



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

**“DISEÑO DE UN BIOREACTOR PARA LA PRODUCCIÓN DE
LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) DE PANIFICACIÓN,
UTILIZANDO COMO SUSTRATO MELAZA PARA LA EMPRESA
PANIFICADORA LEFSKI-PAN”.**

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: PROYECTO TÉCNICO

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO QUÍMICO

AUTOR: MARIO LIZARDO FRANCO ANDRADE

DIRECTORA: ING. CRISTINA CALDERÓN M.SC.

RIOBAMBA – ECUADOR

2019

©2019, Mario Lizardo Franco Andrade

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

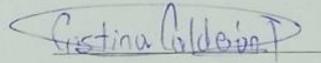
El Tribunal de trabajo de titulación certifica que: El proyecto técnico: "DISEÑO DE UN BIORREACTOR PARA LA PRODUCCIÓN DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) DE PANIFICACIÓN, UTILIZANDO COMO SUSTRATO MELAZA PARA LA EMPRESA PANIFICADORA LEFSKI-PAN", de responsabilidad del señor MARIO LIZARDO FRANCO ANDRADE, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. Cristina Calderón M.sc.

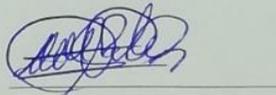
**DIRECTORA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**



2019/02/26

Ing. Mabel Parada M.sc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



2019/02/26

Yo, MARIO LIZARDO FRANCO ANDRADE, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de Titulación y el patrimonio intelectual del mismo pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Mario Lizardo Franco Andrade

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Mario Lizardo Franco Andrade portador de la cedula 080423082-9; declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados expuestos son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 22 de febrero del 2019



Mario Lizardo Franco Andrade

C.I. 080423082-9

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer al creador por darme la fortaleza para sobrellevar las etapas que la vida nos tiene destinados a cada uno de nosotros y poderlas superar de la mejor manera, a mi padre que falleció hace pocos meses y no tuvo el privilegio de leer este trabajo, mi madre por apoyarme en cada una de mis decisiones permitiéndole así alcanzar una meta más, por sus consejos, valores éticos y morales los cuales me ha ayudado a forjar el ser que soy, a toda mi familia por ser mi apoyo, y compartirme sus sabias experiencias, un agradecimiento eterno a mi enamorada Gabriela Miranda por ser mi apoyo y ayudarme en las encrucijadas que se manifestaron en la realización de este trabajo, a la familia Yaguachi Quitio por ser mi segunda familia en la ciudad de Riobamba y a la panificadora LEFSKI-PAN, por su apoyo económico, profesional y de sus instalaciones, que me permitieron llevar a cabo mi trabajo de titulación el mismo que brinda un aporte para su mejora como empresa. A mi tutora, la Ing. Cristina Calderón y a mi colaboradora, la Ing. Mabel Parada, por ser profesionales capaces de transmitir conocimiento y ayudarme en el desarrollo del presente proyecto final.

*<< El principio de la sabiduría es el temor de Jehová;
Los insensatos desprecian la sabiduría y la enseñanza >>
Proverbio 1.7*

Mario Franco

ABREVIATURAS

Símbolo	Significado
A_{ch}	Área de la chaqueta
A_{tc}	Área de transferencia de calor
a	Área interfacial de transferencia
B/C	Relación beneficio costo
C	Concentración de oxígeno disuelto que se alcanza en estado estacionario al finalizar la segunda etapa del método
C_{il}	Concentración del componente iónico en el líquido
C_{jl}	Concentración del componente iónico en el líquido
C_L	Concentración de oxígeno disuelto a un tiempo definido
C_{Lo}	Concentración de oxígeno disuelto con la que se inicia la 2° etapa del método
cp_F	Capacidad calorífica del Fósforo
cp_{H_2O}	Capacidad calorífica del agua
cp_m	Capacidad calorífica de la melaza
cp_{ni}	Capacidad calorífica del nitrógeno inorgánico
cp_{no}	Capacidad calorífica del nitrógeno orgánico
cp_p	Capacidad calorífica promedio del medio
C^*	Concentración de oxígeno en equilibrio
Co^*	Solubilidad del oxígeno en el agua
D_{imp}	Diámetro del impulsor
D_t	Diámetro del tanque
D_{tc}	Diámetro de la chaqueta
db	Diámetro de equilibrio de la burbuja
dt	Tiempo de incubación
$\frac{dC_L}{dt}$	Tasa de transferencia de oxígeno
E	Altura de la paleta
e	Espesor del material de la chaqueta
F_a	Flujo de aireación
F_{aire}	Flujo de aire
F_c	Factor de configuración del fermentador
f	Factor requerido por el agitador
fo	Espacio tanque-placa
G	Dimensión de la placa reflectora
g	Gravedad

H_i	Constante del componente iónico
H_{imp}	Largo de la paleta
H_t	Altura del tanque
h_o	Coefficiente convectivo de transferencia de calor del medio de cultivo
h_i	Coefficiente convectivo de transferencia de calor del vapor
I	Flujo de inóculo
K_j	Constante del componente no iónico
K_s	Constante de utilización
k	Coefficiente conductivo de transferencia de calor de la chaqueta
$k_L a$	Coefficiente volumétrico de transferencia de oxígeno
k_m	Conductividad térmica del medio
k_v	Conductividad térmica del agua
$LMTD$	Diferencia de temperatura media logarítmica
L_{imp}	Alto de la paleta
M	Flujo de melaza
M_l	Peso de levadura que se desea obtener
m	Peso del medio
m_{ch}	Masa del agua en la chaqueta para enfriar
m_m	Masa del medio de cultivo
N	Número de revoluciones por segundo (rps)
N_a	Velocidad de Transferencia de oxígeno volumétrica
N_{ai}	Número de aireación
N_i	Número de impeler
N_p	Número de placas del motor
Nu	Número de Nusselt
n	Tamaño de la muestra
O	Flujo de aire de entrada
$Ó$	Flujo de aire de salida
P	Flujo de Producto
P	Potencia del agitador
P_a	Potencia del agitador con aireación
Pr	Número de Prandtl
P_t	Potencia total del agitador
Q_{ch}	Calor que gana la chaqueta el medio de cultivo
q_{O_2}	Tasa específica de respiración microbiana
R	Flujo de las aguas residuales

R_{batch}	Cantidad de biomasa producida en un cultivo discontinuo
R_e	Número de Reynolds
r_{ch}	Radio de la chaqueta
S_R	Concentración original del sustrato
s	Concentración de sustrato residual
TIR	Tasa interna de retorno
T_1	Temperatura de salida del agua
T_2	Temperatura de entrada del agua
t_i	Tiempo transcurrido mientras el microorganismo crece a la velocidad máxima
t_{ii}	Tiempo transcurrido mientras el microorganismo no crece a la velocidad máxima
t_f	Temperatura final del medio en la pasteurización
t_o	Temperatura inicial del medio en la pasteurización
t_1	Tiempo en el que inicia la segunda etapa del método
t_2	Tiempo a una determinada concentración de oxígeno disuelto
U	Coficiente global de transferencia de calor
VAN	valor actual neto
V_{ch}	Volumen de la chaqueta
V_D	Volumen de operación en el BIOREACTOR
V_l	Volumen del medio
V_{op}	Volumen de producción del BIOREACTOR
V_s	Volumen de seguridad en el BIOREACTOR
V_t	Volumen del tanque
vvm	Volumen de aire por volumen de líquido por minutos
W	Flujo de agua
X	Concentración de microorganismo en el medio
x	Concentración de células
xb	Concentración de biomasa del inóculo
x_{max}	Concentración de biomasa en la fase estacionaria
x_t	Concentración de células en tiempo cero
x_0	Concentración de células después de un tiempo
Y	Factor de rendimiento para el sustrato limitante (g de biomasa/g de sustrato consumido)
Z_i	Valencia del componente iónico
$\%_F$	Fracción en peso del Fósforo en el medio
$\%_{H_2O}$	Fracción en peso del agua en el medio
$\%_m$	Fracción en peso de la melaza en el medio

$\%_{ni}$	Fracción en peso del nitrógeno inorgánico en el medio
$\%_{no}$	Fracción en peso del nitrógeno orgánico en el medio
$\%w$	Porcentaje de agua
$\%m$	Porcentaje de azúcares disueltos
$\%O_2$	Fracción porcentual de oxígeno en el aire
$\%o$	Porcentaje de oxígeno
μ	Velocidad específica de crecimiento
μ_g	Viscosidad del gas
μ_l	Viscosidad del medio
μ_{max}	Velocidad máxima
μ_v	Viscosidad del agua
σ	Tensión superficial
ΔT_{ch}	Variación de temperatura deseada en la chaqueta
ρ_p	Densidad de la levadura en el medio al final del proceso
ρ	Densidad del medio
ρ_v	Densidad del agua
β	Coefficiente de expansión térmica del agua
φ	Fracción de retención de gas en el reactor
$\left(\frac{D_t}{D_i}\right)^*$	Relación "Fr" Diámetro del tanque / Diámetro del impulsor real
$\left(\frac{H_l}{D_i}\right)^*$	Relación "Fr" Altura del líquido en el tanque / Diámetro del impulsor real
$\left(\frac{D_t}{D_i}\right)$	Relación "Fi" Diámetro del tanque / Diámetro del impulsor ideal
$\left(\frac{H_l}{D_i}\right)$	Relación "Fi" Altura del líquido en el tanque / Diámetro del impulsor ideal

TABLA DE CONTENIDO

	Páginas
RESUMEN	XXII
ABSTRACT	XXIII
CAPÍTULO I.....	1
1. DIAGNÓSTICO Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.	1
1.1. Identificación del Problema.	1
1.2. Justificación del Proyecto	2
1.3. Línea base del proyecto.	2
1.3.1. Antecedentes de la empresa.	2
1.3.2. Marco conceptual.	3
1.3.2.1. <i>La panificación en el Ecuador.</i>	3
1.3.2.2. <i>Levadura (Saccharomyces cerevisiae).</i>	3
1.3.2.3. <i>Proceso de fermentación con microorganismo.</i>	5
1.3.2.4. <i>Formulación de un medio de cultivo.</i>	6
1.3.2.5. <i>Sustratos utilizados para la producción de levadura.</i>	7
1.3.2.6. <i>Melaza.</i>	9
1.3.2.7. <i>Condiciones tomadas en cuenta para la producción de levadura.</i>	11
1.3.2.8. <i>BIOREACTORes.</i>	14
1.4. Beneficiarios Directos e Indirectos.	38
1.4.1. Los beneficiarios Directos.	38
1.4.2. Los beneficiarios Indirectos.	38
CAPÍTULO II	39
2. OBJETIVOS DEL PROYECTO.	39
2.1. Objetivo General.	39
2.2. Objetivos Específicos.	39
CAPÍTULO III.....	40
3. ESTUDIO TÉCNICO.	40
3.1. Localización del Proyecto.	40
3.2. Ingeniería del proyecto.	41
3.2.1. Tipo de trabajo.	41
3.2.2. Nivel de la investigación para el trabajo técnico.	41
3.2.2.1. <i>Estudio de intervención.</i>	41
3.2.2.2. <i>Muestreo.</i>	41

3.2.2.3. <i>Tamaño de la muestra</i>	41
3.2.3. <i>Etapas del proyecto</i>	42
3.2.3.1. <i>Etapa 1: Caracterización de forma macroscópica y microscópica de la levadura</i>	42
3.2.3.2. <i>Etapa 2: Reconocimiento de la concentración óptima de melaza de caña para la producción de levadura</i>	47
3.2.3.3. <i>Etapa 3: Determinación de las variables y parámetros del proceso para la obtención de levadura</i>	48
3.2.3.4. <i>Etapa 4: Características fisicoquímicas y microbiológicas de la biomasa obtenida</i>	51
3.2.4. <i>Cálculos</i>	53
3.2.4.1. <i>Variables de la biomasa</i>	53
3.2.4.2. <i>Propiedades físicas del medio y producto</i>	54
3.2.4.3. <i>Transferencia de masa (líquido-Sólido)</i>	56
3.2.4.4. <i>Geometría de tanque de producción</i>	57
3.2.4.5. <i>Transferencia de calor</i>	59
3.2.4.6. <i>Sistema de agitación</i>	62
3.2.4.7. <i>Sistema de aireación</i>	65
3.2.5. <i>Resultados</i>	66
3.2.5.1. <i>Resultados de la caracterización</i>	66
3.2.5.2. <i>Resultados a escala laboratorio</i>	67
3.2.5.3. <i>Resultado a escala prototipo</i>	67
3.2.5.4. <i>Resultado de las características fisicoquímicas y microbiológicas de la biomasa obtenida y comparación con la norma colombiana (NTC-1807, 2004)</i>	68
3.2.5.5. <i>Dimensiones del BIOREACTOR</i>	69
3.3. <i>Proceso de Producción</i>	70
3.4. <i>Requerimientos de tecnología, equipos y maquinaria</i>	71
3.5. <i>Análisis de Costo/Beneficio del proyecto</i>	72
3.4.1. <i>Inflación</i>	72
3.4.2. <i>Costo del equipo</i>	73
3.4.3. <i>Otros equipos</i>	73
3.4.4. <i>Egresos</i>	73
3.2.4.1. <i>Precio de materiales y equipos</i>	73
3.2.4.2. <i>Abono a capital</i>	74
3.2.4.3. <i>Gastos de producción</i>	74
3.2.4.4. <i>Salario</i>	75
3.2.4.5. <i>Materia prima e insumos</i>	76
3.2.4.6. <i>Egreso Total</i>	77
3.4.5. <i>Ingresos totales</i>	77

3.4.6. Análisis del B/C, VAN y TIR.....	78
3.6. Cronograma del proyecto	79
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	80
CONCLUSIONES.....	83
RECOMENDACIONES.....	84
BIBLIOGRAFÍA.....	85

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1-1 Requerimientos nutrimentales para los medios de cultivo.....	7
Tabla 2 1 Composición bromatológica de la melaza de caña de azúcar.	10
Tabla 3-1 Valores representativos del Ks para diversos microorganismos y sustrato.....	19
Tabla 4-1 Constantes físicas a 130 °C.....	25
Tabla 1-3 Caracterización de la levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>).....	43
Tabla 2-3 Tratamiento previo a la melaza de caña de azúcar.	44
Tabla 3-3 Determinación de la curva de calibración.	45
Tabla 4-3 Determinación de la curva de crecimiento de biomasa.....	46
Tabla 5-3 Geometría del BIOREACTOR y accesorios.	48
Tabla 6-3 Requisitos fisicoquímicos para la levadura.	52
Tabla 7-3 Requisitos microbiológicos para la levadura de panificación.....	52
Tabla 8-3 Valores experimentales de densidad al inicio y final en Kg/m ³	54
Tabla 9-3 Valores de Viscosidad al inicio y final (Kg/ms).....	55
Tabla 10-3 Cp. de los componentes mayoritario del medio.....	55
Tabla 11-3 Análisis macroscópico y microscópico de la levadura <i>S. cerevisiae</i>	66
Tabla 12-3 Resultados fisicoquímico de la levadura obtenida.	68
Tabla 13-3 Resultados microbiológico de la levadura obtenida.	68
Tabla 14-3 Comparación fisicoquímico de la levadura obtenida con la norma (NTC-807, 2004).	69
Tabla 15-3 Comparación microbiológico de la levadura obtenida con la norma (NTC-1807, 2004).....	69
Tabla 16-3 Geometría del BIOREACTOR y accesorios	70
Tabla 17-3 Requerimientos de tecnología, equipos y maquinaria.	71
Tabla 18-3 Inflación del país desde el 2010-2018.....	72
Tabla 19-3 Precio, vida útil y depreciación anual de materiales y equipos.....	74
Tabla 20-3 Abono a capital	74
Tabla 21-3 Gastos de producción	75
Tabla 22-3 Presupuesto anual del técnico.....	75
Tabla 23-3 Precios de la materia prima actual y pronóstico para los próximos 5 años.	76
Tabla 24-3 Precios de la materia prima actual y pronóstico para los próximos 5 años.	77
Tabla 25-3 Ingreso total por la producción de levadura en los próximos 5 años.	77
Tabla 26-3 Flujo neto del proyecto.....	78
Tabla 27-3 Valores del B/C, VAN y TIR	78

Tabla 28-3 Cronograma ejecutado para la elaboración de este proyecto79

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Páginas
Gráfica 1-1 Representación de la transferencia de calor en el BIOREACTOR.	23
Gráfica 2-1 Flujo totales de entran y salen en el BIOREACTOR	29
Gráfica 3-1 Corrientes que entran y salen en el BIOREACTOR consideradas para el balance de masa.	30
Gráfica 1-3 Diagrama de proceso para la determinación de biomasa en el laboratorio aplicada para las diferentes concentraciones de melaza.	47
Gráfica 2-3 Diagrama de proceso para la determinación de biomasa en el prototipo de 20 L. En donde X rpm son las velocidades aplicadas en el prototipo las misma que son: 100, 125, 150, 175 y 200) rpm.	51
Gráfica 3-3 Corrientes que entran y salen en el BIOREACTOR consideradas para el balance de masa con los respectivos datos iniciales que se tiene.	56
Gráfica 4-3 Indica la curva de calibración a una longitud de onda de 610nm	66
Gráfica 5-3 Indica la producción de biomasa (g/L) con respecto a la concentración de melaza (15, 20, 25, 30, 35) °Brix.	67
Gráfica 6-3 Producción de biomasa (g/mL) con relación a las diferentes velocidades de agitación (100, 125, 150, 175 y 200) rpm en el prototipo de 20 Litros.	67
Gráfica 7-3 Diagrama de proceso para la producción de 18 kg de levadura para panificación en el BIOREACTOR de 61 litros.	71

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

	Páginas
Fotografía 1-3 Prototipo utilizado para validar las variables de proceso.....	49
Fotografía 2-3 Instrumentos que constituyen es tablero de control del prototipo de 20 Litros. .	49
Fotografía 3-3 Muestra el compresor utilizado y el sistema para regular el caudal del aire que sale de dicho equipo.	50

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1-1 (A) Agrupación de célula. (B) Fotomicrografía de corte transversal de una célula, ambos bajo el microscopio.	4
Figura 2-1 Reproducción por gemación de la levadura de <i>S. cerevisiae</i> ,	5
Figura 3-1 Reproducción por esporas de la levadura de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5
Figura 4-1 Se ilustra la forma que tiene la melaza al ser extraída en el proceso de refinación de la sacarosa.	10
Figura 5-1 Efecto del flujo de aire dentro de un fermentador.	12
Figura 6-1 Patrón de flujo radial y axial generado en un sistema de agitación.	13
Figura 7-1 Representación del crecimiento microbiano.	14
Figura 8-1 Concentración de la biomasa (derecha) y la concentración de glucosa (izquierda), en un BIOREACTOR Batch.	16
Figura 9-1 Concentración de la biomasa y el volumen del BIOREACTOR (izquierda), mientras que en el otro extremo el flujo de la alimentación (izquierda), en un BIOREACTOR discontinuo.	17
Figura 10-1 Concentración de la biomasa y glicina (izquierda), mientras que en el otro extremo la productividad (izquierda), en un BIOREACTOR continuo en la obtención de <i>Aerobacter aerogenes</i>	17
Figura 11-1 Diagrama de la <i>relación</i> del <i>número</i> de placas del mor (N_p) vs <i>número</i> de Reynolds (Re).	35
Figura 12-1 Requisitos de potencia para la agitación en un sistema gaseado. La ordenada y una abscisa son el grado de disminución de potencia Pa/P , y el número de aireación, N_a . Los parámetros son los tipos de aspas, cuyas relaciones geométricas representativas.	37
Figura 1-3 Georreferencia de la ubicación de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.	40

