un escalamiento, ya que de esta forma se estaría diseñando un equipo apropiado únicamente para un proceso en particular. Lo que se pretendió fue diseñar un sistema de planta piloto que fuera lo suficientemente versátil para poder utilizarlo en la obtención de información y hacer un escalamiento posterior. Por esto no se presentará un desarrollo matemático riguroso, sino más bien se describirán los criterios utilizados durante el diseño.

### B. Tipo de fermentador:

Entre la variedad de fermentadores que se han descrito, se escogió el de tipo columna burbujeadora ya que por las dimensiones del tanque permite trabajar con volúmenes relativamente grandes en recipientes pequeños. Inicialmente se había pensado en un fermentador tipo "air lift", pero para poder tener un volumen relativamente grande el

recipiente que se necesitaba era muy alto y en consecuencia no era práctico para su manejo en el laboratorio. Por otro lado, el fermentador tipo columna burbujeadora presenta la gran ventaja de no utilizar agitación mecánica, sino que la agitación del medio se logra gracias a una corriente gaseosa inyectada al medio a través de un dispersor provocando turbulencia. En el caso de las fermentaciones aeróbicas se inyecta aire comprimido y en el caso de fermentaciones anaeróbicas se puede adaptar un cilindro de dióxido de carbono o de nitrógeno u otro gas inerte que no afecte al proceso en sí.

La ventaja de no utilizar agitación mecánica estriba principalmente en dos puntos, primero, no hay necesidad de trabajar con sellos mecánicos ni con empaquetaduras en la entrada del eje del agitador y con esto se minimizan los focos de infección. Por otro lado, los costos se reducen, puesto que no se necesita comprar ningún motor, eje o impulsor. Además, el flujo de aire y el grado de agitación se pueden graduar fácilmente con la ayuda de una válvula, mientras que en el caso del agitador mecánico se necesitaría de un motor de velocidad variable que aumentaría aún más los costos.

### C. Tamaño:

En primer lugar, se escogió el volumen que se deseaba tomar como base para obtener las dimensiones del tanque. Se pensó en un volumen para poder apreciar los efectos de

aireación, agitación, generación y transferencia de calor, y requerimientos de esterilización "in situ", mientras que por otro lado se deseaba que el volumen fuera lo suficientemente pequeño para su aplicación práctica en el laboratorio y que el consumo de reactivos y sustrato no fueran muy grandes.

Por estas razones y la información obtenida en la revisión bibliográfica, se tomó como punto de partida que el volumen de medio de cultivo sería de 50 litros.

Para este volumen, las dimensiones del tanque se pueden obtener de la siguiente fórmula empírica:

$$V = 0.909 D^3$$

de donde se puede despejar el diámetro (D) necesario para un volumen de 50 litros:

$$D = (50000 \text{ cm}^3 / 0.909)^{1/3}$$

$$D = 38.03 \text{ cm (15 pulg.)}$$

una vez teniendo el diámetro se obtiene la altura usando la regla de que el diámetro debe ser el 75% de la altura o sea que:

$$D = 3/4 h$$

de donde:

$$h = 4/3 D$$

$$h = 4/3 (38.03 \text{ cm}) = 50.8 \text{ cm (20 pulg.)}$$

De manera que las dimensiones del tanque serán:

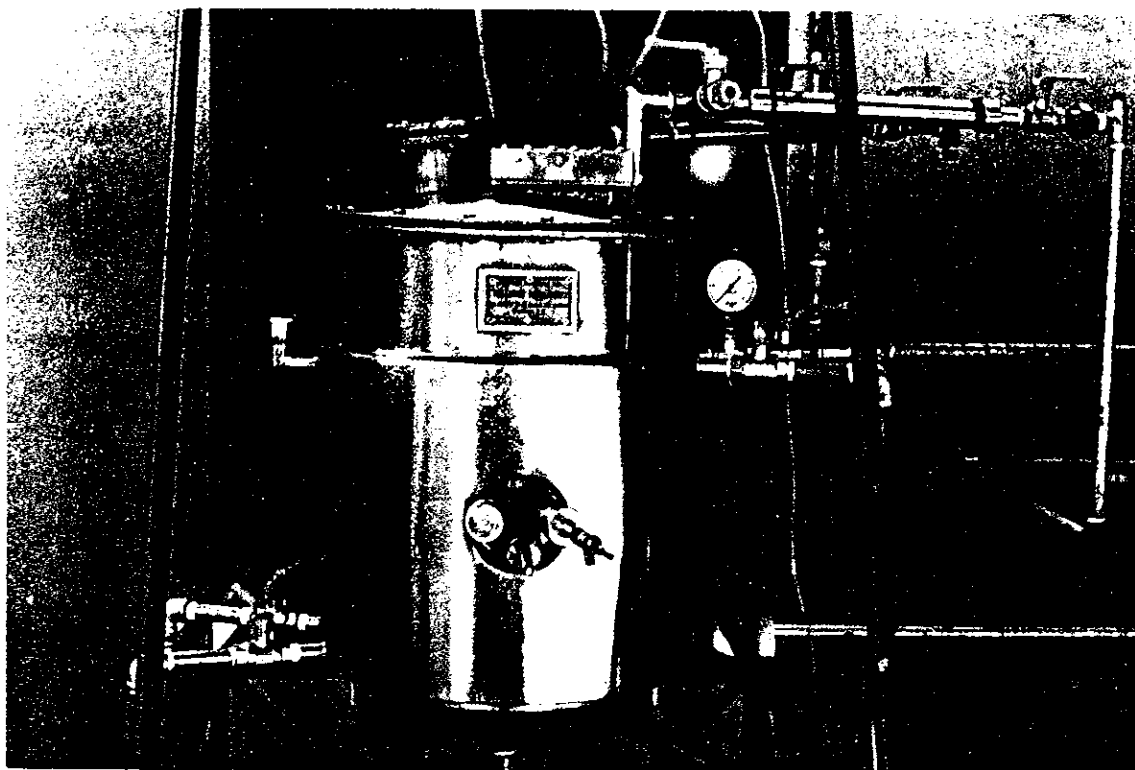
Altura                    50.8 cm. (20 pulg.)