ÍNDICE DE ECUACIONES

	Páginas
Ecuación 1-1 Velocidad cinética de crecimiento	18
Ecuación 2-1 Resolución de la ec. de velocidad cinética de crecimiento	18
Ecuación 3-1 Tiempo de duplicación	18
Ecuación 4-1 Resolución de la ec. de tiempo de duplicación	19
Ecuación 5-1 Velocidad máxima de crecimiento	19
Ecuación 6-1 Concentración de Biomasa	20
Ecuación 7-1 Factor de rendimiento de Biomasa	20
Ecuación 8-1 Productividad de Biomasa	20
Ecuación 9-1 Densidad.....	21
Ecuación 10-1 Capacidad calorífica promedio	22
Ecuación 11-1 Capacidad calorífica del medio	22
Ecuación 12-1 Diferencia de temperatura media logarítmica (LMTD).....	22
Ecuación 13-1 Coeficiente global de transferencia de calor	23
Ecuación 14-1 Número de Prandtl.....	23
Ecuación 15-1 Número de Reynolds	24
Ecuación 16-1 Número de Nusselt	24
Ecuación 17-1 Resistencia a la transferencia de calor en el medio ($1/h_o$)	24
Ecuación 18-1 Resistencia a la transferencia de calor del vapor ($1/h_i$)	25
Ecuación 19-1 Equilibrio termico.....	25
Ecuación 20-1 Calor requerido en la chaqueta	25
Ecuación 21-1 Área de transferencia de calor	26
Ecuación 22-1 Flujo másico de agua en la chaqueta.....	26
Ecuación 23-1 Volumen de la chaqueta	26
Ecuación 24-1 Área de la chaqueta	26
Ecuación 25-1 Radio del tanque con chaqueta	27
Ecuación 26-1 Coeficiente de transferencia de masa.....	27
Ecuación 27-1 Coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno	27
Ecuación 28-1 Velocidad de Transferencia de oxígeno volumétrica	28
Ecuación 29-1 Concentración de oxígeno en equilibrio	28
Ecuación 30-1 Balance de general de materia	30
Ecuación 31-1 Balance por componente (azúcares disueltos)	30
Ecuación 32-1 Balance por componente (agua)	30
Ecuación 33-1 Balance por componente (oxígeno)	30

Ecuación 34-1 Capacidad volumétrica de producción	31
Ecuación 35-1 Factor de seguridad volumétrica.....	31
Ecuación 36-1 Volumen de operación.....	31
Ecuación 37-1 Diámetro del tanque para operación	32
Ecuación 38-1 Relación altura-tanque para el diseño	32
Ecuación 39-1 Diámetro del tanque para el diseño.....	32
Ecuación 40-1 Altura del tanque para el diseño	32
Ecuación 41-1 Volumen del tanque para el diseño.....	32
Ecuación 42-1 Altura entre la paleta y el fondo	33
Ecuación 43-1 Diámetro del impulsor	33
Ecuación 44-1 Largo de la paleta	33
Ecuación 45-1 Alto de la paleta.....	33
Ecuación 46-1 Dimensiones de la placa deflectoras (4 c/u).....	33
Ecuación 47-1 Espacio entre el tanque y la placa.....	34
Ecuación 48-1 Potencia del agitador	34
Ecuación 49-1 Factor de configuración del fermentador	35
Ecuación 50-1 Relación de las variables de un tanque ideal.....	36
Ecuación 51-1 Potencia total del agitador (1).....	36
Ecuación 52-1 Potencia total del agitador(2).....	36
Ecuación 53-1 Flujo de aireación (1).....	36
Ecuación 54-1 Flujo de aireación (2).....	36
Ecuación 55-1 Flujo de aireación (3).....	37
Ecuación 56-1 Flujo de aireación (4).....	37
Ecuación 57-1 Número de aireación.....	37
Ecuación 58-1 Potencia del agitador con aireación.	37
Ecuación 59-1 Diámetro de equilibrio de la burbuja	38
Ecuación 60-1 Área interfacial de transferencia.....	38
Ecuación 1-3 Tamaño de la muestra poblacional a obtener	41

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A	Caracterización de la levadura en laboratorio.
Anexo B	Cálculo en Excel de la solubilidad del oxígeno.
Anexo C	Curva de calibración en Excel de la levadura a 610 nm.
Anexo D	Curva de crecimiento en Excel, de los diferentes tratamientos hechos en el laboratorio.
Anexo E	Gráfica y datos de cada curva de crecimiento en los diferentes tratamientos hechos en el prototipo.
Anexo F	Estadística descriptiva en Excel de la producción máxima de biomasa para cada tratamiento en laboratorio.
Anexo G	Estadística descriptiva en Excel de la producción máxima de biomasa
Anexo H	Tratamiento del medio de cultivo para la escala laboratorio.
Anexo I	Análisis de las diferentes concentraciones de melaza (°Brix) en laboratorio.
Anexo J	Tratamiento del medio de cultivo para la escala laboratorio.
Anexo K	Medición en el espectrofotómetro uv-visible (cálculo de la longitud de onda).
Anexo L	Certificado de haber hecho los análisis en el laboratorio
Anexo M	NORMA NTC 1807
Anexo N	NMX-F-056

RESUMEN

Este trabajo de titulación tiene como finalidad el diseño de un BIOREACTOR para la producción de levadura de panificación (*Saccharomyces cerevisiae*). Se realizaron análisis de caracterización macroscópica y microscópica. Con un espectrofotómetro uv-visible se identificó la banda a una longitud de onda de 610 nm correspondiente al microorganismo en estudio. Utilizando como sustrato melaza, una fuente rica de carbohidratos consumido en la industria de levadura y subproducto de la industria azucarera, se realizó un proceso de fermentación a escala de laboratorio, con un agitador – incubador, para la producción de levadura, aplicando diferentes concentraciones de melaza (15, 20, 25, 30 y 35) °Brix y agregando una fuente de proteína, minerales y vitaminas con una agitación constante de 130 rpm. Se tomó muestras cada hora por un lapso de 20 horas para obtener las curvas de crecimiento de cada tratamiento, escogiendo al más rentable y llevando a un prototipo mecánico para el diseño a escala industrial. Las variables constantes del proceso tanto a escala de laboratorio como industrial fueron la temperatura de 30 °C y el pH de 4,5. El prototipo diseñado tiene una capacidad de 20 litros de operación, provisto con un sistema mecánico de agitación (motor eléctrico, bandas y poleas), un panel de control de agitación y temperatura, y un sistema de aireación. La mejor concentración obtenida a escala de laboratorio se ejecutó en el prototipo a diferentes niveles de agitación (100, 125, 150, 175 y 200) rpm con una oxigenación de 15 L/min, obteniendo la curva de crecimiento y consecuentemente las variables del proceso para el diseño de agitación cuya mayor producción de biomasa generó. La levadura obtenida fue validada de acuerdo con la norma colombiana NTC 1807 de calidad de levadura fresca. El equipo industrial diseñado tendrá la capacidad de producir 18 Kg de levadura.

PALABRAS CLAVES:

<INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA QUÍMICA> <TECNOLOGÍA DE LOS PROCESOS INDUSTRIALES> <BIOREACTOR BATCH> <FERMENTACIÓN ALCÓHOLICA> <PROTOTIPO MECÁNICO> <SUSTRATO> <CURVA DE CRECIMIENTO MICROBIANO> <HONGO (*Saccharomyces cerevisiae*)>



ABSTRACT

The following investigation's objective to design a bioreactor for the production of baking yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). Macroscopic and microscopic characterization analyses were performed. Using a uv-visible spectrophotometer, the band was identified at a wavelength of 610 nm corresponding to the microorganism under study. Using as substrate molasses, a rich source of carbohydrates consumed in the yeast industry and by-product of the sugar industry, a laboratory-scale fermentation process was carried out, with an agitator-incubator, for the production of yeast, applying different concentrations of molasses (15, 20, 25, 30 and 35) ° Brix and adding a source of protein, minerals and vitamins with a constant agitation of 130 rpm. Samples were taken every hour for a period of 20 hours to obtain the growth curves of each treatment, choosing the most profitable and leading to a mechanical prototype for industrial scale design. The constant variables of the process at both laboratory and industrial scale were the temperature of 30 ° C and the pH of 4.5. The prototype designed has a capacity of 20 liters of operation, provided with a mechanical system of agitation (electric motor, belts, and pulleys,) a control panel of agitation and temperature, and an aeration system. The best concentration obtained at laboratory scale was executed in the prototype at different levels of agitation (100, 125, 150, 175 and 200) rpm with oxygenation of 15 L / min, obtaining the growth curve and consequently the process variables for the Agitation design whose highest production of biomass genus. The obtained yeast was validated according to the Colombian norm NTC 1807 of fresh yeast quality. The industrial equipment designed will have the capacity to produce 18 kg of yeast.

KEYWORDS:

<CHEMICAL ENGINEERING AND TECHNOLOGY> <TECHNOLOGY OF INDUSTRIAL PROCESSES> < BIOREACTOR BATCH> <ALCOHOLIC FERMENTATION> <MECHANICAL PROTOTYPE> <SUBSTRATE> <MICROBIAL GROWTH CURVE> <HONGO (*Saccharomyces cerevisiae*)>



CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.

1.1. Identificación del Problema.

Suárez et al. (2016: pp.20-23), indica que, los primeros microorganismos utilizados como fuente de proteínas fueron las levaduras, principalmente *Saccharomyces cerevisiae*, en la actualidad es la principal fuente de proteína unicelular (SCP), dados los avances técnicos y científicos, se considera a la levadura como uno de los microorganismos con mayor producción, siendo de aproximadamente 3,5 millones de toneladas por año.

La levadura *S. cerevisiae* es probablemente el microorganismo más ampliamente utilizado por el hombre a través del tiempo; aunque no se tuviera, en un principio, conciencia plena de la participación del microorganismo en la elaboración de diversos alimentos como el pan o las bebidas alcohólicas (Suárez et al., 2016: pp.20-23).

Según Wagner et al. (2010: p.17), los desarrollo tecnológico alcanzado en la producción de levadura de panificación a finales del siglo XIX y principios del XX, permitió conocer a fondo los mecanismos biológicos de multiplicación de esta levadura y contar con el equipamiento necesario para su producción.

Por otra parte, en la industria azucarera se produce la melaza como residuo, el cual puede considerarse como contaminante, sin embargo, este puede ser utilizado como sustrato para la producción de levadura (Wagner et al., 2010: p.18).

En Ecuador las principales fuentes del sustrato melaza, son las empresas azucareras, entre ellas: Valdez, La Troncal, Isabel María, Monterrey, Iancem, San Carlos. De acuerdo con resultados de producción, los Ingenios azucareros indican que se obtienen entre 29 y 41.6 Litros de melaza/Ton de caña (7.6 Gal. /Ton) dependiendo del °Brix final de la melaza (Toledo, 2008, pp.49-50).

Las empresas panificadoras utilizan la levadura de cerveza para que el pan leude, esto se da por la descomposición de los carbohidratos que forman la masa del pan, liberando alcohol y dióxido de carbono. Finalmente, el dióxido de carbono es atrapado y la acumulación de esta produce el efecto leudar (Montoya & Giraldo, 2010: pp.31-32).

1.2. Justificación del Proyecto

En la actualidad el uso de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), en el área alimenticia ecuatoriana es muy amplia, de acuerdo con la información que brinda el INEC en su programa de ANÁLISIS DE MATERIAS PRIMAS Y PRODUCTOS 2010 (Encuesta nacional de Manufactura y Minería), en nuestro país se consume un promedio de 7 717 238 Kg/año (Inec, 2013, pp.30-350).

En el Ecuador el mercado panificador se caracteriza por ser tradicionalista, es decir, no se introduce innovaciones considerables respecto a las recetas y el proceso de elaboración, además los insumos utilizados en la producción en su mayoría son abastecidos por empresas que tienen varios años en el mercado. Muchas de las panaderías han empezado como simples negocios, las cuales en forma posterior han logrado captar una cartera importante de clientes que les ha permitido crecer (Toledo, 2008, p.14).

Por esta razón el siguiente proyecto técnico es conocer las condiciones Físico-Biológicas para la reproducción de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) de panificación, y diseñar un BIOREACTOR el cual debe tener la capacidad de generar alrededor de 20 kg de dicha levadura, utilizando como sustrato melaza, la misma que es un residuo de la industria azucarera. Si se tienen buenos resultados, la empresa llevaría esto a una escala industrial, otorgando la oportunidad de generar su propio sustrato y crear nuevas fuentes de trabajo, reduciendo gastos de producción y aumentando utilidades.

1.3. Línea base del proyecto.

1.3.1. Antecedentes de la empresa.

La empresa LEFSKI-PAN es una pequeña empresa riobambeña que tiene 13 años de fundación, donde su matriz se encuentra ubicada en la avenida PICHINCHA Y BARÓN DE CARONDELET. Genera productos del consumo diario relacionados al área de panificación y pastelería, cuenta con 17 trabajadores, distribuidos en diferentes áreas como es producción, ventas y administrativa. Tiene un consumo de levadura oscila entre 15-18 Kg/día. Este insumo es comprado a una empresa externa que de acuerdo con la época se le triplica la demanda y por ende aumenta los precios.

El presente proyecto se enfoca en el análisis del medio de reproducción de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), pedido por la empresa panificadora LEFSKI-PAN. Seguido de la optimización de los parámetros involucrados en la producción de dicha levadura, utilizando como

sustrato melaza, residuo de la industria azucarera para el cultivo de la cepa bacteriana. Y generando así, nuevas fuentes de trabajo.

1.3.2. Marco conceptual.

1.3.2.1. La panificación en el Ecuador.

Según la encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares 2011- 2012, del Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC). No se tienen datos de la producción de pan a nivel nacional, sin embargo, se estima que la producción ha tenido un decrecimiento en los últimos diez años ya que hay empresas panificadoras que han mermado su producción hasta un 25%, al parecer este declive se da por la situación económica que el país atraviesa, incremento del precio de la materia prima y aplicaciones de medidas de salvaguardia (Lideres, 2018, pp.1-2).

Durante los siglos XIX y XX la panificación al ser un trabajo familiar-artesanal se abre paso a la industrialización para así poder ser los máximos proveedores de este alimento básico en los sectores donde estos se radicaban, en la actualidad se ha visto un cambio en la producción por la maquinaria utilizada, permitiendo así poder satisfacer demandas dentro y fuera del país. Los ingredientes utilizados para la elaboración es harina de trigo, agua, sal, levadura y se puede añadir ciertos coadyuvantes tecnológicos y aditivos autorizados (Mesas & Alegre, 2002: p.3).

1.3.2.2. Levadura (*Saccharomyces cerevisiae*).

Para el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar Cuba, el nombre levadura se utiliza como nombre genérico para determinar a una agrupación de organismos unicelulares, en la cual se incluyen especies patógenas tanto para plantas como animales, siendo esta una especie no solamente inocuas sino también de gran utilidad (Pérez et al., 2001: pp.1-2).

Las levaduras son seres vivos de tipo unicelulares que pertenecientes al reino de los hongos, siendo utilizados desde la antigüedad en los procesos fermentativos, como es la panificación, vinificación, nutrición, usos farmacéuticos, usos cerveceros y destilería. En todos los casos, la levadura más comúnmente utilizada es la levadura de cerveza, cuyo nombre científico, *Saccharomyces cerevisiae*, con ayuda otros nutrientes como son proteínas, minerales, vitaminas y agua, este procesa los azúcares produciendo alcohol y dióxido de carbono (Gómez et al., 2016: pp.30-31).

a. *Característica de la levadura (Saccharomyces cerevisiae).*

La levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), es un microorganismo unicelular con un tamaño mayor que las bacterias, el mismo que oscila de 1 - 12 μm de largo y entre 2 – 20 μm de ancho, como se ilustra en la figura 1-1.

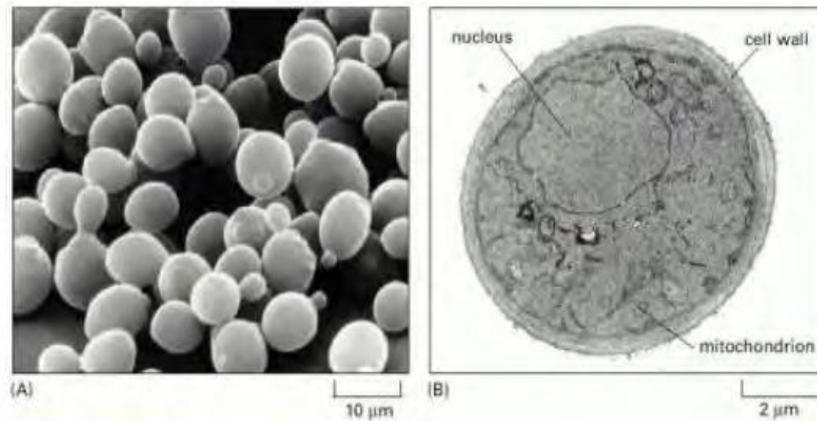


Figura 1-1 (A) Agrupación de célula. (B) Fotomicrografía de corte transversal de una célula, ambos bajo el microscopio.

Fuente: (Wagner et al., 2010: p.24).

b. *Método de reproducción de la levadura (Saccharomyces cerevisiae).*

De acuerdo con la información que brinda Gilces et al. (2006: pp.23-24), la cual indica que la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) se reproduce por gemación y por esporas, variando, dependiendo del medio. Llegando así una célula de levadura a generar alrededor de 40 células hijas, y se cuenta con un promedio de 24 generaciones en un proceso de reproducción.

• **Por gemación:** en este proceso a la levadura le sale una protuberancia con formación de un nuevo núcleo, llegando a compartir el citoplasma durante un período de tiempo, como se muestra en la figura 2-1. Se forma una doble pared. En la mayoría de los casos, las nuevas células formadas siguen unidas a la original formando a su vez otras, con lo que se llegan a formar racimos.

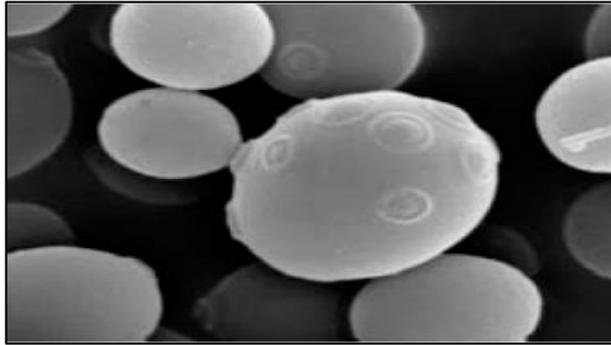


Figura 2-1 Reproducción por gemación de la levadura de *S. cerevisiae*.