Diámetro                38.1 cm. (15 pulg.)

Volumen al

75% altura            50 litros

ILUSTRACION No. 1: Detalle del cuerpo del fermentador.

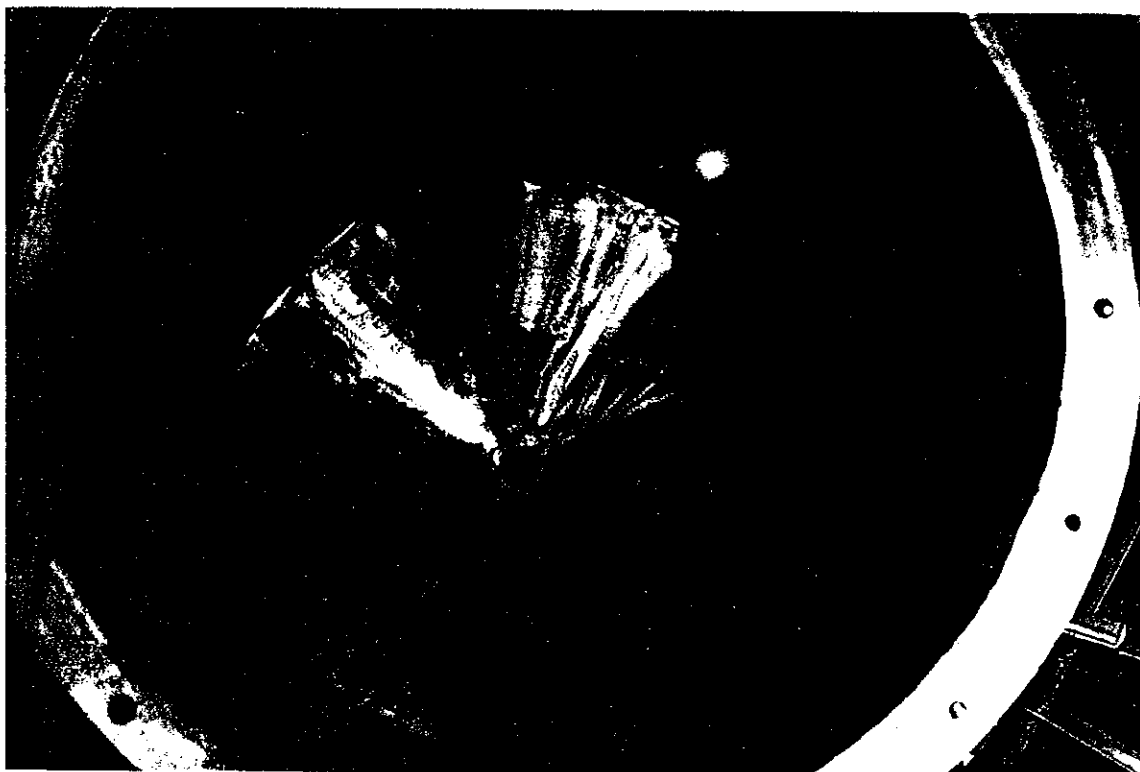


El fondo se diseñó cónico, con una pendiente de  $15^\circ$ , para poder drenar totalmente el contenido del fermentador una vez ha terminado el ciclo de incubación. Se dejó provisto con una tubería corta para adaptarle una válvula.

#### D. Materiales de Construcción:

La selección del material estribó principalmente en encontrar uno que resistiera las altas temperaturas durante el periodo de esterilización, que no fuera atacado por ácido o álcali y que tuviera una buena presentación. Al tratar de encontrar un material que se ajustara a las características anteriores, se llegó a la conclusión que el material más aconsejable eran los aceros inoxidables. Dentro de la gran variedad de aceros inoxidables había que

ILUSTRACION No. 2: Detalle del interior del tanque, del fondo y acabado del material y soldaduras.



escoger el grado adecuado para tales requisitos, pero a la vez se debía tomar en cuenta si existía comercialmente en Guatemala, si los talleres tenían la tecnología y el equipo adecuado para trabajarlo y que los costos se ajustaran a un presupuesto establecido.

Por las razones anteriores se escogió el acero inoxidable calidad 304.

En lo referente a la escogencia del grosor de lámina a usar se tomó como base el método sugerido en el Manual del Ingeniero Químico (Perry & Chilton, 1982), que es el siguiente:

Para la pared del recipiente utilizan la siguiente fórmula:

$$t = PR / (SE - 0.6P)$$

donde:

P = Máxima presión de trabajo.

R = Radio interno del cilindro.

S = Máximo esfuerzo permisible.

E = Eficiencia de soldadura.

Tomando en cuenta que el fermentador se utilizará en diferentes procesos, no se puede determinar estrictamente la máxima presión de trabajo, pero pensando que el equipo también podría utilizarse para otros procesos no relacionados con fermentación, tales como hidrogenación de grasas y aceites; se tomará como máxima presión de trabajo 551.7 KPa. (80 psig.)

R para este caso es de 19.1 cm. (7.5 pulg.)

S se tomó de las tablas del manual del ingeniero químico así que para el acero inoxidable calidad 304, y una temperatura que no exceda los 204°C (400°F) es de 88958.4 KPa. (12900psig.)

E también se tomó de las tablas del manual que para una junta por ensamble de soldadura simple, sin banda de respaldo y sin examen por puntos, es de 0.6

Entonces:

$$t = 551.7 \text{ KPa} * 19.1 \text{ cm} / (88958.4 \text{ KPa} * 0.6 - 0.6 * 551.7 \text{ KPa})$$

$$t = 0.199 \text{ cm} (5/64 \text{ pul.})$$

La tapadera se escogió de tipo elipsoidal y el grosor se obtiene así:

$$t = PD / (2SE - 0.2P)$$

donde:

P = Máxima presión de trabajo 551.7 KPa. (80 psig.)

D = Longitud interna del eje mayor de la cabeza elipsoidal 38.2 cm. (15 pulg.)

S = Máximo esfuerzo permisible 88958.4 KPa. (12900 psig.) para temperaturas por debajo de los 204°C. (400°F.)

E = Eficiencia de junta 0.6 para junta por ensamble de soldadura simple, sin banda de respaldo, y sin examen por puntos.

$$t = 551.7 \text{ KPa} * 38.1 \text{ cm} / (2 * 0.6 * 88958.4 \text{ KPa} - 0.2 * 551.7 \text{ KPa})$$

$$t = 0.198 \text{ cm. (5/64 pulg.)}$$

Este grosor de lámina no se encuentra en el mercado por lo que se tomó el más cercano que se pudo conseguir, de manera que el tanque se construyó de lámina de 0.238 cm. (3/32 pulg.)

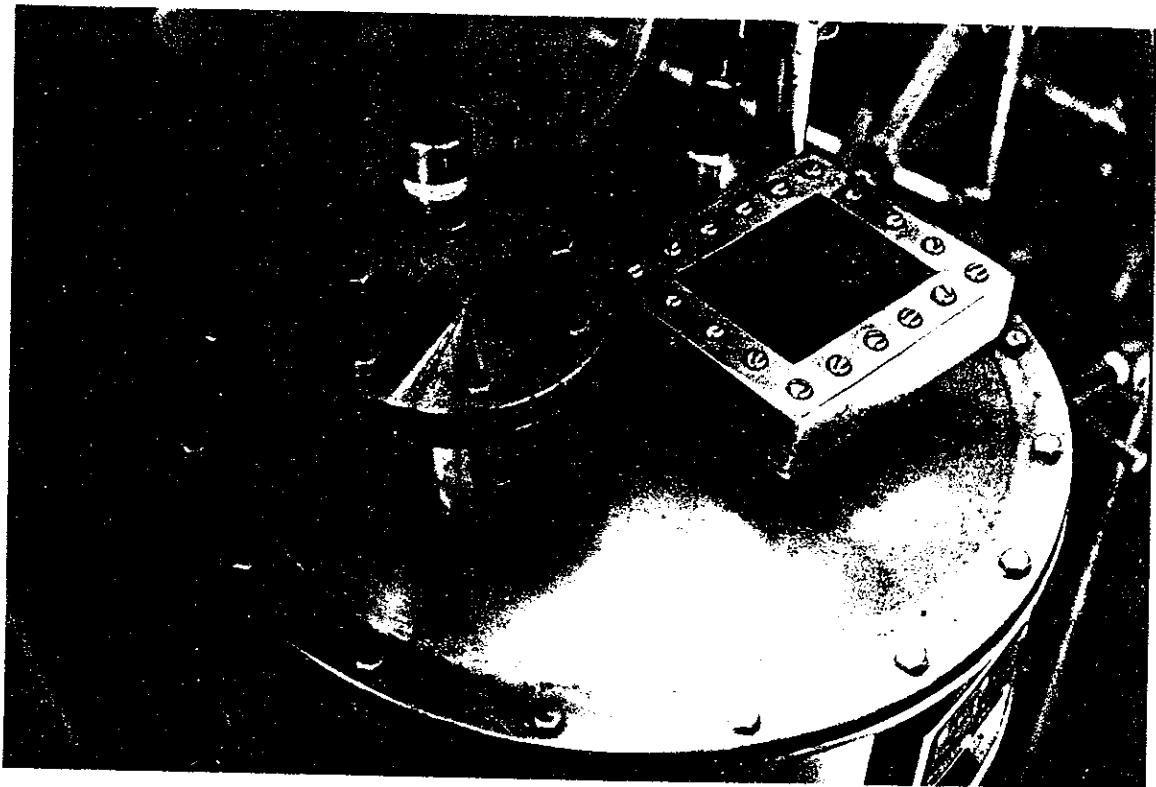
Este margen en el diseño es adecuado, ya que hay que tomar en cuenta que al pulir el material se obtiene un desgaste y a la vez se está dando una pequeña concesión por corrosión.

Para la estructura de soporte se escogió tubo de hierro galvanizado de 3/4 de pulgada. Se complementó con planchas de madera forradas con formica para que contrastara con el resto del equipo del laboratorio de operaciones unitarias.

Los empaques debido a sus características de sellado, y a que resiste bien las temperaturas por debajo de los 125°C., se escogieron de hule.

El vidrio para el visor se utilizó de 10 mm de grosor, pues se pudo comprobar que soporta bien las presiones y temperaturas a las que trabajará el sistema.

ILUSTRACION No. 3: Detalle de los empaques, del visor y de las entradas para ácidos, álcalis, antiespumantes e inóculo.