Fuente: Wagner et al., 2010: p.24

- **Por esporas:** en este método de reproducción las hijas de levadura se forman dentro de la célula de levadura madre, como señala la figura 3-1, que se abre cuando estas maduran y se desarrollan posteriormente.

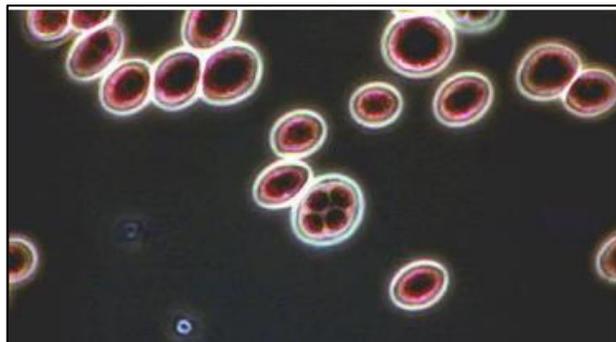


Figura 3-1 Reproducción por esporas de la levadura de *Saccharomyces cerevisiae*.

Fuente: Wagner et al., 2010: p.25

1.3.2.3. Proceso de fermentación con microorganismo.

Durango (2007, pp. 35-37), menciona que, la palabra fermentación de acuerdo al contexto que se aplique este tiene otro significado, por ejemplo en la bioquímica se lo relaciona con la generación de energía obtenida de compuestos orgánicos los cuales fueron procesados por el método de catabolismo, mientras que en microbiología industrial se utiliza para describir algún proceso químico que ha sido catalizado por sistemas de tipo microbianos enzimáticos en un medio de cultivo, generando una serie de reacciones bioquímicas que se llevan a cabo en un equipo llamado fermentador o también conocido como BIOREACTOR, donde los sustratos que componen el medio de cultivo se transforman por acción microbiana en metabolitos y/o biomasa. Al transcurrir el tiempo de operación, el microorganismo aumenta su concentración y el medio se va

modificando, formando producto y subproducto, los mismos que se generan de forma simultánea o de manera independiente (Wagner et al., 2010: pp.25-26).

a. Escalamiento de un proceso de fermentación.

Escalamiento en la fermentación es un cambio a escala de volumen de proceso. Este cambio viene acompañado de dificultades debido a que hay parámetros de proceso que se encuentran relacionados de manera directamente con la geometría y tamaño del reactor (Armas, 2006, p.28).

El objetivo principal es cambiar la escala de una reacción biológica disminuyendo o aumentando el volumen de trabajo, evitando así que la productividad se reduzca (Durango, 2007, p.21).

Páez & Guerra (2011: p.20-26), menciona que, un escalado significa un cambio a escala de volumen de un proceso en este caso de tipo fermentativo. Al realizar este cambio se generan diversos problemas ya que suelen cambiar las variables de proceso que se encuentran directamente relacionados con el tamaño y geometría del BIOREACTOR. Por lo general el escalamiento se forma de tres etapas. La primera se da a nivel de laboratorio, donde se opera en frascos agitados donde el volumen es de aproximadamente 500 ml o también se suele utilizar pequeños fermentadores, donde se estudian las variables de proceso y se ajustan las condiciones óptimas para el microorganismo como es la temperatura, pH, aireación (si es aplicado), agitación (si es aplicado) y composición del medio de cultivo.

La segunda se da en la planta piloto donde se recomienda utilizar un volumen entre 5-500 L, y se estudian efectos que tienen los parámetros ya antes mencionados. En la tercera se utilizan fermentadores de producción que tienen un volumen entre 5.000- 400.000 L se validan los resultados obtenidos en la segunda etapa y se debe operar siguiendo las pautas ya fijadas (Gilces et al., 2006: p.42-43).

1.3.2.4. Formulación de un medio de cultivo.

Para Wagner et al. (2010: pp. 35-38), el cual indica que, el medio de cultivo que se utiliza en la fermentación no solo debe cubrir la necesidad nutritiva del microorganismo sino también la exigencia del proceso industrial. Por ello, deben tenerse en cuenta una serie de factores importantes para la formulación del medio. Entre ellos, el costo, la eficiencia, la reología y sus efectos en la corriente descendentes.

Todos los microorganismos requieren agua, fuente de carbono y nitrógeno, elementos minerales y posiblemente nutrientes específicos, como vitaminas y aminoácidos, como se ilustra en la tabla 1-1. La mayoría de los microorganismos comercialmente importantes son quimio-organotróficos, por lo tanto, la fuente de energía y carbono es la misma (Wagner et al., 2010: pp. 35-38).

Tabla 1-1 Requerimientos nutrimentales para los medios de cultivo

Nutriente	Forma química suministrada al medio de cultivo
Carbono	Glucosa, malato, acetato, piruvato, medios complejos como extracto de levadura, peptona
Hidrógeno	H ₂ O, Compuestos orgánicos
Oxígeno	H ₂ O, O ₂ , Compuestos orgánicos
Nitrógeno	Inorgánicos: KNO ₃ , (NH ₄) ₂ SO ₄ , N ₂ , NH ₄ Cl
	Orgánicos: aminoácidos y bases nitrogenadas.
Fósforo	Na ₂ HPO ₄ , KH ₂ PO ₄
Azufre	Na ₂ SO ₄ , H ₂ S
Potasio	KCl, KH ₂ PO ₄
Magnesio	MgSO ₄ , MgCl ₂
Sodio	NaCl
Calcio	CaCl ₂
Hierro Quelatos de hierro	FeCl ₃ , FeSO ₄
Micronutrientes	MnSO ₄ , CuCl ₂ , ZnCl ₂ , CoCl ₂ , NiCl ₂ , Na ₂ MoO ₄ , Na ₂ Se ₄

Fuente: Durango, 2007, p.41

Realizado por: Mario Franco, 2019

1.3.2.5. Sustratos utilizados para la producción de levadura.

Las materias primas utilizadas como sustratos para la producción de biomasa de levadura industrial son generalmente agrícolas, residuos forestales y subproductos alimentarios. En la actualidad los más utilizados son 4 tipos de materias primas que aplica las industrias biotecnológicas, esta materia prima es: melaza, almidón, suero de leche o residuos de la silvicultura y la agricultura (Wagne et al., 2010: p.41; Gilces et al., 2006: pp.28-30)

a. Melaza.

El uso de la melaza para la reproducción de levadura de grado alimenticio se determina por su disponibilidad y bajo costo, su composición, ausencia de sustancias tóxicas e inhibidores de la fermentación. La mezcla de fermentación para la producción óptima de biomasa de levadura se fija normalmente a pH=4,5-5,0 y enriquecida por la adición de nutrientes adicionales como: Nitrógeno, Fósforo, Magnesio, Calcio, Hierro, Zinc, Cobre, Manganeseo y Vitaminas, el cual va a depender de la composición inicial de melaza. La melaza contiene aproximadamente 40% (masa seca) de sustancias no fermentables que eventualmente son rechazados y constituyen una causa importante de contaminación y aumento de los costos de producción debido a las operaciones de tratamiento de residuos exigidos. Las sustancias no fermentables son generalmente recogidos y utilizados como alimento para animales o como fertilizantes (Banat et al., 2003: pp.1479-1480).

b. Suero.

El suero es el principal desecho de la industria láctea. Se produce en todo el mundo en grandes cantidades y su disposición provoca graves problemas medioambientales debido a su alta carga orgánica (COD 35 000-68 000), que hace que su tratamiento completo sea imposible. Por otra parte, el suero de leche tiene un alto valor nutricional ya que contiene proteínas, lactosa, ácidos orgánicos, grasas, vitaminas y minerales. Por otro lado, la creación de productos con valor agregado es una preocupación importante para la ciencia y la industria. La composición (altas concentraciones de sal) y la temperatura del suero de leche en el momento de su producción en la fábrica no permiten la utilización microbiana fácil. La lactosa, el principal constituyente de azúcar en el suero, puede ser metabolizado solamente por unas pocas especies de la *Kluyveromyces* y *Candida*. La levadura *S. cerevisiae* no puede utilizar la lactosa, porque carece de la enzima beta-galactosidasa y lactosa permeasa. *K. marxianus* es la única cepa utilizada para la producción de biomasa a partir de suero de leche a escala comercial (Bekatorou et al., 2006: pp.407-408).

c. Almidón.

La levadura *S. cerevisiae* puede utilizar almidón como sustrato, solo después de haber sido convertida en azúcares fermentables (glucosa y maltosa). El proceso de hidrólisis del almidón a glucosa se puede hacer por tratamiento con enzimas ácidas. El tratamiento enzimático incluye tres procesos diferentes: gelatinización por calentamiento, licuefacción por α -amilasas termoestables y sacarificación por actividades enzimáticas mixtas. Sin embargo, procesos como éstos implican costos considerables, lo cual es el principal factor limitante en la utilización industrial del almidón para la producción de biomasa de levadura. El almidón puede ser utilizado

por cultivos mixtos de levaduras y hongos amilolíticos como *Aspergillus*, especies para producción de SCP o etanol (Nigam & Singh, 1995: pp.771-772).

d. Residuos de la silvicultura y la agricultura.

Los residuos de la agricultura y la silvicultura son ricos en celulosa, hemicelulosa y lignina. Su conversión enzimática para obtener azúcares fermentables requiere tratamiento previo usualmente es de tipo químico, que conduce a varios fragmentos de polímero. La levadura *S. cerevisiae* no posee la variedad de enzimas requeridas para hidrolizar estos polímeros, como resultado la producción de biomasa de levadura sobre los residuos lignocelulósicos implica un alto costo económico. Una solución para este problema es el uso de sistemas mixtos, este proceso se aplica hoy para la producción de etanol en plantas piloto (Cuzens & Miller, 2002: pp.286-287).

1.3.2.6. Melaza.

El sustrato más ampliamente utilizado para la producción de levadura de panadería es la melaza esta puede ser de caña o de remolacha, siendo la melaza el principal subproducto de la industria azucarera, contiene 45-55% de azúcares fermentables, incluyendo sacarosa, glucosa, fructosa, rafinosa, melibiosa y galactosa (Peña & Arango, 2009: pp.155-156).

Para Montoya & Medranda (2016: pp.29-30), la melaza también se le conoce como miel final y es el principal subproducto que se genera en la industria azucarera, la misma que llevándola a un proceso de fermentación utilizando un microorganismo llamado levaduras del tipo *S. cerevisiae* se llega a conseguir alcohol etílico (Aguilar et al., 2015: pp.38-39).

a. Propiedades de la melaza.

Para Peña & Arango (2009: p.154), la melaza es un líquido muy denso y viscoso de un color oscuro, olor agradable y dulce, obtenido de la refinación de la sacarosa a partir de la caña de azúcar, como se ilustra en la figura 4-1. La importancia que tiene la melaza en los procesos biotecnológicos es exclusivamente por sus carbohidratos asimilables (también cuenta con otros componentes detallados en la tabla 2-1) para diferentes microorganismos ya que carece de grasa y celulosa. Tiene un pH que oscila entre 4,0-4,5 y entre 60-60 °Brix (Fajardo & Sarmiento, 2007: pp.22-23).

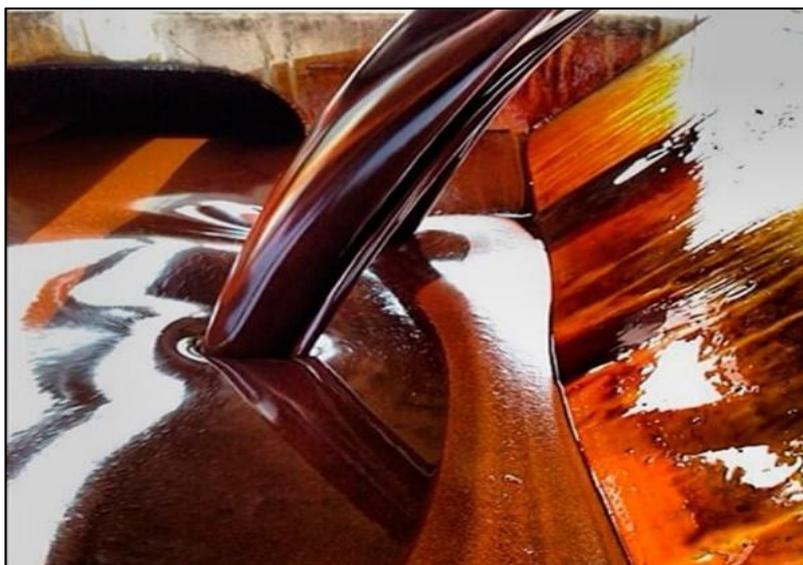


Figura 4-1 Se ilustra la forma que tiene la melaza al ser extraída en el proceso de refinación de la sacarosa.

Fuente: Moncayo & Galindo, 2016: p.1

Tabla 2-1 Composición bromatológica de la melaza de caña de azúcar.

<i>Componentes</i>	<i>Constituyentes</i>	<i>Contenido (p/p)</i>
Componentes mayores	Materia seca	78 %
	Proteína	3 %
	Sacarosa	60-63 % p/p
	Azúcares reductores	3-5 % p/p
	Sustancias disueltas (diferentes azúcares)	4-8 % p/p
	Agua	16 %
	Grasas	0,40 %
	Ceniza	9 %
Contenido de minerales	Calcio	0,74 %
	Potasio	3,67 %
	Magnesio	0,35 %
	Fósforo	0,08 %
Contenido de aminoácidos	Glicina	0,1 %
	Leucina	0,01 %
	Lisina	0,01 %
	Treonina	0,06 %
	Valina	0,02 %
Contenido Vitamínico	Colina	600 ppm
	Niacina	44 ppm
	Ácidos Pantoténicos	42,90 ppm
	Piridoxina	44 ppm

	Riboflavina	4,40 ppm
	Tiamina	0,88 ppm

Fuente: Fajardo & Sarmiento, 2017: pp.24-25

Realizado por: Mario Franco, 2019.

1.3.2.7. Condiciones tomadas en cuenta para la producción de levadura.

Según Martínez et al. (2013: pp.2-4), cuando en un proceso biotecnológico se tiene seleccionado el microorganismo a utilizar, en este caso la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y el sustrato, para obtener levadura fresca se debe conocer las condiciones de operación adecuada para así poder controlar el proceso, las variables más comunes en este proceso son: pH, temperatura, aireación, productividad de biomasa, agitación, volumen de inóculo, composición del medio, tiempo de fermentación, velocidad de crecimiento, entre otras (Pérez et al., 2001: p.4).

a. pH.

El pH es la medida que permite saber la concentración de iones hidrógeno y tiene un papel importante en la velocidad de crecimiento y el rendimiento. (Mouso et al., 2003: p.177)

El pH óptimo para algunas especies como las levaduras comprende un rango de 4.0 a 4,5. Un cambio en el valor de esta variable puede afectar la composición y la naturaleza del medio, por ende, al microorganismo. (Held, 2010, p.4)

b. Temperatura.

Para el proceso de obtención de *Saccharomyces cerevisiae* éste debe encontrarse en una temperatura que oscile entre 30 a 35°C. (Duarte, 1995, pp.36-37)

Esta variable física afecta significativamente el crecimiento, ya que los microorganismos de una especie determinada sólo pueden crecer en un rango de temperaturas. (Fajardo & Sarmiento, 2007: p.16)

c. Composición del medio.

Según Colin & Bjørn (2006: p.172), un medio de cultivo deber tener todos los elementos necesarios para que se pueda dar el crecimiento microbiano, pero lo más importante es la cantidad y relación de cada elemento. En la investigación realizada por (Mouso et al., 2003: p.176), muestra que en un cultivo de melaza para la obtención de levaduras debe haber una relación

Carbono-Nitrógeno 1:1, de igual forma una relación entre Fósforo-Oxígeno, aunque está es relevante.

d. Aireación.

La aireación juega un papel muy importante en el proceso de reproducción de un microorganismo ya que la abundancia o ausencia de oxígeno permite una selección tanto de microorganismos como de productos del metabolismo. (Soler & Buitrago, 2010: pp.125-127)

Cuando el cultivo se produce en ausencia de oxígeno se conoce como anaeróbica, la mayor parte del carbono se emplea como energía y sólo el 2% es asimila como material celular. Mientras que las que se dan en presencia de oxígeno se denomina aerobia y se caracteriza por la producción de biomasa como es el caso de la *S. cerevisiae* que es una levadura la cual cuenta con alta actividad metabólica. (Arevalo, 1998, pp.32-33)

Sin embargo, los patrones de flujo de oxígeno van a depender de la velocidad de agitación, el mismo que es responsable de la dispersión de las burbujas. En la Figura 5-1 se muestra diferentes tipos de dispersión de aire que se pueden dar dentro del equipo de fermentación. (Páez & Guerra, 2011: p.42)

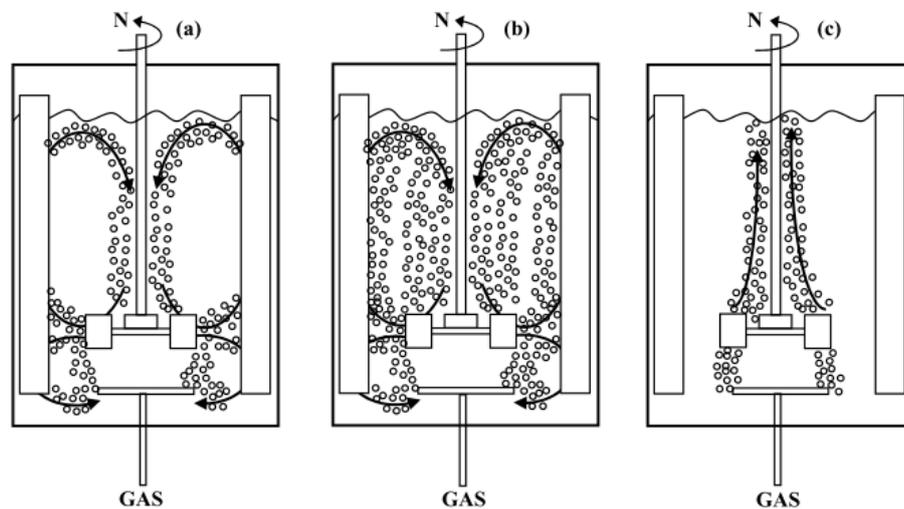


Figura 5-1 Efecto del flujo de aire dentro de un fermentador.

Fuente: Páez & Guerra, 2011: p.42

e. Agitación del medio de cultivo.

Muñoz & Catrilaf (2013: p.4), indica que, en los procesos biotecnológicos, el sistema de agitación es una de las operaciones más importante ya que garantiza que el microorganismo pueda acceder

a los nutrientes que están presentes en el sustrato y también de la oxigenación (en el caso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*), creando así condiciones óptimas de fermentación, como señala la figura 6-1. Si hubiese un inadecuado método de agitación, aunque el medio sea rico en nutrientes se formarían zonas que tendrán carencias de elementos como, carbono, nitrógeno, iones metálicos o iones no metálicos, usualmente se aplican dos tipos de agitaciones las mismas que generan un flujo de tipo radial o axial y depende del tipo de aspas utilizadas (Páez & Guerra, 2011: p.43).

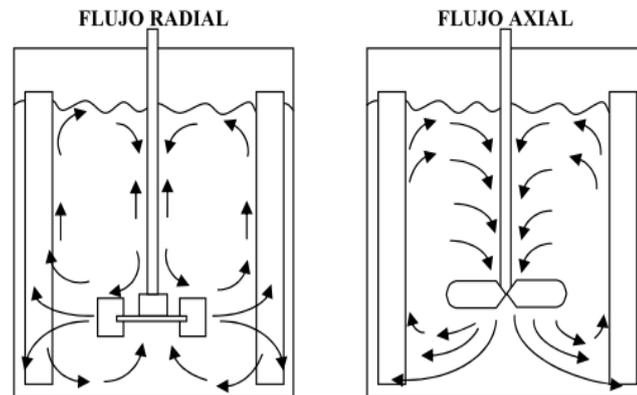


Figura 6-1 Patrón de flujo radial y axial generado en un sistema de agitación.

Fuente: (Páez & Guerra, 2011: p.44).

f. Productividad de biomasa.

La productividad de biomasa va a depender del diseño del fermentador, debido a que afecta a la transferencia de oxígeno y esto se refleja en el rendimiento obtenido al final de la fermentación. Fernández et al. (2003: pp.3-5), menciona que, el microorganismo que se va a reproducir en una escala industrial debe estar puro, estable y debe crecer en un medio de cultivo rentable para la industria.

g. Tamaño del inóculo.

Para Manovacía et al. (2007: p.4544), el tamaño del inóculo tiene un papel importante ya que va a permitir tener al microorganismo activado en una pequeña alícuota del medio a utilizar en el proceso de fermentación. Según Armas (2006, p.100), para poder preparar el inóculo en el mejor de los casos se debe conocer la densidad celular para así poder establecer las características de crecimiento del microorganismo, mientras que el tamaño depende del medio de cultivo y del tiempo de fermentación, cuando se utiliza melaza se recomienda utilizar un 5 % (V/V) en relación

al volumen de trabajo como tamaño de inóculo, el cual debe tener una concentración de 2,5% de levadura (Páez & Guerra, 2011: p.92).

h. Tiempo de fermentación.

Para González et al. (2016: pp.5-6), el tiempo de fermentación va a depender de la velocidad de crecimiento, para ello se debe conocer los tiempos de cada fase que se generan, las mismas que son: fase de latencia, fase de logarítmica, fase de desaceleración y fase estacionaria, y van ordenadas como se ilustra en la figura 7-1.

- **Fase de latencia:** Es el tiempo que se transcurre para que el microorganismo que se encuentra en el medio, empiece a relacionar y comience a consumir los nutrientes de este.
- **Fase logarítmica:** Es el tiempo que pasa cuando el microorganismo se comienza a reproducir, esta fase toma una forma de función logarítmica.
- **Fase de desaceleración:** Esta fase se da en el momento que las condiciones del medio comienzan a variar por motivo de limitación de algún elemento o por el pH.
- **Fase estacionaria:** En esta fase no se presencia el incremento del microorganismo.

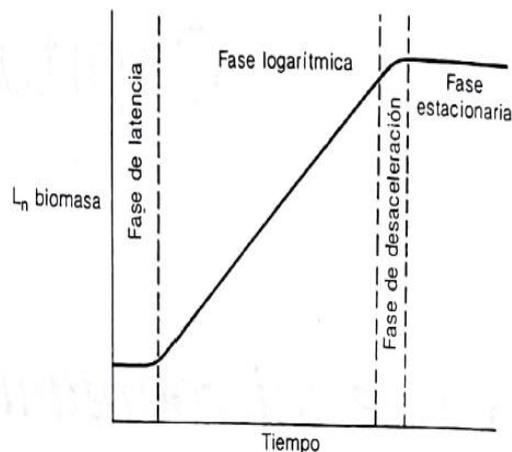


Figura 7-1 Representación del crecimiento microbiano.

Fuente: Colin & Bjørn, 2006: p.132

1.3.2.8. BIOREACTORES.

Es un equipo usado para trabajar con enzimas o microorganismos, donde se coloca un medio de cultivo el cual es esterilizado y se coloca la enzima o microorganismo, tiene la capacidad de simular las condiciones óptimas en lo referido a propiedades fisicoquímicas y homogeneizar la

concentración de nutrientes en todo el equipo para que el mismo realice su trabajo que puede ser desde la transformación de materia hasta la reproducción del microorganismo. Este equipo también llamado quimiostato, tiene un tomador de muestra el cual permite obtener alícuotas del medio y para así poder saber el comportamiento de medio en cada momento (Duarte, 1995, p.62).

a. Características que se consideran en el diseño de los birreactores.

La tecnología de los procesos fermentativos es una amalgama de técnicas biológicas e ingeniería química, por ello, se van a detallar en 13 puntos los criterios que se deben considerar para el diseño de un BIOREACTOR (Colin & Bjørn, 2006: p.142).

- El tanque debe diseñarse para que funcione asépticamente durante numerosos días, así como para las operaciones de más larga duración.
- Se debe proporcionar un sistema adecuado de aireación y agitación para cubrir las necesidades metabólicas de los microorganismos.
- El consumo de energía debe ser tan bajo como sea posible.
- Debe tener un sistema para el control de la agitación y aireación.
- El BIOREACTOR debe tener un sistema para la toma de muestra.
- Debe existir un sistema para el control de la temperatura.
- Las pérdidas por evaporación no deben ser excesivas.
- El diseño del tanque debe ser tal que las operaciones laborales durante el funcionamiento, recolección, limpieza y mantenimiento sea mínimo.
- El tanque debe ser versátil, para la aplicación de diversas modalidades de proceso.
- La superficie interna del tanque debe ser lisa, se utilizará donde sea posible soldaduras en vez de juntas de pestaña.
- La geometría del BIOREACTOR debe ser similar a otros tanques más pequeños o mayores para poder reproducir el proceso a diferentes escalas.
- Debe emplearse los materiales más baratos que proporcionen resultados satisfactorios.
- Debe existir un servicio adecuado de repuestos para el fermentador.

b. Tipo de birreactores.

A continuación, se clasificaron los tipos de birreactores.

- BIOREACTOR por Lote (Batch).
- BIOREACTOR discontinuo (Feed-Bach).

- BIOREACTOR continuo (quimiostato).

BIOREACTOR por lote (Batch).

Según Armas (2006, p.49), los BIOREACTORES por lotes o también conocido como Batch, no tiene una alimentación después que este se cierra, funciona en 3 etapas: Se carga con el medio de cultivo, reacciona y se descarga, mientras que Páez & Guerra (2011: p.49), indica que, en el BIOREACTOR se coloca toda la carga puede ser.

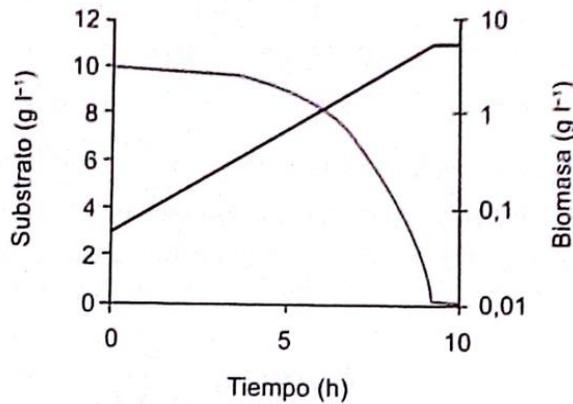


Figura 8-1 Concentración de la biomasa (derecha) y la concentración de glucosa (izquierda), en un BIOREACTOR Batch.

Fuente: Duarte, 1995, p.72

El cultivo o fermentación, después de agregar el inóculo se deja que la reacción ocurra, el tiempo que transcurre en esta etapa se denomina tiempo de retención, cuando transcurre el tiempo determinado este se descarga. Según Arteaga & Ramos (2015: p.39), este tipo de BIOREACTORES se lo carga una vez y puede funcionar durante varios días, figura 8-1.

BIOREACTOR discontinuo (Feed-Bach).

Esta operación es probablemente la más común en los procesos industriales ya que permite el control de las condiciones medioambientales, por ejemplo, el mantenimiento de la concentración de glucosa a cierto nivel, lo cual es importante para el subsecuente procesamiento (Páez & Guerra, 2011: p.11)

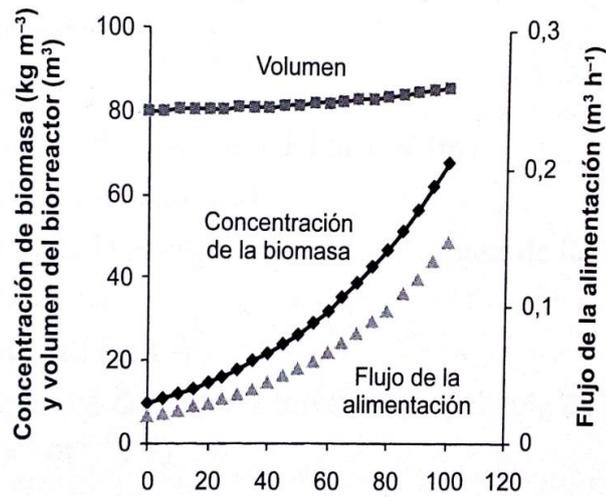


Figura 9-1 Concentración de la biomasa y el volumen del BIOREACTOR (izquierda), mientras que en el otro extremo el flujo de la alimentación (izquierda), en un BIOREACTOR discontinuo.

Fuente: Colin & Bjørn, 2006: p.141

Normalmente la concentración en el fluido que entra es muy alta, mientras que el fluido que se encuentra dentro del tanque es muy bajo dando así una concentración de dilución muy baja, la figura 9-1, en la que se rige (Colin & Bjørn, 2006: p.141).

BIOREACTOR continuo (quimiostato).

Este equipo está diseñado para que un único sustrato sea limitante. Esto permite que la variación controlada de la velocidad específica de crecimiento de biomasa, en la figura 10-1.

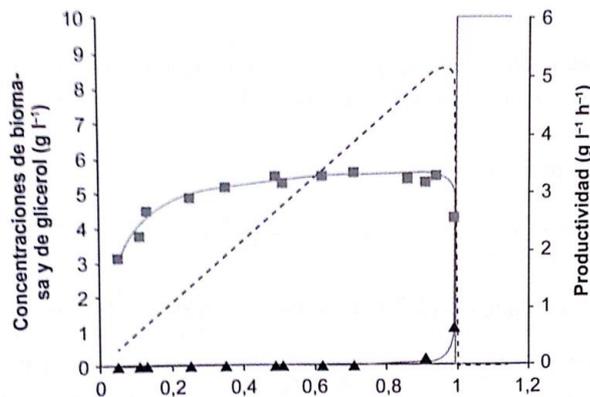


Figura 10-1 Concentración de la biomasa y glicina (izquierda), mientras que en el otro extremo la productividad (izquierda), en un BIOREACTOR continuo en la obtención de *Aerobacter aerogenes*.

Fuente: Colin & Bjørn, 2006: p.142

Variando la velocidad del flujo de alimentación en el BIOREACTOR puede variarse las condiciones ambientales en la fisiología celular, también se puede ajustar el pH de tal forma que en el tanque se mantenga constante (Colin & Bjørn, 2006: p.142).

c. Factores considerados para el diseño del BIOREACTOR discontinuo (Batch).

Variables de la biomasa.

- *Velocidad cinética de crecimiento.*

Para conocer la velocidad de crecimiento en un reactor Batch, es la fase logarítmica, se utiliza la siguiente ecuación diferencial. Ecuación 1-1. (Colin & Bjørn, 2006: pp.153-158).

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \quad \text{Ecuación 1-1}$$

Donde:

x = Concentración de células (mg/mL).

dt = Tiempo de incubación (h).

μ = Velocidad específica de crecimiento (h^{-1}).

Al resolver la ecuación diferencial se obtiene:

$$x_t = x_0 e^{\mu t} \quad \text{Ecuación 2-1}$$

Donde:

x_t = Concentración de células en tiempo cero (mg/mL).

x_0 = Concentración de células después de un tiempo (mg/mL).

- *Tiempo de duplicación*

Para calcular el tiempo de duplicación a la ecuación anterior se le aplica logaritmo natural y se tiene:

$$\ln x_t = \ln x_0 + \mu t \quad \text{Ecuación 3-1}$$

Aplicando métodos matemáticos al principio de reproducción microbiana se determina que $x_t = 2x_0$, por lo tanto:

$$\ln 2x_0 = \ln x_0 + \mu t$$

Despejando el tiempo de duplicación t queda:

$$t = \frac{\ln 2}{\mu} \quad \text{Ecuación 4-1}$$

- *Velocidad máxima.*

Para calcular la velocidad máxima, se aplica la siguiente ecuación:

$$\mu = \frac{\mu_{max} * s}{K_s + s}$$

$$\mu_{max} = \frac{\mu(K_s + s)}{s} \quad \text{Ecuación 5-1}$$

Donde:

μ_{max} =Velocidad máxima (h^{-1}).

s =Concentración de sustrato residual (g/mL).

K_s =Constante de utilización (g/mL).

A continuación, en la tabla 3-1. Se indican el valor de K_s de algunas especies de microorganismos.

Tabla 3-1 Valores representativos del K_s para diversos microorganismos y sustrato.

Microorganismo	Sustrato	K_s (g/mL)
<i>Escherichia coli</i>	Glucosa	4
<i>Aspergillus oryzae</i>	Glucosa	5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Glucosa	9
<i>Aspergillus niger</i>	Glucosa	4
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Glucosa	180

Fuente: Colin & Bjørn, 2006: p.155

Realizado por: Mario Franco, 2019.

- *Concentración de Biomasa.*

Mientras que la concentración en la fase estacionaria viene dada por la ecuación:

$$x = YS_R \quad \text{Ecuación 6-1}$$

Donde:

x =Concentración de células (g).

Y =Factor de rendimiento para el sustrato limitante (g de biomasa/g de sustrato consumido).

S_R = Concentración original del sustrato (g).

El término Y constituye una medida de la eficacia de las células para convertir el sustrato en biomasa. La biomasa en cualquier momento del cultivo discontinuo viene dada por la ecuación:

$$x = Y(S_R - s)$$

Despejando el rendimiento:

$$Y = \frac{x}{(S_R - s)} \quad \text{Ecuación 7-1}$$

- *Productividad.*

La productividad de un cultivo, en término de células formadas puede describirse como la cantidad de biomasa obtenida por unidad de tiempo.

Para un sistema discontinuo la productividad se define con la siguiente ecuación:

$$R_{batch} = \frac{x_{max} - xb}{t_i + t_{ii}} \quad \text{Ecuación 8-1}$$

Donde:

R_{batch} = Cantidad de biomasa producida en un cultivo discontinuo (g /mL h).

x_{max} =Concentración de biomasa en la fase estacionaria (g/mL).

xb =Concentración de biomasa del inóculo (g /mL).

t_i =Tiempo transcurrido mientras el microorganismo crece a la velocidad máxima (h).

t_{ii} = Tiempo transcurrido mientras el microorganismo no crece a la velocidad máxima incluye fase latente, de desaceleración, esterilización y recolección (h).

Propiedades físicas del medio.

- *Densidad.*

Para calcular la densidad del medio de cultivo se realiza una diferencia entre el peso del medio y el volumen que ocupa, la cual se calculará con ayuda de un picnómetro, la expresión matemática que define este fenómeno es la siguiente.

$$\rho = \frac{m}{V} \qquad \text{Ecuación 9-1}$$

Donde:

ρ : Densidad del medio (g/mL).

m : Peso del medio (g).

V_l : Volumen del medio (mL).

- *Viscosidad.*

La viscosidad es la resistencia que presentan los fluidos al fluir por una superficie, el mismo que será calculado en un viscosímetro de Brookfield.

Donde:

μ_L = Viscosidad del medio (Pa*s).

Transferencia de calor

- *Capacidad calorífica.*

Para el cálculo del C_p (capacidad calorífica), se obtendrá a través del valor promedio de la composición del medio, donde se tomará en cuenta el C_p de agua, melaza, nitrógeno orgánico, nitrógeno inorgánico y fósforo ya que constituyen más del 98% del medio (Holman, 1999, pp.483-494).

$$cp_p = \sum_{i=0}^n \%_i cp_i$$

Ecuación 10-1

$$cp_p = \%_{H_2O} cp_{H_2O} + \%_m cp_m + \%_{no} cp_{no} + \%_{ni} cp_{ni} + \%_F cp_F$$

Ecuación 11-1

Donde:

cp_p = Capacidad calorífica promedio del medio (KJ/Kg°C).

$\%_{H_2O}$ = Fracción en peso del agua en el medio.

cp_{H_2O} = Capacidad calorífica del agua (KJ/Kg °C).

$\%_m$ = Fracción en peso de la melaza en el medio.

cp_m = Capacidad calorífica de la melaza (KJ/Kg°C).

$\%_{no}$ = Fracción en peso del nitrógeno orgánico en el medio.

cp_{no} = Capacidad calorífica del nitrógeno orgánico (KJ/Kg °C).

$\%_{ni}$ = Fracción en peso del nitrógeno inorgánico en el medio.

cp_{ni} = Capacidad calorífica del nitrógeno inorgánico (KJ/Kg°C).

$\%_F$ = Fracción en peso del Fósforo en el medio.

cp_F = Capacidad calorífica del Fósforo (KJ/Kg°C).

- *Diferencia de temperatura media logarítmica (LMTD).*

$$LMTD = \frac{(T_{vapor-entrada} - t_{agua\ r.-salida}) - (T_{vapor-salida} - t_{agua\ r.-entrada})}{\ln\left(\frac{T_{vapor-entrada} - t_{agua\ r.-salida}}{T_{vapor-salida} - t_{agua\ r.-entrada}}\right)}$$

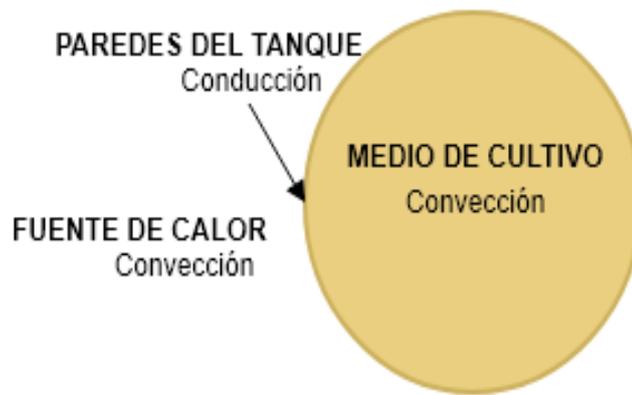
Ecuación 12-1

Donde:

$LMTD$ = Temperatura media logarítmica (adimensional).

- *Coficiente global de transferencia de calor.*

Para el cálculo del coeficiente global de transferencia de calor (U), se debe conocer el fenómeno transferencia de calor que el sistema tiene, para el BIOREACTOR el sistema de transferencia se identificó como se indica en la gráfica 1-1.