E. Método de calentamiento y enfriamiento:

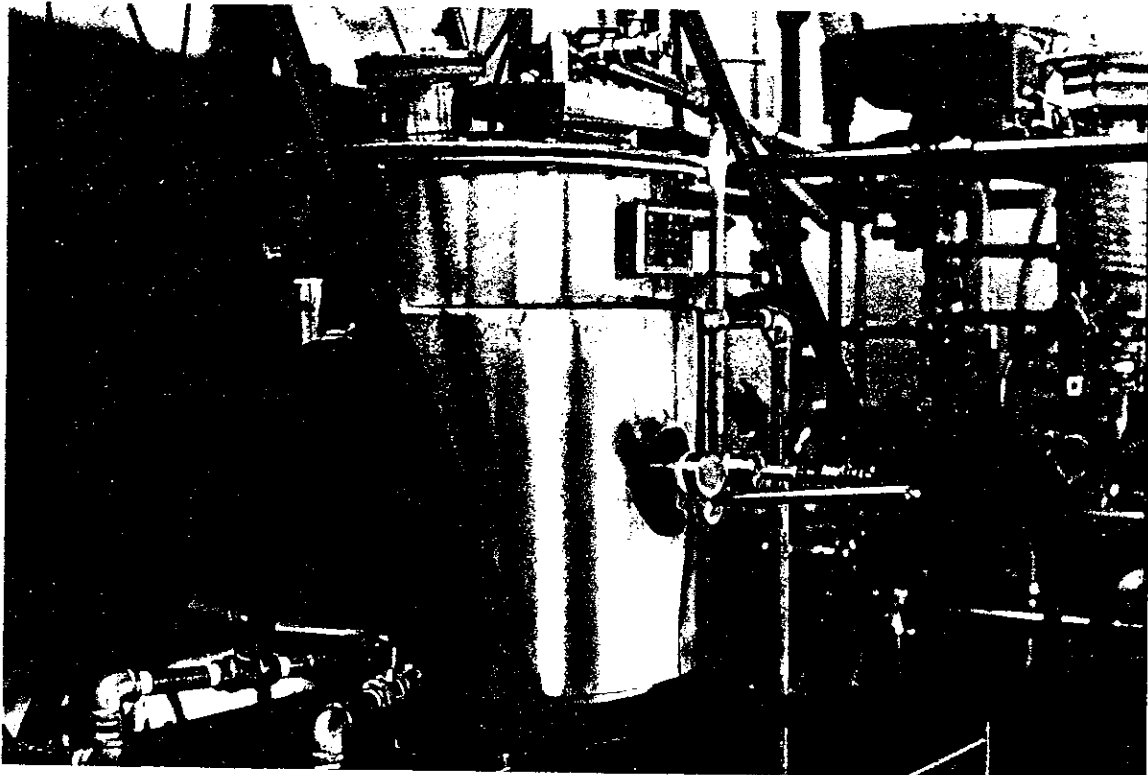
Para propósitos de calentamiento y enfriamiento, usualmente se utilizan las chaquetas y los serpentines. En el caso de este diseño se escogió el sistema por medio de

chaqueta ya que el volumen del medio es relativamente pequeño y el área de transferencia de calor es suficiente para alcanzar las temperaturas deseadas.

El único inconveniente que presenta es el hecho que la transferencia de calor es más lenta que la que habría al haber utilizado un serpentín, pero al usar un serpentín se tendría el problema que aumentaría la superficie interna, creciendo así la probabilidad que hubiera contaminación al no tener una limpieza perfecta.

La chaqueta se adecuó tanto para calentamiento con vapor saturado, como para enfriamiento con agua. Está provista con dos entradas, una para agua fría y otra para vapor, y dos salidas, una para condensado y la otra para agua caliente. Además para propósitos de seguridad se le adaptó una válvula de alivio que se dispara cuando la presión dentro de la chaqueta llega a 172.3 KPa. (25 psig).

**ILUSTRACION No. 4:** Detalle de chaqueta para calentamiento y enfriamiento.



Para propósitos de control se le colocó una válvula en cada una de las entradas y salidas y un manómetro en la entrada del vapor, con lo que se puede controlar aceptablemente tanto el calentamiento como el enfriamiento.

La chaqueta no se calculó para una remoción de calor establecida o para un grado de calentamiento dado, ya que como se ha dicho, el sistema está diseñado para propósitos generales. La única regla que se aplicó fue que la altura de la chaqueta debía ser de un 75% de la altura de la pared del tanque.

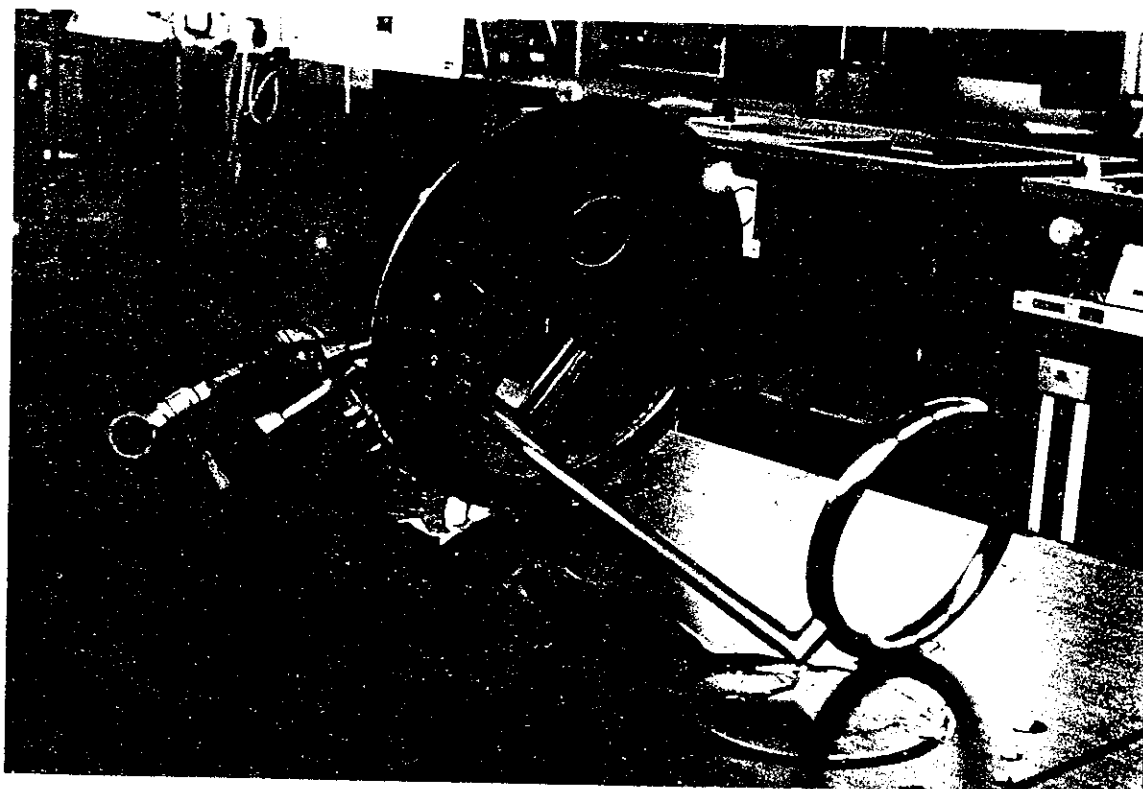
#### F. Sistema de agitación:

Como ya se apuntó, por razones de costo e higiene se utilizó el sistema de agitación por medio de una corriente gaseosa. Esta corriente es inyectada al sistema por medio de un anillo dispersor de 17.8 cm (7 pulg.) de diámetro colocado en el fondo del tanque y que está provisto de agujeros de 1.6 mm. (1/16 pulg.) que distribuyen la corriente en finas burbujas en todas direcciones, provocando así una turbulencia que origina la agitación y mantiene uniforme la composición del medio. Al mismo tiempo se provee el oxígeno en el caso de las fermentaciones aeróbicas, sirviendo a la vez como medio de remoción del calor biológico que se produce durante el periodo de reproducción de la biomasa.

Tiene la ventaja de poderse controlar fácilmente por medio de una válvula y un manómetro que indica la presión a

la que se encuentra sometido el fermentador. De haberse escogido un sistema mecánico, el control de contaminación y la graduación de la agitación hubieran presentado serios problemas, además que puede destruir microorganismos filamentosos, cosa que no ocurre al utilizar una corriente gaseosa.

ILUSTRACION No. 5: Detalle del dispersor de aire.



G. Esterilización del equipo, del medio de cultivo y de las corrientes gaseosas:

La esterilización del equipo se puede lograr de dos formas, la primera de ellas es por medio de inyección directa de vapor, dentro del fermentador, a través del

dispersos de aire a manera de calentar y presurizar al mismo tiempo el sistema hasta obtener una presión por arriba de 34.5 KPa. (5 psig.) y una temperatura superior a los 105°C. Luego se descarga el vapor y se enfría pasando agua a través de la chaqueta hasta que se alcance la temperatura ambiente.

El otro método es la esterilización por medio químico, que consiste en la introducción de un volumen pequeño de formaldehído, se cierra el sistema y se aplica vapor en la chaqueta a manera de vaporizar todo el formaldehído para esterilizar el recipiente. Luego se debe evacuar perfectamente.

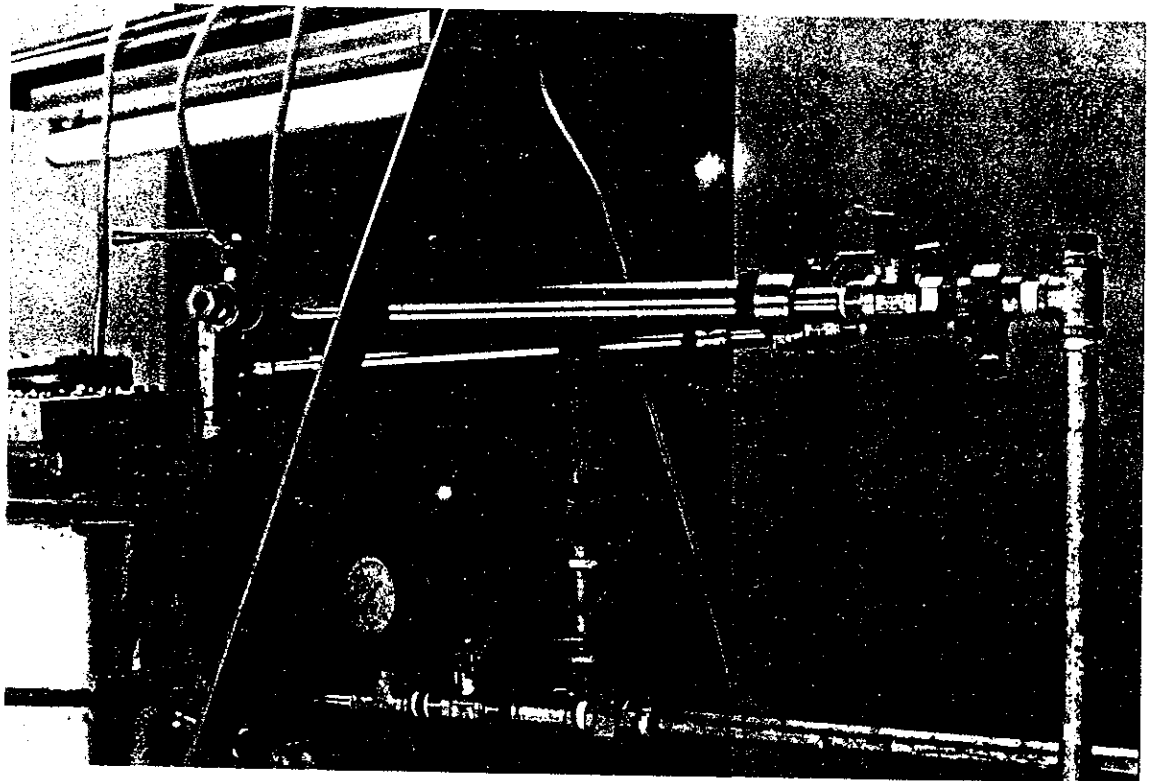
La esterilización del medio de cultivo se puede lograr también de dos formas, la primera es cargando el medio al fermentador y aplicando calor a la chaqueta hasta alcanzar la temperatura y presión apropiada para el tipo de medio de cultivo sin que se produzca ninguna degradación en él, luego se enfría aplicando agua en la chaqueta al mismo tiempo que se aplica una corriente gaseosa para lograr un enfriamiento rápido.

La otra alternativa es esterilizar en un autoclave antes de cargar el medio de cultivo al fermentador.

En cuanto a la esterilización de la corriente gaseosa, existen dos opciones, la primera es en el caso de trabajar una fermentación aeróbica, entonces se utiliza aire de los compresores que son de tipo recíprocante, o sea que brindan aire comprimido prácticamente estéril. A pesar de ello, el sistema está provisto de dos filtros y un deshumidificador

que aseguran una corriente de aire limpio, sin embargo, aún así se adaptó un filtro de lana mineral en la entrada del fermentador para retener cualquier impureza que pueda ser arrastrada por el aire en su paso por la tubería. No se escogió el sistema de esterilización por medio de resistencias eléctricas para producir calor y matar los microorganismos, ya que, entonces, la corriente gaseosa entraría caliente al fermentador y provocaría un aumento de temperatura en el medio, pudiendo causar la muerte de los microorganismos presentes en el medio. Además implicaría el uso de un enfriador antes de la inyección al medio.