Gráfica 1-1 Representación de la transferencia de calor en el BIOREACTOR.

Realizado por: Mario Franco, 2019.

Coefficiente global de transferencia = Convección + Conducción + Convección

Expresando este fenómeno físico en una ecuación, queda de la siguiente manera:

$$\frac{1}{U} = \frac{1}{h_o} + \frac{e}{k} + \frac{1}{h_i} \quad \text{Ecuación 13-1}$$

Donde:

U = Coeficiente global de transferencia de calor ($\text{m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}/\text{W}$).

h_o = Coeficiente convectivo de transferencia de calor del medio de cultivo ($\text{W}/\text{m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$).

h_i = Coeficiente convectivo de transferencia de calor del vapor ($\text{W}/\text{m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$).

e = Espesor del material de la chaqueta (m).

k = Coeficiente conductivo de transferencia de calor de la chaqueta ($\text{W}/\text{m } ^\circ\text{C}$).

- Resistencia a la transferencia de calor en el medio ($\frac{1}{h_o}$).

Para poder calcular la resistencia a la transferencia de calor en el medio se debe calcular el número de Prandtl, Reynolds y Nusselt, las mismas que se calculan de la siguiente manera.

- Número de Prandtl.

$$Pr = \frac{Cp_p * \mu_L}{k_m} \quad \text{Ecuación 14-1}$$

Donde:

Pr = Número de Prandtl (adimensional).

C_{p_p} = Calor específico promedio del medio (J/Kg°C).

k_m = Conductividad térmica del medio (W/m°C).

μ_L = Viscosidad del medio (Pa*s).

- *Número de Reynolds.*

$$R_e = \frac{N(D_{imp})^2 \rho}{\mu_L} \quad \text{Ecuación 15-1}$$

Donde:

R_e = Número de Reynolds (adimensional).

ρ = Densidad del medio (Kg/m³).

N = Número de revoluciones por segundo (rps).

- *Número de Nusselt.*

$$Nu = 0.36 * R_e^{0.67} * Pr^{1/3} \quad \text{Ecuación 16-1}$$

Donde:

Nu : Número de Nusselt (adimensional)

Con los valores de las tres variables ya conocidas se aplica la ecuación para calcular $\frac{1}{h_o}$.

$$\frac{1}{h_o} = \frac{D_t}{Nu * k} \quad \text{Ecuación 17-1}$$

Donde:

D_t = Diámetro del tanque (m).

- *Resistencia a la transferencia de calor en la chaqueta ($\frac{e}{k}$).*

Esta relación se la puede calcular directamente, ya que se cuenta con los datos necesarios, como va a trabajar con acero inoxidable para el diseño de la chaqueta, el espesor a utilizar es de 2 milímetros, el coeficiente conductivo de transferencia de calor es 16 W/m°C.

- Resistencia a la transferencia de calor del vapor ($\frac{1}{h_i}$).

$$\frac{1}{h_i} = \frac{1}{0,15 * k_v * Pr^{\frac{1}{3}} * \left(\frac{H^3 * g * \rho_v^2 * \beta * (T_2 - T_1)}{\mu_v^2} \right)^{1/3}} \quad \text{Ecuación 18-1}$$

Donde:

k_v = Conductividad térmica del agua (W/m°C).

H =Altura de líquido en la chaqueta (m).

g = Gravedad (m/s²).

ρ_v =Densidad del agua (Kg/m³).

β =Coeficiente de expansión térmica del agua (°C⁻¹).

T_2 =Temperatura de entrada del agua (°C).

T_1 = Temperatura de salida del agua (°C).

μ_v = Viscosidad del agua (Kg/ms).

A continuación, se indica una tabla 4-1, con el valor de las constantes para un proceso 130 °C que es la temperatura del vapor que ingresa al BIOREACTOR.

Tabla 4-1 Constantes físicas a 130 °C.

<i>Variable</i>	<i>Valor</i>	<i>Unidades</i>
Viscosidad del agua	1*10 ⁻³	Kg/ms
Coeficiente de expansión térmica del agua	2,07·10 ⁻⁴	°C ⁻¹
Densidad del agua	988	Kg/m ³
Gravedad	9,8	m/s ²
Conductividad térmica del agua	0,6	W/m°C

Fuente: Holman, 1999, pp.588-603

Realizado por: Mario Franco, 2019.

- Calor requerido en la chaqueta.

$$Q_{\text{gana la chaqueta}} = Q_{\text{pierde el medio de cultivo}} \quad \text{Ecuación 19-1}$$

$$Q_{ch} = m_m c p_p (t_f - t_o) \quad \text{Ecuación 20-1}$$

Donde:

Q_{ch} =Calor que gana la chaqueta el medio de cultivo (KJ).

m_m =Masa del medio de cultivo (Kg).

t_f =Temperatura final del medio en la pasteurización (°C).

t_o =Temperatura inicial del medio en la pasteurización (°C).

- *Área de transferencia de calor.*

$$A_{tc} = \frac{Q_{ch}}{U * LMTD} \quad \text{Ecuación 21-1}$$

Donde:

A_{tc} = Área de transferencia de calor (m²).

- *Flujo másico de agua en la chaqueta.*

$$m_{ch} = \frac{Q_{ch}}{Cp\Delta T_{ch}} \quad \text{Ecuación 22-1}$$

Donde:

m_{ch} =Masa del agua en la chaqueta para enfriar (Kg).

ΔT_{Ch} =Variación de temperatura deseada en la chaqueta (°C).

- *Volumen y área de la chaqueta.*

$$V_{ch} = \frac{m_{ch}}{\rho_v} \quad \text{Ecuación 23-1}$$

Donde:

V_{ch} = Volumen de la chaqueta (L).

Con este valor se aplica la siguiente ecuación para calcular el área de la chaqueta.

$$A_{ch} = \frac{V_{ch}}{H_t} \quad \text{Ecuación 24-1}$$

Donde:

A_{ch} =Área de la chaqueta (m²).

- *Radio del tanque con chaqueta.*

Para el cálculo del radio se aplica la siguiente ecuación.

$$r_{ch} = \sqrt{\frac{A_{ch}}{\pi}} \quad \text{Ecuación 25-1}$$

Donde:

r_{ch} =Radio de la chaqueta (cm).

Transferencia de masa

- *Coefficiente de transferencia de masa.*

La transferencia de masa líquido-sólido que se da, es por el oxígeno que es disuelto y consumido por el microorganismo para metabolizar la siguiente ecuación diferencial que rige este fenómeno es:

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a * (C^* - C_L) \quad \text{Ecuación 26-1}$$

Donde:

$\frac{dC_L}{dt}$ =Tasa de transferencia de oxígeno (mol O₂ / L s).

$k_L a$ =Coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (s⁻¹).

C^* =Concentración de oxígeno en equilibrio (mol O₂ / L).

C_L =Concentración de oxígeno disuelto a un tiempo definido (mol O₂ / L).

Integrando y despejando $k_L a$, se obtiene:

$$k_L a = \frac{\ln\left(\frac{C - C_{L0}}{C - C_L}\right)}{(t_2 - t_1)} \quad \text{Ecuación 27-1}$$

Donde:

C_{L0} =Concentración de oxígeno disuelto con la que se inicia la segunda etapa del método (mol O₂ / L).

C =Concentración de oxígeno disuelto que se alcanza en estado estacionario al finalizar la segunda etapa del método (mol O₂ / L).

t_2 = Tiempo a una determinada concentración de oxígeno disuelto (h).

t_1 = Tiempo en el que inicia la segunda etapa del método (h).

Para la producción de levadura utilizando como sustrato melaza a una temperatura de 30 °C y un pH=4,5. El $k_L a = 0,06 \text{ s}^{-1}$ (Páez & Guerra, 2011: p.107).

- *Velocidad de Transferencia de oxígeno volumétrica.*

Cuando el control de la transferencia de O₂ se encuentra en el medio líquido que rodea a la burbuja o a los microorganismos, se supone que hay equilibrio entre el oxígeno del gas y el disuelto en el líquido. La velocidad de transferencia de oxígeno, N_A se puede expresar como:

$$N_a = k_L a * (C^* - C) \quad \text{Ecuación 28-1}$$

Donde:

N_a = Velocidad de Transferencia de oxígeno volumétrica (mol O₂ / L s).

Para determinar el C^* según (Armas, 2006, p.61), se aplica la siguiente ecuación.

$$\text{Log}_{10} \left(\frac{C_o^*}{C^*} \right) = 0,5 \sum_i^n H_i * Z_i^2 * C_{il} + \sum_j^n K_j * C_{jl} \quad \text{Ecuación 29-1}$$

Donde:

C_o^* =Solubilidad del oxígeno en el agua (mol O₂ / L).

H_i =Constante del componente iónico (m³/mol).

Z_i =Valencia del componente iónico (adimensional).

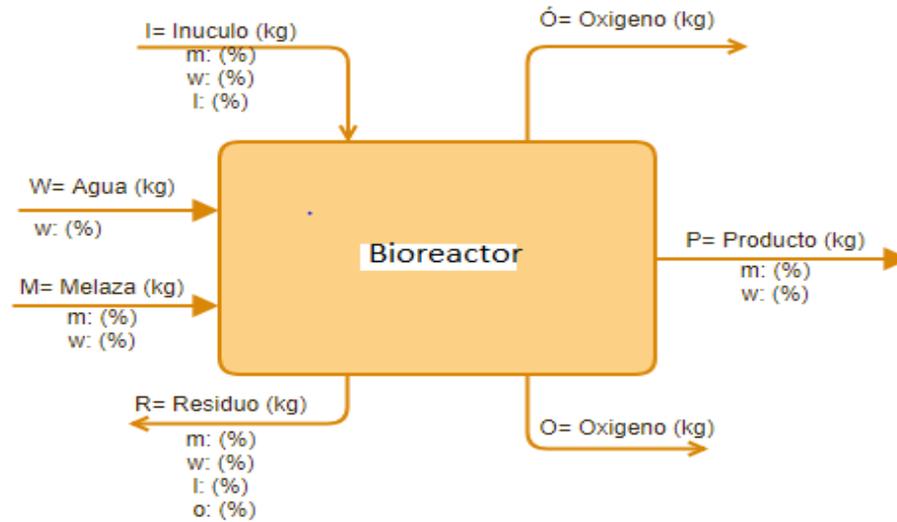
C_{il} = Concentración del componente iónico en el líquido (mol/m³).

K_j = Constante del componente no iónico (m³/mol).

C_{jl} = Concentración del componente iónico en el líquido (mol/m³).

- *Balance de masa.*

Para el balance de masa del BIOREACTOR se considerará todos los flujos que entra y sale del equipo, indicada en la gráfica 2-1. Tomando como base de cálculo las horas de trabajo (Holman, 1999: pp.533-563).



Gráfica 2-1 Flujo totales de entran y salen en el BIOREACTOR

Realizado por: Mario Franco, 2019.

Donde:

$\%m$ =Porcentaje de azúcares disuelto (%).

$\%w$ =Porcentaje de agua (%).

$\%o$ =Porcentaje de oxígeno (%).

W =Flujo de agua (Kg).

M =Flujo de melaza (Kg).

I =Flujo de inóculo (Kg).

R =Flujo de las aguas residuales (Kg).

O =Flujo de aire de entrada (Kg).

\acute{O} =Flujo de aire de salida (Kg).

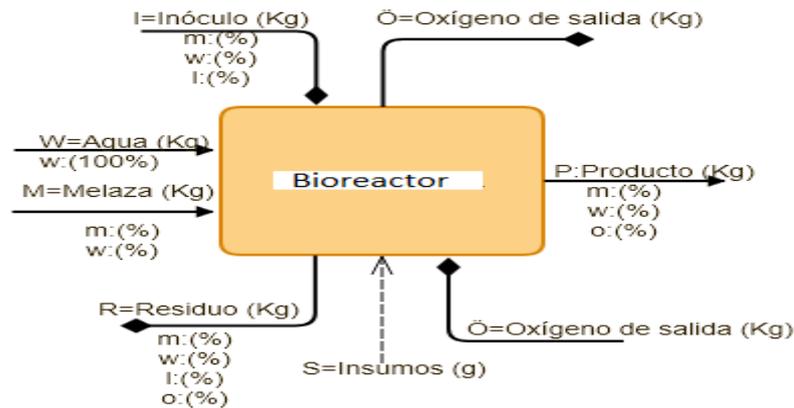
P =Flujo de Producto (Kg).

Cabe recalcar que en el BIOREACTOR se va a realizar un proceso de pasteurización para eliminar microorganismos que podrían estar presentes en las corrientes de entrada M y W , se perdería aproximadamente entre un 80-85% de oxígeno disuelto, por lo tanto, el porcentaje de oxígeno disuelto en la corriente va a hacer cero [$o:(mj\%) = 0$].

Mientras que el oxígeno disuelto en la corriente de entrada I , se asumirá que es cero ya que será consumido por la levadura presente en el medio.

Al ser la corriente de entrada S , de los insumos los mismos que al ser muy bajos (menores de 0,1 %) en relación con todas las corrientes que entran se asumirá que ($S = 0$).

Obteniendo así la siguiente gráfica 3-1.



Gráfica 3-1 Corrientes que entran y salen en el BIOREACTOR consideradas para el balance de masa.

Realizado por: Mario Franco 2019.

- *Balance de general de materia.*

$$I + W + M + O = R + P + \dot{O} \quad \text{Ecuación 30-1}$$

- *Balance por componente.*

Azúcares disueltos.

$$M * m_M + I * m_I = R * m_R + P * m_p \quad \text{Ecuación 31-1}$$

Agua.

$$M * w_m + W + I w_I = R * w_R + P * w_p \quad \text{Ecuación 32-1}$$

Oxígeno.

$$o_R = 1 - m_R - w_R - l_R \quad \text{Ecuación 33-1}$$

Geometría del BIOREACTOR.

- *Capacidad volumétrica de producción.*

Para el cálculo del volumen de BIOREACTOR, se procede a calcular el volumen de operación con la siguiente fórmula.

$$V_{op} = \frac{M_l}{\rho_p} \quad \text{Ecuación 34-1}$$

Donde:

V_{op} =Volumen de producción del BIOREACTOR (L).

M_l =Peso de levadura que se desea obtener (Kg).

ρ_p = Densidad de la levadura en el medio al final del proceso (Kg/L).

Donde ρ_p es obtenida por la absorbancia o con un picnómetro.

- *Factor de seguridad volumétrica.*

Este parámetro es muy importante porque el BIOREACTOR al generar espuma, esta puede elevarse y causar problemas, por eso, se tomará como rango de seguridad del 25 % del volumen de operación.

$$V_s = V_p * 0.25 \quad \text{Ecuación 35-1}$$

Donde:

V_s =Volumen de seguridad en el BIOREACTOR (L).

- *Volumen de operación.*

$$V_D = V_p + V_s \quad \text{Ecuación 36-1}$$

Donde:

V_D =Volumen de operación en el BIOREACTOR (L).

- *Diámetro del tanque.*

$$D_t = \frac{V_D}{H_t} \quad \text{Ecuación 37-1}$$

Donde

D_t = Diámetro del tanque (m).

H_t = Altura del tanque (m).

Según (Colin y Bjørn, 2006, p.176), el tanque del BIOREACTOR debe tener una relación $\frac{H_t}{D_t}$, el cual debe estar en un rango de (1,54-2). Por esto se va a tomar un rango medio que es de 1,75.

$$\frac{H_t}{D_t} = 1,75 \quad \text{Ecuación 38-1}$$

$$H_t = 1,75D_t$$

Uniendo las ecuaciones tenemos.

$$D_t = \sqrt[3]{\frac{V_D}{0,4375 \pi}} \quad \text{Ecuación 39-1}$$

- *Altura del tanque.*

Para la altura se tomará un rango de seguridad que es del 25%.

$$H_t = 1,75D_t \quad \text{Ecuación 40-1}$$

Donde

H_t = Altura del tanque (m).

- *Volumen del diseño.*

$$V_t = 0,25\pi D_t^2 H_t \quad \text{Ecuación 41-1}$$

Donde:

V_t = Volumen del tanque (m).

Donde $V_t \geq V_c$, para que el tanque pueda satisfacer el volumen requerido de carga.

Sistema de agitación.

- *Altura entre la paleta y el fondo.*

$$E = \frac{D_t}{2} * 0,66 \quad \text{Ecuación 42-1}$$

Donde:

E =Altura de la paleta (cm).

D_t =Diámetro del tanque (cm).

- *Diámetro del impulsor.*

$$D_{imp} = D_t * 0,33 \quad \text{Ecuación 43-1}$$

Donde:

D_{imp} =Diámetro del impulsor (cm).

- *Largo de la paleta*

$$H_{imp} = D_{imp} * 0,25 \quad \text{Ecuación 44-1}$$

Donde:

H_{imp} =Largo de la paleta (cm).

- *Alto de la paleta.*

$$L_{imp} = D_{imp} * 0,2 \quad \text{Ecuación 45-1}$$

Donde:

L_{imp} =Alto de la paleta (cm).

- *Dimensiones de la placa deflectoras (4 c/u).*

$$G = D_t * 0,1 \quad \text{Ecuación 46-1}$$

Donde:

G =Dimensión de la placa reflectora (cm).

- *Espacio entre el tanque y la placa.*

$$fo = D_t * 0,02$$

Ecuación 47-1

Donde:

fo =Espacio tanque-placa (cm).

- *Potencia del motor.*
- *Potencia del agitador.*

Se aplica la siguiente ecuación.

$$P = \frac{N_p N^3 D_{imp}^5 \rho_L}{g}$$

Ecuación 48-1

Donde:

P = Potencia del agitador (HP).

N_p = Número de placas del motor (adimensional).

N = Número de revoluciones por segundo (rps).

Donde el valor de N_p se calcula en el diagrama indicado en la figura 11-1.

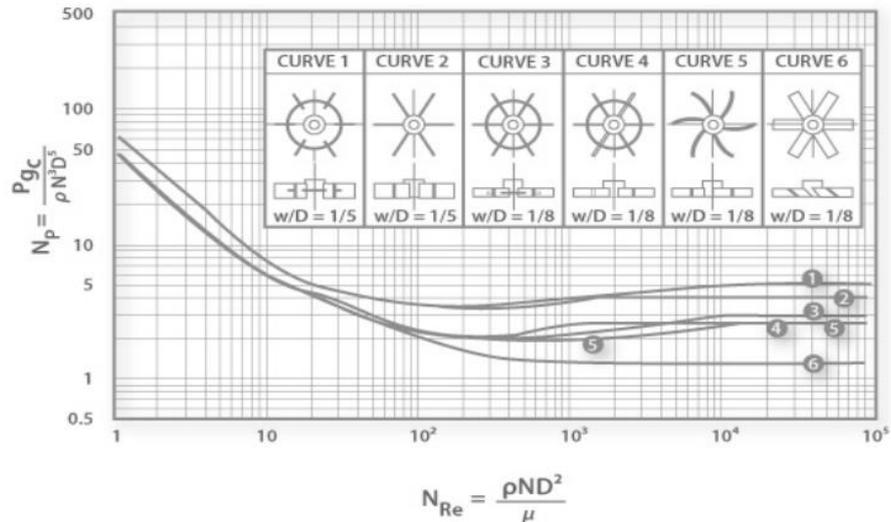


Figura 11-1 Diagrama de la relación del número de placas del mor (N_p) vs número de Reynolds (Re).

Fuente: Páez & Guerra, 2011: p.18

- Factor de configuración del fermentador.

El factor de configuración es para analizar si la geometría satisface la aplicada, se aplica la siguiente ecuación (Colin & Bjørn, 2006: pp.203-214).

$$F_c = \sqrt{\frac{\left(\frac{D_t}{D_i}\right)^* \left(\frac{H_l}{D_i}\right)^*}{\left(\frac{D_t}{D_i}\right) \left(\frac{H_l}{D_i}\right)}} \quad \text{Ecuación 49-1}$$

Donde:

F_c = Factor de configuración del fermentador.

$\left(\frac{D_t}{D_i}\right)^*$ = Relación "Fr" Diámetro del tanque / Diámetro del impulsor real.

$\left(\frac{H_l}{D_i}\right)^*$ = Relación "Fr" Altura del líquido en el tanque / Diámetro del impulsor real.

$\left(\frac{D_t}{D_i}\right)$ = Relación "Fi" Diámetro del tanque / Diámetro del impulsor ideal.

$\left(\frac{H_l}{D_i}\right)$ = Relación "Fi" Altura del líquido en el tanque / Diámetro del impulsor ideal.

El significado de "Fr" fermentador real y "Fi" fermentador ideal, para todos los casos el valor es adimensional.

Sabiendo que:

$$\left(\frac{D_t}{D_i}\right)=\left(\frac{H_t}{D_i}\right)= 3.00 \quad \text{Ecuación 50-1}$$

- *Potencia total del agitador.*

$$P_t = F_c * N_i * P \quad \text{Ecuación 51-1}$$

Donde:

P_t = Potencia total del agitador (HP).

N_i =Número de impeler (adimensional).

El número de impeler “ N_i ” es la cantidad de rodetes se va a utilizar en el prototipo, como los estudios se va a realizar en un equipo el cual tiene 1 rodete, por lo tanto, $N_i=1$.

Obteniendo.

$$P_t = F_c * P \quad \text{Ecuación 52-1}$$

- *Flujo de aireación.*

$$F_a = F_{aire} * \%O_2 \quad \text{Ecuación 53-1}$$

Donde

F_a = Flujo de aireación (m^3/s).

F_{aire} = Flujo de aire (m^3/s).

$\%O_2$ =Fracción porcentual de oxígeno en el aire.

Sabiendo que:

$$F_{aire} = V_l * vvm \quad \text{Ecuación 54-1}$$

Donde:

V_l =Volumen del medio (m^3).

vvm = Volumen de aire por volumen de líquido por minutos (m^3/ m^3s).

Se obtiene:

$$F_a = V_l * vvm * \%O_2 \quad \text{Ecuación 55-1}$$

Como se conoce el caudal de oxígeno se deduce.

$$F_a = \frac{0 * 100\%}{\%O_2} \quad \text{Ecuación 56-1}$$

• *Número de aireación.*

$$N_{ai} = \frac{F_a}{N * D_i^3} \quad \text{Ecuación 57-1}$$

Donde:

N_{ai} = Número de aireación.

• *Potencia del agitador con aireación.*

$$P_a = f * P_t \quad \text{Ecuación 58-1}$$

Donde:

P_a = Potencia del agitador con aireación (HP).

f = Factor requerido por el agitador (adimensional).

Donde f se calcula entre la relación de P_a/P vs N_a en la figura 12-1.

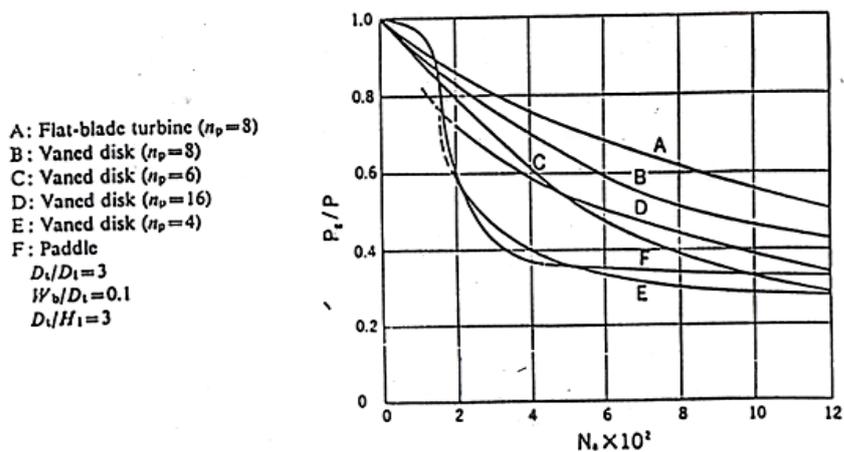


Figura 12-1 Requisitos de potencia para la agitación en un sistema gaseado. La ordenada y una abscisa son el grado de disminución de potencia P_a/P , y el número de aireación, N_a . Los parámetros son los tipos de espas, cuyas relaciones geométricas representativas.

Fuente: Duarte, 1995, p.214

Sistema de aireación.

- *Diámetro de equilibrio de la burbuja.*

$$db = 700 * \frac{\sigma^{0,6}}{\left(\frac{P_a}{V_l}\right)^{0,4} * \rho^{0,2}} * \left(\frac{\mu_l}{\mu_g}\right)^{0,1} \quad \text{Ecuación 59-1}$$

Donde:

db = Diámetro de equilibrio de la burbuja (m).

$\frac{P_a}{V_l}$ = Relación entre potencia de agitación con aireación por unidad de volumen (HP/m³).

σ = tensión superficial (N/m).

ρ = Densidad del líquido (Kg/m³).

μ_l = Viscosidad del medio (Kg/m s).

μ_g = Viscosidad del gas (Kg/m s).

Se va a considerar el σ del agua en contacto con aire que es igual a 0,06791 N/m (Pardá, 2007, p.14)

- *Área interfacial de transferencia.*

$$a = \frac{6 * \varphi}{db} \quad \text{Ecuación 60-1}$$

Donde:

a = área interfacial de transferencia.

φ = fracción de retención de gas en el reactor (adimensional).

1.4. Beneficiarios Directos e Indirectos.

1.4.1. Los beneficiarios Directos.

La empresa panificadora LEFSKI-PAN al contar con un estudio de la producción de levadura y necesitará del diseño de un BIOREACTOR, equipo que debe ser de fácil manejo tanto técnico como de mantenimiento, rendimiento considerable en la producción y una calidad de producto apta para el consumo.

1.4.2. Los beneficiarios Indirectos.

Los comerciantes y consumidores de los productos realizados por la empresa LEFSKI-PAN.

CAPÍTULO II

2. OBJETIVOS DEL PROYECTO.

2.1. Objetivo General.

- “Diseñar un BIOREACTOR para producción de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) para panificación, utilizando como sustrato melaza para la empresa panificadora LEFSKI-PAN”.

2.2. Objetivos Específicos.

- Caracterizar de forma macroscópica y microscópica el cultivo de levadura.
- Determinar las variables y parámetros del proceso para la obtención de levadura.
- Reconocer la concentración óptima de melaza de caña para la producción de levadura.
- Realizar los cálculos de ingeniería y el diseño para el BIOREACTOR.
- Validar mediante simulación en laboratorio las características fisicoquímicas y microbiológicas según la norma colombiana “LEVADURA PARA PANIFICACIÓN” (NTC-1807, 2004).

CAPÍTULO III

3. ESTUDIO TÉCNICO.

3.1. Localización del Proyecto.

El trabajo de investigación en el prototipo mecánico se realizó en la empresa LEFSKY-PAN de la ciudad de Riobamba provincia de Chimborazo-Ecuador, ubicada en las calles Barón de Carondelet y Pichincha esquina, con coordenadas S 1°40'3188" y O 78°39'21,012, la geo-referencia se ilustra en la figura 1-3.

Los análisis se llevaron a cabo en el laboratorio de biotecnología y de investigación de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH ubicada en la provincia de Chimborazo, cantón Riobamba en la Panamericana sur Km 11/2 con coordenadas 1°39'13.4"S 78°40'34.2"W," y los análisis de calidad del producto fue realizado en el laboratorio SaQMIC en la ciudad de Riobamba.

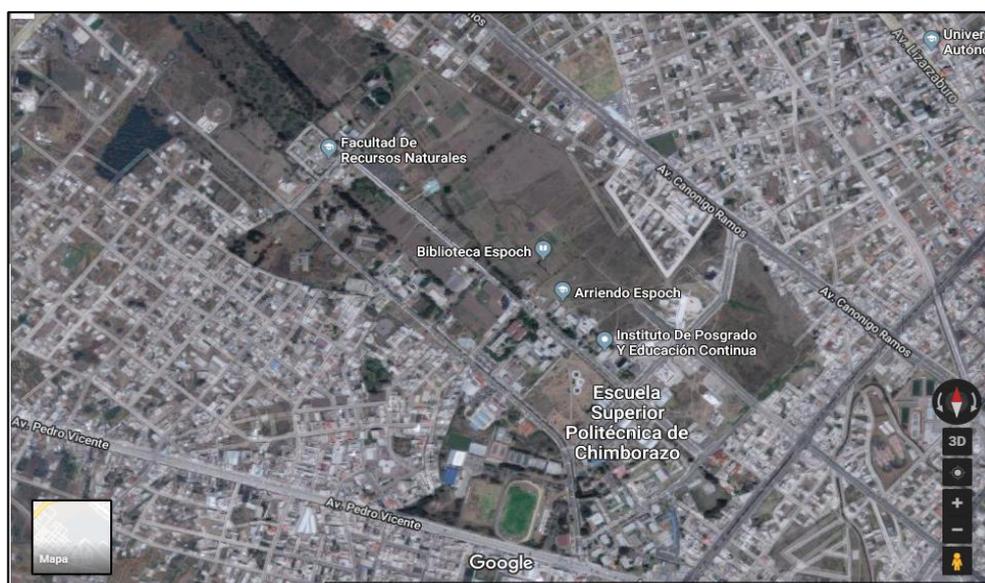


Figura 1-3 Geo-referencia de la ubicación de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Realizado por: Google Maps, 2019.

3.2. Ingeniería del proyecto.

3.2.1. Tipo de trabajo.

Es de tipo técnico, debido a que cuenta con investigaciones hechas en laboratorio y con ayuda de bibliografía para determinar las variables y fenómenos afectan a la producción de dicho tema, aplicando los principios de diseño de equipos y de transferencia de masa y calor, viendo, así como una variable afecta a las demás, Con una alta eficiencia y calidad del producto final para poder ser implementado en el sector industrial si la empresa gusta implementarlo.

3.2.2. Nivel de la investigación para el trabajo técnico.

3.2.2.1. Estudio de intervención.

Al manipular las variables, estas se relacionan con otras y de control, se tomó que el diseño de la investigación sea de tipo experimental, ya que se estableció una relación de tipo causa-efecto entre las variables independientes (concentración de melaza y velocidad de agitación) que sería la causa, con la variable dependiente (rendimiento, grado alcohólico, tiempo de fermentación y calidad del producto) que es el efecto.

3.2.2.2. Muestreo.

Para la toma de las muestras se utilizó un muestreo probabilístico (aleatorio) ya que cada tratamiento tiene la misma probabilidad de ser el escogido, y se realizó repeticiones por triplicado. Debido a que el cultivo tiene una concentración homogénea y en cualquier punto la muestra va a ser igual, el muestreo probabilístico (aleatorio) es el ideal ya que todas las muestras tienen probabilidad.

3.2.2.3. Tamaño de la muestra.

Para el tamaño de la muestra se utilizó la ecuación de acuerdo con la tabla que reportó (Valdivieso et al., 2017: p.151), para determinar el tamaño maestral se utilizó la siguiente ecuación.

$$n = \frac{z_{\alpha}^2 \sigma^2 N}{z_{\alpha}^2 \sigma^2 + e^2 (N - 1)} \quad \text{Ecuación 1-3}$$

Donde:

n =Tamaño de la muestra poblacional a obtener.

N =Tamaño de la población total (cada tratamiento tendrá 175 mL de medio de cultivo).

e^2 =Error máximo muestral (se considera 0,05).

σ =Desviación estándar poblacional (se considera 0,5).

$\frac{z_{\alpha}}{2}$ =Constante muestral (se considera 1,96).

Reemplazando valores, el tamaño de la muestra fue de:

$$n = \frac{\frac{z_{\alpha}^2 \sigma^2 N}{2}}{\frac{z_{\alpha}^2 \sigma^2}{2} + e^2 (N - 1)}$$
$$n = \frac{(1,96)^2 (0,5)^2 (100)}{(1,96)^2 (0,5)^2 + 0,05 (100 - 1)}$$
$$n = 16,25 \text{ mL}$$

3.2.3. Etapas del proyecto.

3.2.3.1. Etapa 1: Caracterización de forma macroscópica y microscópica de la levadura.

Utilizando una cepa de levadura comercial la cual es consumida por la empresa, se realizó un proceso de purificación y de análisis en laboratorio, posteriormente se realizó análisis macroscópico como olor, color como lo indica la norma (NMX-F-056, 1962). “LEVADURA HÚMEDA PARA PANIFICACIÓN. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS”, como indica el Anexo A.

a. Descripción del procedimiento, material, reactiva y equipo.

Caracterización de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*).

La caracterización de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), como se indica en la tabla 1-3, se efectuó tomando muestras representativas de la levadura comercial utilizada en la empresa actualmente.

Tabla 1-3 Caracterización de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*).

Procedimiento	Materiales y Reactivos	Equipos (Marca)
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Se utilizó 10 gr de una cepa comercial, la cual es utilizada por la empresa. ✓ Se esparció en una caja pretil y posteriormente se aplicó los análisis de olor, color y sabor. ✓ Se tomó 5 tubos de ensayos, los mismos que tenían 5 mL de solución de peptona al 10 % y se colocó 0,5 g de levadura. ✓ Se disolvió y se llevó a la incubadora por 2 hora ✓ En una caja Petri se colocó 1 g de la cepa y se le añadió el indicador naranja de acridina. ✓ Se observó en el microscopio la coloración de la levadura. 	<p>Materiales:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Cajas Petri. ✓ Probeta de 50 mL. ✓ Asas. ✓ Piseta. ✓ Pipeta de 10 mL. ✓ Tubos de ensayo y gradilla. <p>Reactivos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Alcohol potable. ✓ Agua. ✓ Peptona. ✓ Naranja de acridina. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Cámara biológica (BioAir). ✓ Incubadora (Memmert). ✓ Balanza Analítica (Approm). ✓ Microscopio (BRESSER).

Fuente: NMX-F-056, 1926; Franco, 2019

Realizado por: Mario Franco, 2019.

Tratamiento previo a la melaza de caña de azúcar.

La melaza al tener un alto contenido de azúcares no es un medio adecuado para la proliferación de microorganismos según (Fajardo & Sarmiento, 2007: p.60), sin embargo, se sembró una muestra en un medio general y se realizó un análisis de sólidos en el medio, detallado en la tabla 2-3.

Tabla 2-3 Tratamiento previo a la melaza de caña de azúcar.

<i>Procedimiento</i>	<i>Materiales y Reactivos</i>	<i>Equipos (Marca)</i>
<p>Carga microbiana.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Se utilizó una solución de melaza al 10 % de concentración en un Erlenmeyer. ✓ Se llevó a incubador agitador a 100 rpm y 28 °C, hasta que se alcanzó la disolución de la melaza. ✓ Se aplicaron diluciones hasta alcanzar concentraciones de 10⁻¹, 10⁻³, 10⁻⁴ y 10⁻⁵ en relación m/m. ✓ Se tomó alícuotas de cada solución, se colocó una pequeña cantidad en las cajas Petri las cuales tenía como medio Plate Count Agar (PCA) y se incubó a 28 °C. <p>Análisis de Sólidos.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Se realizó una solución de melaza al 5 % de concentración en un Erlenmeyer. ✓ Se llevó a incubador agitador a 100 rpm y 28 °C, hasta que se alcanzó la disolución de la melaza. ✓ Se realizó un filtrado en un Kitasato con papel cualitativo. ✓ Se llevó a secar en una estufa a 120°C. 	<p>Materiales:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Cajas Petri. ✓ Probeta de 50 mL. ✓ Asas. ✓ Piseta. ✓ Soporte universal y pinza. ✓ Pipeta de 10 mL. ✓ Erlenmeyer de 250 mL. ✓ Tubos de ensayo y gradilla. ✓ Kitasato. <p>Reactivos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Alcohol potable. ✓ Agua. ✓ Agar papa dextrosa. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Incubador Agitador (Gran-Bio). ✓ Autoclave (TUTTNAUER). ✓ Cámara biológica (BioAir). ✓ Balanza Analítica (Appcrom). ✓ Incubadora (Memmert). ✓ Bomba de vacío (Clínica). ✓ Estufa (TUTTNAUER).

Fuente: Durango, 2007, p.121; Fajardo & Sarmiento, 2007: p.60

Realizado por: Mario Franco, 2019.

Determinación de la longitud de onda y curva de calibración.

Para el cálculo de la curva de calibración, como señala la tabla 3-3, se procedió a utilizar el método indicado por (Skoog et al., 2008: p.62).

Tabla 3-3 Determinación de la curva de calibración.

<i>Procedimiento</i>	<i>Materiales y Reactivos</i>	<i>Equipos (Marca)</i>
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Se utilizó Erlenmeyer de 250 mL, los cuales se llenaron máximo hasta 2/3 con una solución de melaza al 10 %. ✓ Se colocó los nutrientes (N, F, Mg, Mn, Fe, Zn, Ca, K y Cl) posteriormente al agitador incubador a 125 rpm y 30 °C hasta diluir. ✓ Se ajustó el pH a 4,5 con soluciones de ácido clorhídrico 1N e hidróxido de sodio 1N. ✓ Se colocaron alícuotas de 18 mL en diferentes tubos de ensayos. ✓ Las muestras se esterilizaron en autoclave a una temperatura de 125 °C y 1 atm de presión por un tiempo de 25 min. ✓ Se colocó una cantidad de (0, 10, 20, 40, 60 y 70 mg) de levadura en tubo de ensayo hasta conseguir una solución homogénea. ✓ Se tomó 1 mL de cada tubo y se aforó a 25 mL. ✓ Se calculó la longitud de onda y se identificó el pico de mayor relevancia, el cual fue de 610 nm. ✓ Se construyó la curva de calibración Concentración de levadura (ppm) vs Absorbancia. A dicha longitud de onda, como se indica en el anexo C. 	<p>Materiales:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Probeta de 50 mL. ✓ Azas. ✓ Piseta. ✓ Atomizador. ✓ Pipeta de 5 mL. ✓ Erlenmeyer de 250 mL. ✓ Toallas absorbentes. <p>Reactivos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Alcohol potable. ✓ Agua. ✓ Melaza. ✓ Nutrientes. ✓ Ácido clorhídrico 1N. ✓ Hidróxido de sodio 1N. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Incubador Agitador (Gran-Bio). ✓ Autoclave (TUTTNAUER). ✓ Cámara biológica (BioAir). ✓ Balanza Analítica (Appcrom). ✓ PH metro (Meter). ✓ Espectrofotómetro Visible-UV.