ILUSTRACION No. 6: Detalle de los filtros para el aire.



En el caso de las fermentaciones anaeróbicas comercialmente se puede disponer de dióxido de carbono o nitrógeno prácticamente inertes, por lo que no requieren de filtración previa.

El sistema está provisto de otro filtro de lana mineral a la salida de la corriente gaseosa con la finalidad de evitar que, si por cambios de temperatura o presión se produzca un vacío dentro del fermentador, pueda entrar algún microorganismo proveniente del medio ambiente.

#### H. Accesos para controles:

Es bien sabido que un sistema de fermentación debe mantener un buen control sobre temperatura, presión, pH, nivel de espuma, oxígeno disuelto, etc. Si se logra obtener un control automático se puede monitorear mejor el proceso.

Sin embargo, el sistema de control e instrumentos son de un costo muy elevado que sobrepasan por completo el presupuesto aprobado para el proyecto, así que por el momento el sistema no cuenta con dichos controles.

Previendo que en el futuro se pueda contar con estos equipos se dejaron en el cuerpo del fermentador los accesos para un electrodo de pH, una sonda para oxígeno disuelto, un electrodo para nivel de espuma y uno más para el sensor de temperatura.

Para lograr el control de la espuma se puede observar el nivel a través del visor que tiene en la parte superior

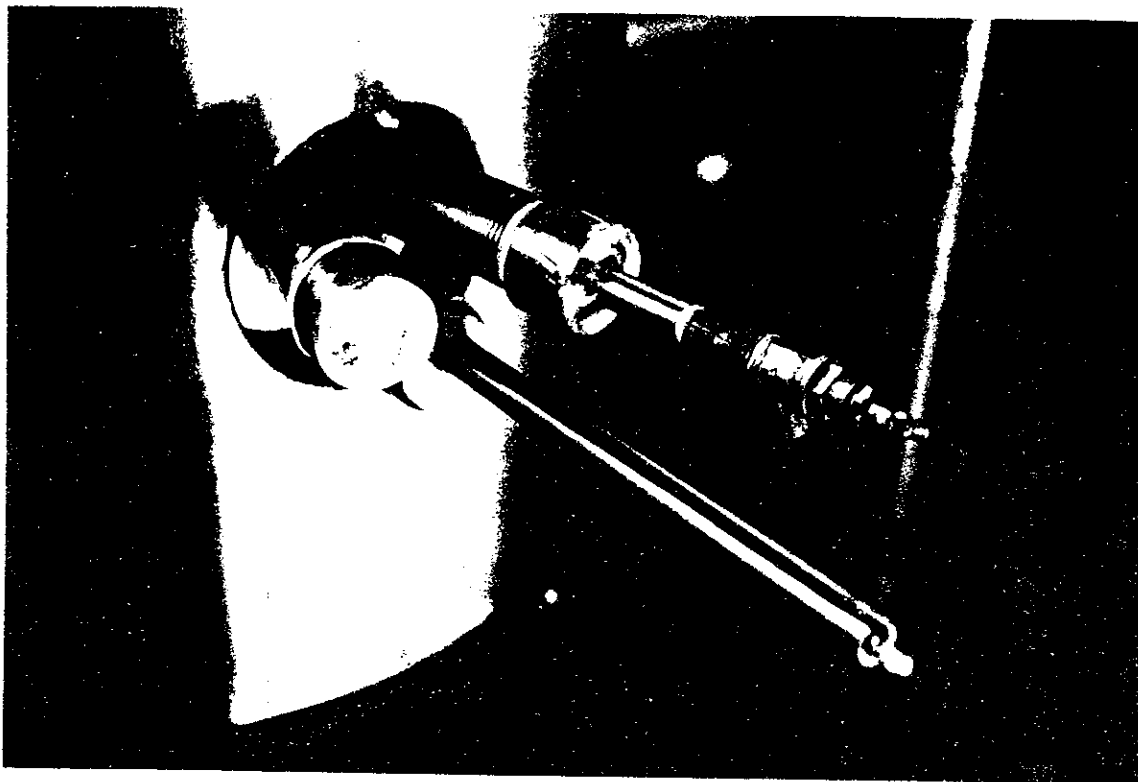
del tanque y adicionar manualmente el antiespumante. En cuanto al pH se puede tomar una muestra y analizarla, para luego agregar según sea necesario un ácido o un álcali. Respecto de la temperatura se adaptó un termómetro a una de las entradas donde es fácil su lectura y se puede controlar con las llaves para el paso de agua fría o vapor. Y por último refiriéndonos al oxígeno disuelto, se puede tomar una muestra y analizarla por medio de algún método analítico.

I. Toma de muestras y puntos de acceso al fermentador:

El sistema está provisto con un tubo de 6.4 mm. (1/4 pulg.) de acero inoxidable, con una llave de purga en uno de los extremos para usarla como conducto muestreador y poder hacer los análisis durante el monitoreo. Se colocó a la mitad del nivel del medio de cultivo para poder obtener una muestra, lo más homogénea posible, siempre descartando los primeros 30 ml que se obtengan, ya que es parte del volumen que queda dentro del tubo y que no está en contacto con el resto del medio. Además, posee tres entradas en la tapadera con tubería de 6.4 mm. (1/4 pulg.) que se utilizan para introducir el antiespumante, al ácido y el álcali para el control del pH. Cada una de estas entradas está adaptada a una ampolla de decantación que hace las veces de reservorio.

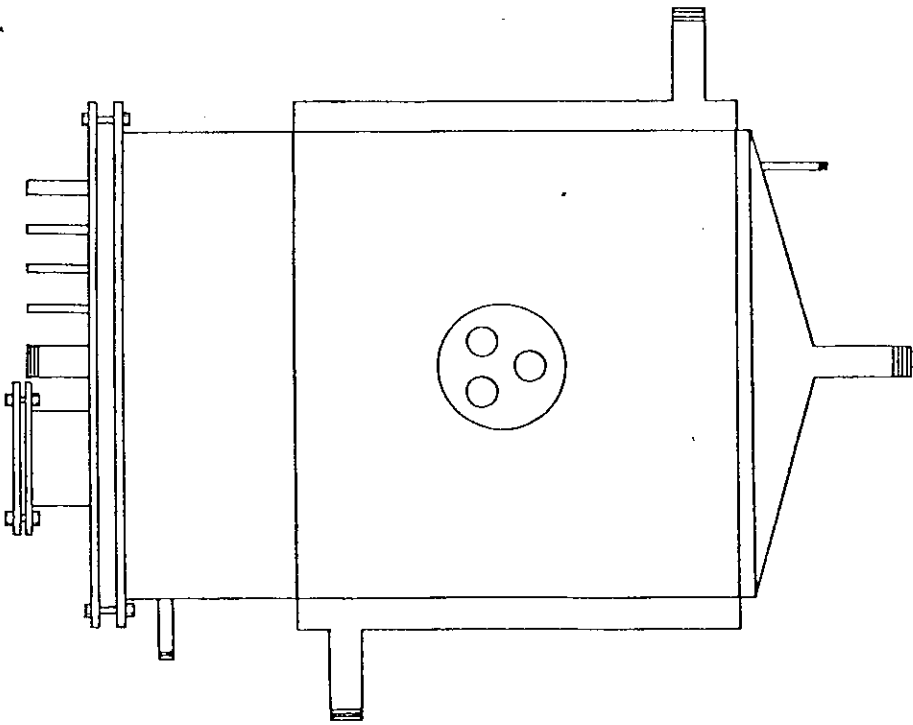
Por último, tiene una boca con tapadera atornillada que se utiliza para alimentar el medio y/o el inóculo durante la carga del fermentador; y una descarga en el fondo del mismo para propósitos de vaciado y lavado.

ILUSTRACION No. 7: Detalle de los puntos de acceso para controles y toma de muestras.



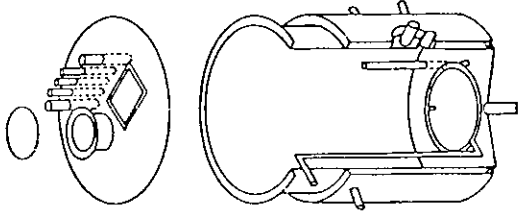
J. Planos:

A continuación se presentan los diagramas y planos del fermentador que fueron aprobados por el consejo directivo de la Universidad del Valle de Guatemala.



ELEVACION FRONTAL

1 cm = 1 pulg

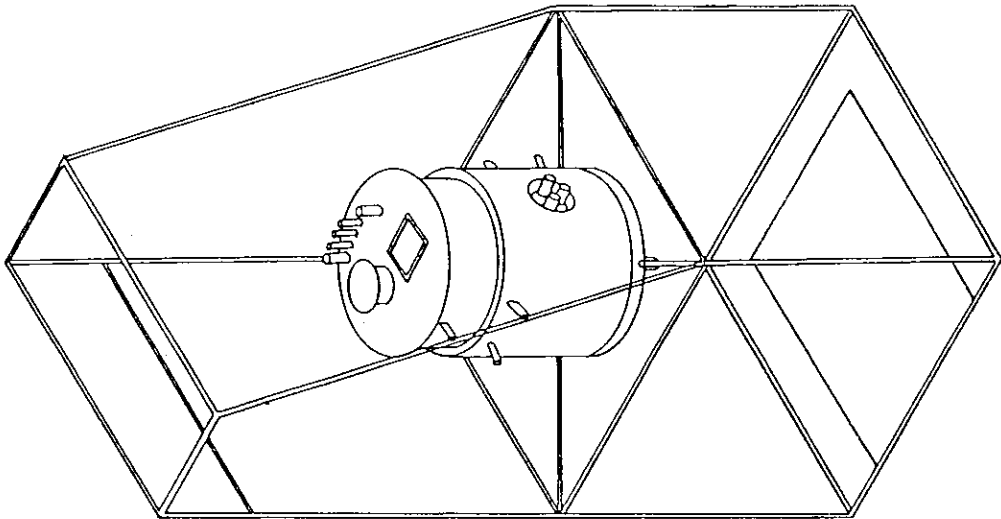


PERSPECTIVA ISOMETRICA

ESCALA 1:1/8

UNIVERSIDAD DEL VALLE
TRABAJO DE GRADUACION
FERMENTADOR BATCH





ESCALA 1:1/8

ESTRUCTURA EN PERSPECTIVA

## VIII. COSTOS DE INVERSIÓN.

Los costos de inversión se reducen a aquellos pagados a los talleres por concepto de materiales y construcción del equipo, y los gastos de compras de accesorios para la instalación.

En seguida se presenta el presupuesto en detalle:

### PRESUPUESTO

#### INGRESOS:

Financiamiento de la UVG	Q 3,558.70
<b>TOTAL DE INGRESOS:</b>	<b>Q 3,558.70</b>

#### EGRESOS:

Fermentador	Q 2,260.00
Filtros de aire	375.00
Válvulas	498.35
Tubería y accesorios	113.03
Materiales eléctricos	19.62
Madera y fórmica	67.70
Servicios auxiliares (juntas de expansión para el aire comprimido)	225.00
<b>TOTAL DE EGRESOS:</b>	<b>Q 3,558.70</b>

## IX. EVALUACION Y DISCUSION DE RESULTADOS.

Se pudo comprobar que el trabajo realizado por los Talleres Hernández fue ampliamente satisfactorio. La calidad y acabado del equipo estuvieron de acuerdo a las especificaciones dadas al fabricante. En lo referente al contrato se cumplió con lo establecido en él, sobre todo lo relacionado a la fecha de entrega. No hubo necesidad de hacer efectivas la cláusulas sobre penalización/bonificación por atraso o adelanto en la fecha de entrega.

Fue beneficioso el efectuar una supervisión continua durante el periodo de construcción para verificar la calidad del trabajo.