Fuente: Skoog et al., 2008: p.62; Fajardo & Sarmiento, 2007: pp.60-61

Realizado por: Mario Franco, 2019.

Determinación de la curva de crecimiento de biomasa en laboratorio.

Debido a que la melaza contiene pocos nutrientes como es nitrógeno, orgánico e inorgánico, minerales, se enriquecerá con nitrógeno orgánico e inorgánico, fósforo y minerales como Mg, Ca, Zn, Cu, Mn, Se ajustó el pH a 4.5, con soluciones de ácido clorhídrico 1N e hidróxido de sodio 1N, la temperatura a 30 °C, como se muestra en la tabla 4-3, como señala (Duarte, 1995, p.132).

Tabla 4-3 Determinación de la curva de crecimiento de biomasa.

<i>Procedimiento</i>	<i>Materiales y Reactivos</i>	<i>Equipos (Marca)</i>
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Se utilizó Erlenmeyer de 250 mL, los cuales se llenaron máximo hasta 2/3 de su capacidad con los tratamientos de (15, 20, 25, 30, 35 %) ° Brix, con los nutrientes respectivos se procedió a diluir con ayuda del agitador incubador a 125 rpm y 30 °C. ✓ Se ajustó el pH a 4,5 con soluciones de ácido clorhídrico 1N e hidróxido de sodio 1N. ✓ Las muestras se esterilizaron en autoclave a una temperatura de 125 °C y 1 atm de presión por un tiempo de 25 min. ✓ Se colocó una muestra de aproximadamente 0,1 g de levadura en cada tratamiento. ✓ Se llevó al agitador incubador a 125 rpm y 30 °C por 24 horas. ✓ En un espectrofotómetro a una longitud de onda de 610 nm se procedió a calcular la absorbancia. ✓ Con ayuda de la curva de calibración, se procedió a calcular la gráfica tiempo (h) vs Concentración (ppm). 	<p>Materiales:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Probeta de 50 mL. ✓ Asas. ✓ Piseta. ✓ Pipeta de 5 mL. ✓ Erlenmeyer de 250 mL. ✓ Toallas absorbentes. <p>Reactivos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Alcohol potable. ✓ Agua. ✓ Melaza. ✓ Nutrientes. ✓ Ácido clorhídrico 1N. ✓ Hidróxido de sodio 1N. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Incubador Agitador (Gran-Bio). ✓ Autoclave (TUTTNAUER). ✓ Cámara biológica (BioAir). ✓ Balanza Analítica (Appcrom). ✓ PH metro (Meter) ✓ Espectrofotómetro Visible-UV.

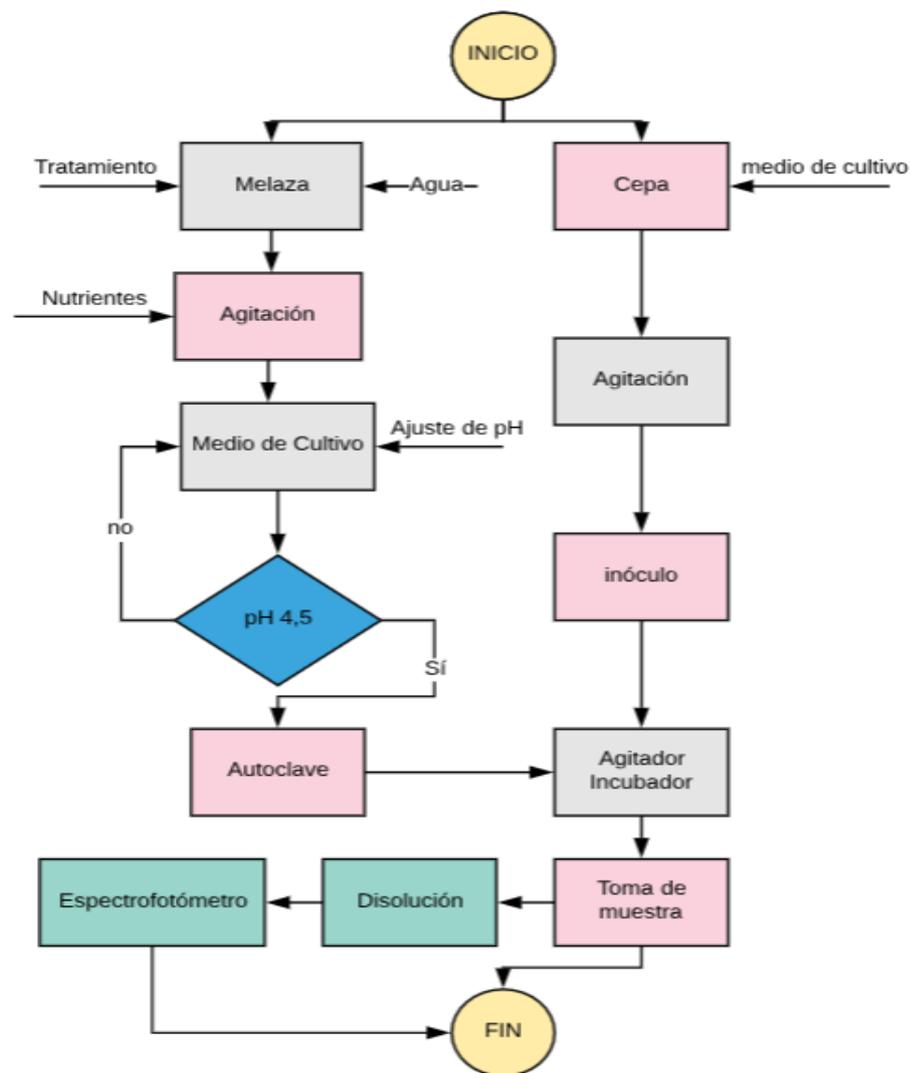
Fuente: Duarte, 1995, p.132

Realizado por: Mario Franco, 2019.

3.2.3.2. Etapa 2: Reconocimiento de la concentración óptima de melaza de caña para la producción de levadura.

Para el reconocimiento de la concentración se utilizó como base la investigación hecha por Fajardo & Sarmiento (2007: p.60) y Armas (2006, p.89). Con esta información se aplicó diferentes concentraciones de melaza en solución con agua (15, 20, 25, 30, 35) °Brix y a un pH de 4.5. Cada tratamiento fue sometido en un agitador incubador el mismo que tuvo una temperatura de 30 °C y una agitación de 130 rpm, como se señala en el anexo H y en el anexo G. De acuerdo con las curvas de concentración vs tiempo, se tomó la que mejor resultado arrojó.

a. Descripción del procedimiento, material, reactiva y equipo.



Gráfica 1-3 Diagrama de proceso para la determinación de biomasa en el laboratorio aplicada para las diferentes concentraciones de melaza.

Realizado por: Mario Franco 2019.

3.2.3.3. Etapa 3: Determinación de las variables y parámetros del proceso para la obtención de levadura.

Para el análisis de las variables de producción se tomó como referencias una temperatura de 30 °C, pH de 4,5 y una oxigenación de 12 L/min, al reconocer la concentración óptima de melaza de caña para la producción de levadura, se llevó el medio a un escalado de 20 litros en el BIOREACTOR prototipo y se aplicó velocidades de agitación de (100, 125, 150, 175 y 200) rpm, como se ilustra en el anexo K.

a. Prototipo para utilizar para el escalado.

Para el escalado del proceso de fermentación se cuenta con un BIOREACTOR de 25 L, Y un motor WEG de 1 HP conectado por un sistema de banda al equipo y una geometría como se menciona en la tabla 5-3.

Este equipo cuenta con un sistema de calentamiento de llama directa y su fondo cuenta con un volumen extra en la chaqueta para que permita mantener por más tiempo la temperatura, cuenta con un tomador de muestra y un introductor de inóculo. Como se indica en la siguiente fotografía 1-3.

Tabla 5-3 Geometría del BIOREACTOR y accesorios.

Relación	Valor
Altura tanque / Diámetro tanque	2
Diámetro aspás / Diámetro tanque	0,333
Altura aspás / Diámetro tanque	0,2
Ancho aspás / Diámetro tanque	0,25
Ancho deflector / Diámetro tanque	0,1
Otros datos	Valor
Fondo y Aspás inferior	13 cm
Distancia entre Aspás	13 cm
Nivel de operación y Aspa superior	13 cm
Diámetro del eje	1 in
Distancia entre la chaqueta y el tanque	3 cm
Diámetro del orificio de aireación	3 mm
Diámetro del tubo de aireación	1/4 in
Número de orificio	6

Realizado por: Mario Franco, 2019.



Fotografía 1-3 Prototipo utilizado para validar las variables de proceso.

Realizado por: Mario Franco, 2019.

b. Sistema de control.

El equipo cuenta con un tablero de control y está constituido de las siguientes partes, un regulador de frecuencia marca LS, un medidor de temperatura constituido por una termocupla tipo K y controlador TOKY, un sistema de alarma para emergencia y un controlador para calcular el tiempo, como indica la fotografía 2-3.



Fotografía 2-3 Instrumentos que constituyen es tablero de control del prototipo de 20 Litros.

Realizado por: Mario Franco, 2019.

Este equipo cuenta con un sistema de calentamiento de llama directa y su fondo cuenta con un volumen extra en la chaqueta, cuenta con un tomador de muestra y un introductor de inóculo. Como se indica en la siguiente imagen.

c. Sistema de aireación.

Cuenta con un sistema de aireación constituido por un compresor marca PTK de 2HP, de 100 Litros y 800 bares de presión y un filtro-regulador de presión. Brindará una oxigenación de 10 L/min, como se muestra en la fotografía 3-3.



Fotografía 3-3 Muestra el compresor utilizado y el sistema para regular el caudal del aire que sale de dicho equipo.

Realizado por: Mario Franco, 2019.

d. Tamaño del inóculo.

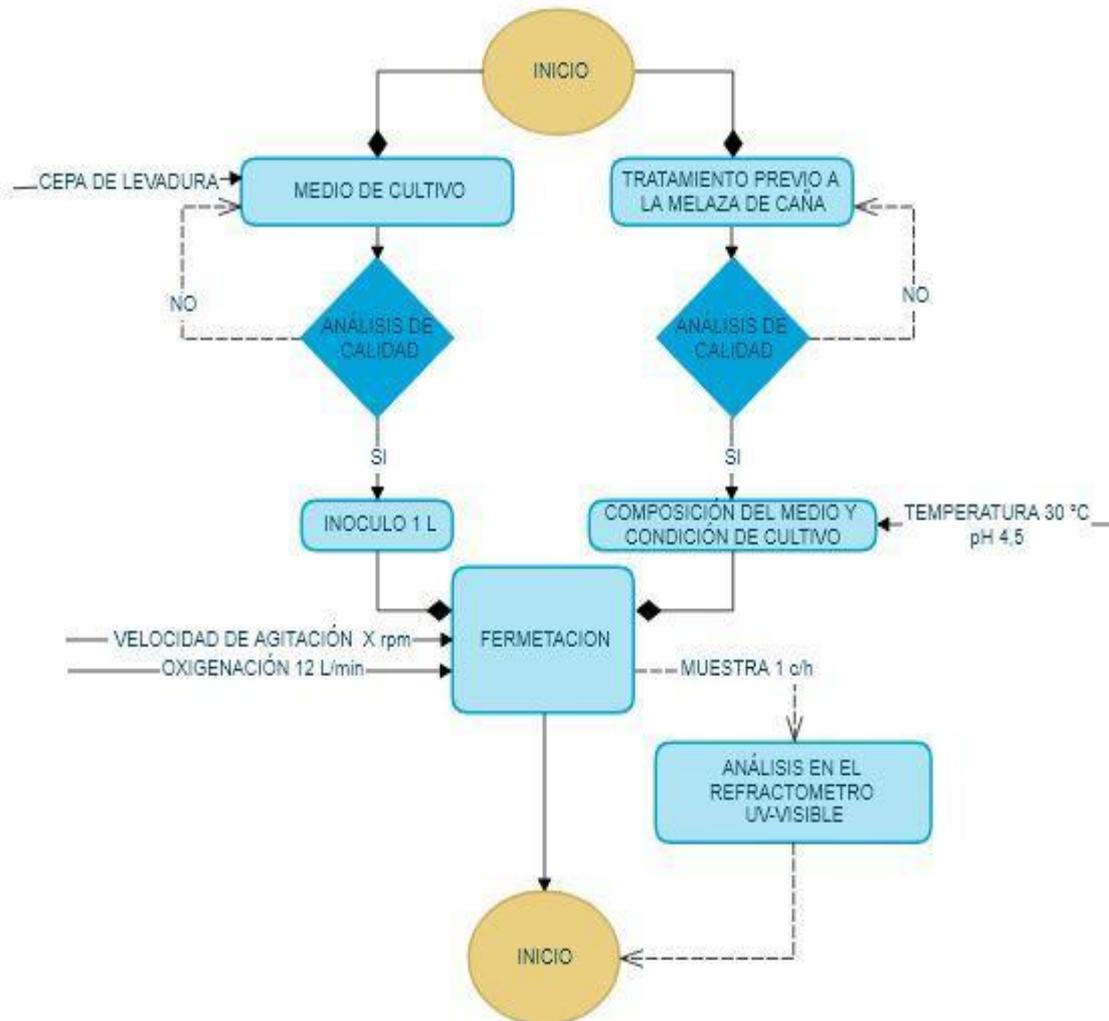
El tamaño del inóculo fue de 3L de medio (esterilizado) utilizado en el prototipo con pH 4,5 y se le agregó 10 g de levadura posteriormente se incubó a 30°C y 130 rpm en el agitador incubador (Gran-Bio) por 4 horas.

e. Descripción del procedimiento, material, reactiva y equipo.

En el siguiente diagrama de flujo, indicado en la gráfica 2-3, muestra el proceso que se aplicó para la determinación de la curva de crecimiento de biomasa en el prototipo.

Para obtener el inóculo se aplicó el proceso indicado en la gráfica 1-3, donde se utilizó la concentración de grados °Brix óptima, dato obtenido por la curva de crecimiento de biomasa en laboratorio. Mientras que el tratamiento previo a la melaza es disolver la melaza a los grados °Brix deseado y filtrar de acuerdo con los valores obtenidos en el tratamiento de la tabla 2-3 y detallado en el apartado de resultados.

Para la composición del medio y condiciones para el cultivo, se añadió los nutrientes necesarios y se ajustó el pH 4,5. Con los datos obtenidos del tratamiento de la tabla 2-3, el cual se detalla en Ítem de resultados, donde se recomienda hacer una pasteurización a 125 °C.



Gráfica 2-3 Diagrama de proceso para la determinación de biomasa en el prototipo de 20 L. En donde X rpm son las velocidades aplicadas en el prototipo las misma que son: 100, 125, 150, 175 y 200) rpm.

Realizado por: Mario Franco 2019.

3.2.3.4. Etapa 4: Características fisicoquímicas y microbiológicas de la biomasa obtenida.

Para la determinación de las características fisicoquímicas y microbiológicas de la biomasa obtenida asegurando así la calidad para el consumo del producto, se utilizó la norma colombiana “LEVADURA PARA PANIFICACIÓN” (NTC-1807, 2004), debido a que la norma ecuatoriana no cuenta con una normativa referida a la producción de levadura y la empresa consume la levadura de origen Colombia por ello se evaluó de acuerdo con la norma de ese país.

Se analizaron los siguientes parámetros de calidad, en la tabla 6-3, se indican los requisitos fisicoquímicos que debe cumplir, mientras que, en la tabla 7-3, se señalan los requisitos microbiológicos.

Tabla 6-3 Requisitos fisicoquímicos para la levadura.

Requisitos	Porcentaje (%)
Materia seca, en %	30 min.
Proteínas en base seca, en % (N x 6,25)	40 min.
Fósforo como P ₂ O ₅ en base seca, en %	1,5 min.
pH solución al 10 %	3,5 min.
Cenizas en base seca, en %	5 máx.
Porcentaje de células vivas	90 min.

min= rango mínimo de calidad.
máx.= rango máximo de calidad.

Fuente: NTC-1807, 2004, p.5

Realizado por: Mario Franco, 2019.

Tabla 7-3 Requisitos microbiológicos para la levadura de panificación.

Requisitos	Límite máximo
<i>E. Coli</i> /g	Negativo
<i>Salmonella</i> /50 g	Negativo
Mohos/g	< 100
NMP Coliformes/g	23

Fuente: NTC-1807, 2004, p.5

Realizado por: Mario Franco, 2019.

a. Descripción del procedimiento, material, reactiva y equipo.

Los análisis fisicoquímicos (excepto en de células vivas) y microbiológicos se realizaron en el laboratorio SaQMIC.

3.2.4. Cálculos.

3.2.4.1. Variables de la biomasa.

a. Cálculo de la velocidad de crecimiento.

$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{x_t}{x_0}\right)}{t}$$
$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{0,292 \text{ g/mL}}{0,0125 \text{ g/mL}}\right)}{13 \text{ h}}$$
$$\mu = 0,244 \text{ h}^{-1}$$

b. Cálculo del tiempo de duplicación.

$$t = \frac{\ln 2}{\mu}$$
$$t = \frac{\ln 2}{0,244 \text{ h}^{-1}}$$
$$t = 2,84 \text{ h}$$

c. Cálculo de la velocidad máxima.

$$\mu_{max} = \frac{\mu(K_s + s)}{s}$$

Donde $K_s = 180 \text{ g/mL}$ según la tabla 3-1, el residuo tenía una concentración de $0,06 \text{ g/mL}$ de melaza.

$$\mu_{max} = \frac{0,244 \text{ h}^{-1}(180 \text{ g/mL} + 0,19 \text{ g/mL})}{0,19 \text{ g/mL}}$$
$$\mu_{max} = 231,402 \text{ h}^{-1}$$

d. Cálculo de la concentración de Biomasa.

$$Y = \frac{x}{(S_R - s)}$$

Se tomó como base la masa de cada variable en 1 mL .

$$Y = \frac{0,297}{(0,47 - 0,09)}$$

$$Y = 0,78 \frac{g \text{ biomasa}}{g \text{ sustrato}}$$

e. Cálculo de la productividad.

$$R_{batch} = \frac{x_{max} - x_b}{t_i + t_{ii}}$$

$$R_{batch} = \frac{0,297 \frac{g}{mL} - 0,0125 g/mL}{5 h + 11 h}$$

$$R_{batch} = 0,018 \frac{g}{mL h}$$

3.2.4.2. Propiedades físicas del medio y producto.

a. Cálculo de la densidad.

$$\rho = \frac{m}{V}$$

Se realizaron 5 mediciones de la densidad antes y después del proceso, como se indica en la tabla 8-3.

Tabla 8-3 Valores experimentales de densidad al inicio y final en Kg/m³.