El costo total del proyecto alcanzó la suma de Q 3,558.70, incluyendo las modificaciones que se le hicieron al compresor y a las líneas de aire.

Durante la práctica y optimización de las condiciones de operación se obtuvieron curvas de crecimiento de la biomasa, que concuerdan con las reportadas en la literatura. Las curvas de consumo de nutrientes también se comportaron, según lo dicho, y las de porcentaje de alcohol van aumentando paulatinamente conforme el nivel de azúcares baja, y la mortandad aumenta.

## X. CONCLUSIONES.

Como parte final del trabajo se puede concluir que el propósito y los objetivos trazados al inicio, se alcanzaron y algunos se superaron. Se tiene constancia que si existe tecnología y mano de obra calificada para poder realizar proyectos de construcción de equipo que haya sido diseñado por profesionales guatemaltecos, aunque siempre es indispensable llevar una supervisión y asesoría constante durante el tiempo de construcción.

En cuanto a los sistemas de control utilizados permiten un dominio aceptable del sistema, aunque el tiempo de respuesta en los periodos de calentamiento y enfriamiento es un poco largo.

Los resultados de las corridas concuerdan con los dichos por la teoría, por lo que se puede concluir que el equipo está diseñado correctamente y que el sistema de agitación/aireación es adecuado para el proceso aeróbico de producción de biomasa microbiana.

Se logró despertar el interés tanto de catedráticos como de estudiantes en cuanto al diseño y ejecución de las prácticas, así como demostrar que se tiene la capacidad para poder realizar un diseño y ejecutarlo.

## XI. RECOMENDACIONES.

Para que el fermentador se considere completamente terminado es conveniente obtener un sistema de control automático para el nivel de espuma, el control del pH, la temperatura y el oxígeno disuelto. De esta manera se podría trabajar en fermentaciones un tanto más delicadas sin tener que estar tomando muestras tan seguido.

También es recomendable asignarle un lugar definitivo para hacerle las conexiones sin tener que estar compartiendo trampas de vapor, válvulas reguladoras y filtros de agua con el equipo de evaporación, aunque para ello hay que hacer una inversión extra en accesorios.

Es recomendable que en las prácticas de laboratorio se evalúe el fermentador en procesos "fed batch" (alimentación discontinua) y en procesos anaeróbicos ya que este trabajo no tuvo esos alcances.

## XII. BIBLIOGRAFIA

- Aiba S., A. E. Humphrey y N. F. Millis. 1973. BIOCHEMICAL ENGINEERING. 2a. Ed. Academic Press, New York.
- Altschul, Aaron M. 1974. NEW PROTEIN FOODS. Vol. 1 Technology Part A. 1a. Ed. Academic Press, New York.
- Bailey, James E. 1977. BIOCHEMICAL ENGINEERING FUNDAMENTALS. 1a. Ed. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Beck, Christine, Howard Stiefel y Thomas Stinnett. BIOCHEMICAL REACTOR. CELL-CULTURE BIOREACTORS. Chem. Eng. Feb. 16, 1987. pp. 121-129.
- BIOTECH FERMENTERS. GROW UP. Chem. Eng. Mar. 28, 1988. pp. 22-26.
- Bjurstrom, E. D. BIOTECHNOLOGY FERMENTATION AND DOWNSTREAM PROCESSING. Chem. Eng. Feb. 18, 1985. pp. 126-158.
- Bjurstrom, Edward y Bonnie J. Smelser. COMMERCIALIZING BIOTECHNOLOGY PROCESSES. Chem. Eng. Ene. 18, 1988. pp. 81-84.
- DeClerk, Donald H. y Adam J. Patarcity. 32nd. BIENNIAL REPORT ON MATERIALS OF CONSTRUCTION, guidelines for selecting corrosion-resistant materials. Chem. Eng. Nov. 24, 1986. pp. 46-63.
- Kern, Allan G. SIMPLIFY BATCH TEMPERATURE CONTROL. Chem. Eng. Mar. 28, 1988. pp. 61-63.
- Kouloheris, A. P. FOAM: FRIEND AND FOE. Chem. Eng. Oct. 26, 1987. pp. 88-97.

Lipták, Béla G. CONTROLLING AND OPTIMIZING CHEMICAL REACTORS. Chem. Eng. May. 26, 1986. pp. 69-81.

MATERIALS OF CONSTRUCTION: current literature. Chem Eng. Nov. 24, 1986. pp. 65-84.

McCabe, Warren L., Julian C. Smith. 1976. UNIT OPERATIONS OF CHEMICAL ENGINEERING. 3a. Ed. McGraw-Hill Kogakusha Ltd. Tokyo.

Miller, Randy, y Michael Melick. BIOCHEMICAL REACTORS. MOEELING BIOREACTORS. Chem. Eng. Feb. 16, 1987. pp. 112-120.

Nagata, Shinji. 1975. MIXING PRINCIPLES AND APPLICATIONS. 1a. Ed. Kondasha Ltd. Tokyo.

Oldshue, James Y. FLUJO MIXING TECHNOLOGY AND PRACTICE. Chem. Eng. Jun. 13, 1983. pp. 82-108.

Perry, Robert H. y Cecil H. Chilton. 1982. MANUAL DEL INGENIERO QUIMICO. 5a. Ed. (2a. Ed. en español), McGraw-Hill, México.

Peters, M., Timmerhaus, K. 1968. PLANT DESIGN AND ECONOMICS FOR CHEMICAL ENGINEERING. 2a. Ed. McGraw-Hill Book Company, U.S.A.

Quintero Ramírez, Rodolfo. 1981. INGENIERIA BIOQUIMICA. TEORIA Y APLICACIONES. 1a. Ed. Editorial Alhambra Mexicana S.A. México.

Rolz, C. 1974. UTILIZATION OF CANE AND COFFEE PROCESSING BY PRODUCTS AS MICROBIAL PROTEINS SUBSTRATES ON SINGLE CELL PROTEIN II. Tannenbaum, S. Wang, D. I. C. (Eds) the Mit Press, Cambridge.