<i>Prueba</i>	<i>Densidad inicial (g/mL)</i>	<i>Densidad Final (g/mL)</i>
1	1,034	1,139
2	1,036	1,141
3	1,033	1,135
4	1,034	1,140
5	1,035	1,137
Promedio	1,0344	1,1384

Realizado por: Mario Franco, 2019.

b. Cálculo de viscosidad.

Tabla 9-3 Valores de Viscosidad al inicio y final (Kg/ms).

Prueba	Viscosidad inicial (Kg/ms) *10 ⁻⁴	Viscosidad Final (Kg/ms) *10 ⁻⁴
1	8,34	12,45
2	8,63	12,86
3	9,01	11,93
4	8,75	12,10
5	8,84	12,42
Promedio	8,714	12,3275

Realizado por: Mario Franco, 2019.

c. Cálculo de la capacidad calorífica.

$$cp_p = \sum_{i=0}^n \%_i cp_i$$

$$cp_p = \%_{H_2O} cp_{H_2O} + \%_m cp_m + \%_{no} cp_{no} + \%_{ni} cp_{ni} + \%_p cp_p$$

Se utilizó el tratamiento con mejor rendimiento y se multiplico el cp de cada uno de los componentes del medio (en la tabla 10-3 se indica el cp de los componentes principales que conforma el medio).

Tabla 10-3 Cp. de los componentes mayoritario del medio.

Sustancia	Cp. (KJ/Kg °C)
Fósforo	1,086
Nitrógeno inorgánico	1,635
Nitrógeno orgánico	1,545
Melaza	3,65
Agua	4,204

Realizado por: Mario Franco, 2019.

Reemplazando con la concentración de cada uno de los componentes, tenemos:

$$c_{p_p} = 2,8 \text{ KJ/Kg}^\circ\text{C}$$

3.2.4.3. Transferencia de masa (líquido-Sólido).

a. Cálculo de la velocidad de transferencia de oxígeno volumétrica.

$$N_a = k_L a * (C^* - C)$$

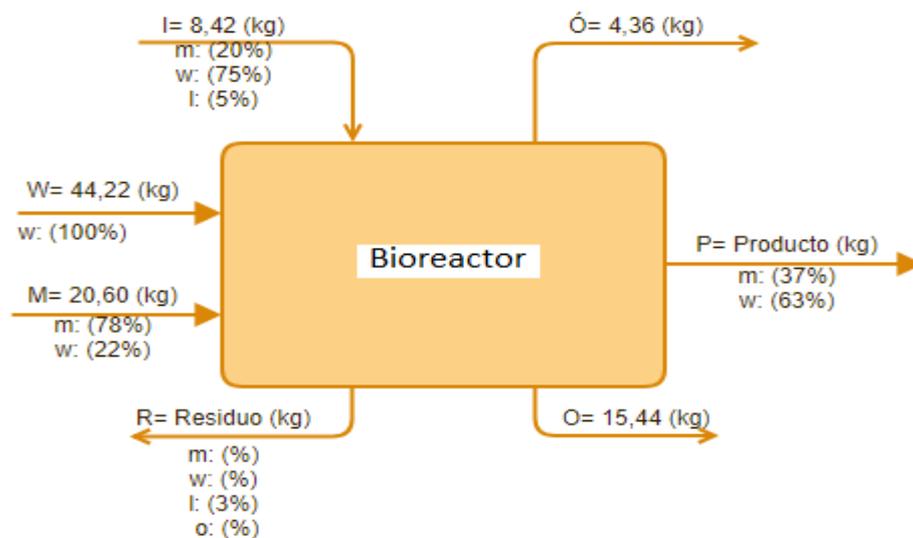
Aplicando la fórmula, en el anexo, B $C^* = 179,5 \text{ mol/L}$. Y la medición efectuada con un electrodo de oxígeno disuelto, arrojó como resultado $C = 0,087 \frac{\text{mol}}{\text{L}} = 27,84 \frac{\text{g}}{\text{L}}$.

$$N_a = 0,06 \text{ s}^{-1} * (179,5 \text{ mol/L} - 0,087 \text{ mol/L})$$

$$N_a = 10,77 \frac{\text{mol}}{\text{sL}}$$

b. Cálculo del balance de masa.

Para el escalado se trabajará con un caudal de 15 L/min el cual fue transformado en Kg, donde se tomó una base de cálculo de 11 horas, como se indica en la gráfica 3-3.



Gráfica 3-3 Corrientes que entran y salen en el BIOREACTOR consideradas para

el balance de masa con los respectivos datos iniciales que se tiene.

Realizado por: Mario Franco, 2019.

Balance de general de materia.

$$I + W + M + O = R + P + \dot{O}$$
$$8,42 + 44,2 + 20,6 + 15,44 = R + 18 + 4,36$$
$$R = 66,32 \text{ kg}$$

Balance por componente.

- **Azúcares disueltos.**

$$M * m_M + I * m_I = R * m_R + P * m_p + R * l_R * 0,37$$
$$20,6 * 0,78 + 8,42 * 0,20 = 66,32 * m_R + 18 * 0,37 + 66,32 * 0,03 * 0,37$$
$$m_R = 0,156$$

- **Agua.**

$$M * w_m + W + I w_I = R * w_R + P * w_p + R * l_R * 0,63$$
$$20,6 * 0,22 + 44,2 + 8,42 * 0,75 = 66,32 * w_R + 18 * 0,63 + 66,32 * 0,03 * 0,63$$
$$w_R = 0,64$$

- **Oxígeno.**

$$o_R = 1 - m_R - w_R - l_R$$
$$o_R = 1 - 0,156 - 0,64 - 0,03$$
$$o_R = 0,174$$

En o_R , se considera el oxígeno disuelto y el oxígeno utilizado para generar CO_2

3.2.4.4. Geometría de tanque de producción.

a. Cálculo de la capacidad volumétrica de producción.

Para el cálculo del volumen de BIOREACTOR, se procede a calcular el volumen de operación con la siguiente fórmula.

$$V_{op} = \frac{M_l}{\rho_p}$$

$$V_{op} = \frac{18 \text{ Kg}}{297 \text{ Kg/m}^3}$$

$$V_{op} = 0,0606 \text{ m}^3 = 60,60 \text{ L}$$

b. Cálculo de la capacidad volumétrica de seguridad.

$$V_s = V_p * 0.25$$

$$V_s = 0,0606 \text{ m}^3 * 0.25$$

$$V_s = 0,01515 \text{ m}^3 = 15,15 \text{ L}$$

c. Cálculo del volumen de operación.

$$V_D = V_{op} + V_s$$

$$V_D = 0,0606 \text{ m}^3 + 0,01515 \text{ m}^3$$

$$V_D = 0,07575 \text{ m}^3 = 75,75 \text{ L}$$

d. Cálculo del diámetro del tanque.

$$D_t = \sqrt[3]{\frac{V_D}{0,4375 \pi}}$$

$$D_t = \sqrt[3]{\frac{0,07575 \text{ m}^3}{0,4375 \pi}}$$

$$D_t = 0,3805 \text{ m} \cong 0,38 \text{ m}$$

e. Cálculo de la altura del tanque.

$$H_t = 1,75 D_t$$

$$H_t = 1,75 * 0,38 \text{ m}$$

$$H_t = 0,665 \text{ m} \cong 0,67 \text{ m}$$

f. Cálculo del volumen de diseño.

$$V_t = 0,25 \pi D_t^2 H_t$$

$$V_t = 0,25 \pi (0,38 \text{ m})^2 (0,67 \text{ m})$$

$$V_t = 0,7598 \text{ m}^3 \cong 76 \text{ L}$$

Como $V_t \geq V_c$, Cumple las dimensiones para la demanda.

3.2.4.5. Transferencia de calor.

a. Cálculo de periodo y temperatura de pasteurización.

Al encontrarse colonias de microorganismos en la melaza, anexo D, se tomará la metodología según (Duarte, 1995, p.371).

- ✓ Calentamiento 100 hasta 121°C en 26 minutos
- ✓ Enfriamiento desde 121 hasta 100°C en 18 minutos

b. Cálculo de la diferencia de temperatura media logarítmica (LMTD).

$$LMTD = \frac{(T_{vapor-entrada} - t_{agua\ r.-salida}) - (T_{vapor-salida} - t_{agua\ r.-entrada})}{\ln\left(\frac{T_{vapor-entrada} - t_{agua\ r.-salida}}{T_{vapor-salida} - t_{agua\ r.-entrada}}\right)}$$
$$LMTD = \frac{(180 - 125) - (142 - 18)}{\ln\left(\frac{180 - 125}{142 - 18}\right)}$$
$$LMTD = 84,88^{\circ}C$$

c. Cálculo del número de Prandtl.

$$Pr = \frac{C_{pL} * \mu_L}{k_m}$$
$$Pr = \frac{2800 \frac{J}{Kg^{\circ}C} * 8,714 * 10^{-4} Kg/ms}{0,465 W/m^{\circ}C}$$
$$Pr = 5,247$$

d. Cálculo del número de Reynolds.

$$Re = \frac{N(D_{imp})^2 \rho}{\mu_L}$$

La agitación óptima se obtuvo a 175 rpm=2,917 rps.

$$R_e = \frac{2,917 \text{ rps}(0,38 \text{ m})^2 1034 \text{ Kg/m}^3}{8,714 * 10^{-4} \text{ Kg/ms}}$$

$$R_e = 499811,91$$

e. Cálculo del número de Nusselt.

$$Nu = 0.36 * R_e^{0.67} * Pr^{1/3}$$

$$Nu = 0.36 * (499811,91)^{0.67} * (5,247)^{1/3}$$

$$Nu = 4115,98$$

f. Cálculo de la resistencia a la transferencia de calor en el medio ($\frac{1}{h_o}$).

$$\frac{1}{h_o} = \frac{D_t}{Nu * km}$$

$$\frac{1}{h_o} = \frac{0,38 \text{ m}}{4115,98 * 0,465 \text{ W/m}^{\circ}\text{C}}$$

$$\frac{1}{h_o} = 1,98 * 10^{-4} \text{ m}^2\text{C/W}$$

g. Cálculo de la resistencia a la transferencia de calor en la chaqueta ($\frac{e}{k}$).

$$\frac{e}{k} = \frac{0,002}{16 \text{ W/m}^{\circ}\text{C}} = 1,25 * 10^{-4} \text{ m}^2\text{C/W}$$

h. Cálculo de la resistencia a la transferencia de calor del vapor ($\frac{1}{h_i}$).

$$\frac{1}{h_i} = \frac{1}{0,15 * k_v * Pr^{\frac{1}{3}} * \left(\frac{H^3 * g * \rho_v^2 * \beta * (T_2 - T_1)}{\mu_v^2} \right)^{1/3}}$$

$$\frac{1}{h_i} = \frac{1}{0,15 * 0,62 \text{ W/m}^{\circ}\text{C} * (5,247)^{\frac{1}{3}} * \left(\frac{(0,67 \text{ m})^3 * 9,8 \frac{\text{m}}{\text{s}^2} * \left(\frac{887 \text{ Kg}}{\text{m}^3} \right)^2 * 2,07 * 10^{-4} \text{ C}^{-1} * (180^{\circ}\text{C} - 142^{\circ}\text{C})}{1 * 10^{-4} \text{ Kg/m} \cdot \text{s}} \right)^{1/3}}$$

$$\frac{1}{h_i} = 0,011 \text{ m}^2\text{C/W}$$

i. Cálculo del coeficiente global de transferencia de calor.

$$\frac{1}{U} = \frac{1}{h_o} + \frac{e}{k} + \frac{1}{h_i}$$
$$\frac{1}{U} = 1,98 * 10^{-4} \text{ m}^2\text{C/W} + 1,25 * 10^{-4} \text{ m}^2\text{C/W} + 0,011 \text{ m}^2\text{C/W}$$
$$\frac{1}{U} = 0,011 \text{ m}^2\text{C/W}$$
$$U = 90,90 \text{ W/m}^2\text{C}$$

j. Cálculo del calor requerido en la chaqueta.

$$Q_{ch} = m_m c p_p (t_f - t_o)$$

Para calcular m_m se multiplica la densidad del medio que es 1034 Kg/m³ por el volumen del medio que es de 78,75 L.

$$Q_{ch} = 81,43 \text{ Kg } 2,8 \text{ KJ/Kg}^\circ\text{C} (125^\circ\text{C} - 30^\circ\text{C})$$
$$Q_{ch} = 21660,38 \text{ KJ} = 6016,77 \text{ W}$$

k. Cálculo del área de transferencia de calor.

$$A_{tc} = \frac{Q_{ch}}{U * LMTD}$$
$$A_{tc} = \frac{6016,77 \text{ W}}{90,90 \text{ W/m}^2\text{C} * 84,88^\circ\text{C}}$$
$$A_{tc} = 0,78 \text{ m}^2$$

l. Cálculo del flujo másico de agua en la chaqueta.

Al contar con un tiempo de 18 min para generar la variación de temperatura. $t = 18 \text{ min}$.

$$m_{ch} = \frac{Q_{ch}}{Cp\Delta T_{ch} * t}$$
$$m_{ch} = \frac{21660,38 \text{ KJ}}{4,204 \frac{\text{KJ}}{\text{KgC}} (125 - 30)^\circ\text{C} * 18 \text{ min}}$$
$$m_{ch} = 3,01 \text{ Kg/min}$$

m. Cálculo del volumen y área de la chaqueta.

Tomando como base 1 minuto.

$$V_{ch} = \frac{m_{ch}}{\rho_v}$$
$$V_{ch} = \frac{3,01 \text{ Kg}}{988 \text{ Kg/m}^3}$$
$$V_{ch} = 0,003 \text{ m}^3$$

Siendo el área:

$$A_{ch} = \frac{V_{ch}}{H_t}$$
$$A_{ch} = \frac{0,003 \text{ m}^3}{0,67 \text{ m}}$$
$$A_{ch} = 0,0045 \text{ m}^2$$

n. Cálculo del radio del tanque con chaqueta.

Para el cálculo del radio se aplica la siguiente ecuación.

$$r_{ch} = \sqrt{\frac{A_{ch}}{\pi}}$$
$$r_{ch} = \sqrt{\frac{0,0045 \text{ m}^2}{\pi}}$$
$$r_{ch} = 0,038 \text{ m}$$

3.2.4.6. Sistema de agitación.

a. Cálculo de la altura entre la paleta y el fondo.

$$E = \frac{D_t}{2} * 0,66$$
$$E = \frac{0,38 \text{ m}}{2} * 0,66$$
$$E = 0,1254 \text{ m} \cong 13 \text{ cm}$$

b. Cálculo del diámetro del impulsor

$$D_{imp} = D_t * 0,33$$
$$D_{imp} = 0,38 \text{ m} * 0,33$$
$$D_{imp} = 0,1254 \text{ m} \cong 13 \text{ cm}$$

c. Cálculo del largo de la paleta

$$H_{imp} = D_{imp} * 0,25$$
$$H_{imp} = 13 \text{ cm} * 0,25$$
$$H_{imp} = 3,25 \text{ cm} \cong 3,3 \text{ cm}$$

d. Cálculo del alto de la paleta

$$L_{imp} = D_{imp} * 0,2$$
$$L_{imp} = 13 \text{ cm} * 0,2$$
$$L_{imp} = 2,6 \text{ cm}$$

e. Cálculo de las placas deflectoras (4 c/u)

$$G = D_t * 0,1$$
$$G = 38 \text{ cm} * 0,1$$
$$G = 3,8 \text{ cm}$$

f. Cálculo del espacio entre el tanque y la placa

$$fo = D_t * 0,02$$
$$fo = 38 \text{ cm} * 0,02$$
$$fo = 0,76 \text{ cm}$$

g. Potencia del agitador

Cálculo de la potencia externa entregada por el agitador

Se aplica la siguiente ecuación.

$$P = \frac{N_p N^3 D_{imp}^5 \rho_L}{g}$$

Sabiendo que $N_{re} = 499811,91$ y el tipo de aspa encaja en la curva $N_p = 5$. Se tomó densidad del final, la misma que es de 1138 kg/m^3

$$P = \frac{5 * (2,917)^3 (0,38 \text{ m})^5 1138 \text{ kg/m}^3}{9,8 \text{ m/s}^2}$$

$$P = 114,18 \text{ Watt} = 0.153 \text{ HP}$$

Cálculo del factor de configuración del fermentador

$$F_c = \frac{\sqrt{\left(\frac{D_t}{D_i}\right)^* \left(\frac{H_t}{D_i}\right)^*}}{\sqrt{\left(\frac{D_t}{D_i}\right) \left(\frac{H_t}{D_i}\right)}}$$

$$F_c = \frac{\sqrt{\left(\frac{0,38}{0,13}\right) \left(\frac{0,55}{0,13}\right)}}{\sqrt{(3)(3)}}$$

$$F_c = 0,1524$$

Cálculo de la potencia total del agitador

$$P_t = F_c * P$$

$$P_t = 0,1524 * 0.153 \text{ HP}$$

$$P_t = 0,0233 \text{ HP}$$

Cálculo del flujo de aireación

$$F_a = \frac{0 * 100\%}{\%O_2}$$

$$F_a = \frac{0,015 \text{ m}^3 * 21\%}{100\%}$$

$$F_a = 0,0714 \text{ m}^3$$

Cálculo de la potencia del agitador con aireación

$$P_a = f * P_t$$

$$P_a = 0,98 * 0,0233 \text{ HP}$$

$$P_a = 0,0228 \text{ HP}$$

3.2.4.7. Sistema de aireación

a. Cálculo del número de aireación

$$N_{ai} = \frac{F_a}{N * D_i^3}$$
$$N_{ai} = \frac{0,0714 \text{ m}^3}{2,917 * (0,13 \text{ m})^3}$$
$$N_{ai} = 11,16$$

b. Cálculo del diámetro de equilibrio de la burbuja

$$db = 700 * \frac{\sigma^{0,6}}{\left(\frac{P_a}{V_l}\right)^{0,4} * \rho^{0,2}} * \left(\frac{\mu_l}{\mu_g}\right)^{0,1}$$
$$db = 700 * \frac{(0,06791 \frac{N}{m})^{0,6}}{\left(\frac{0,0228 \text{ HP}}{0,06060 \text{ m}^3}\right)^{0,4} * (1034 \frac{Kg}{m^3})^{0,2}} * \left(\frac{8,714 * 10^{-4} \text{ Kg/ms}}{1,872 * 10^{-5} \text{ Kg/ms}}\right)^{0,1}$$
$$db = 75,5 \text{ m}$$

c. Cálculo del área interfacial de transferencia

Donde $\varphi = 0,718$

$$a = \frac{6 * \varphi}{db}$$
$$a = \frac{6 * 0,718}{75,5 \text{ m}}$$
$$a = 0,057 \text{ m}^{-1}$$

3.2.5. Resultados

3.2.5.1. Resultados de la caracterización

a. Caracterización de la levadura

Los resultados macroscópico y microscópico se exponen en la tabla 11-3, la cual indica el análisis macroscópico de tipo sensorial como es el olor, color y sabor, mientras que en el microscopio se realizó una tinción Gram con naranja de acridina.

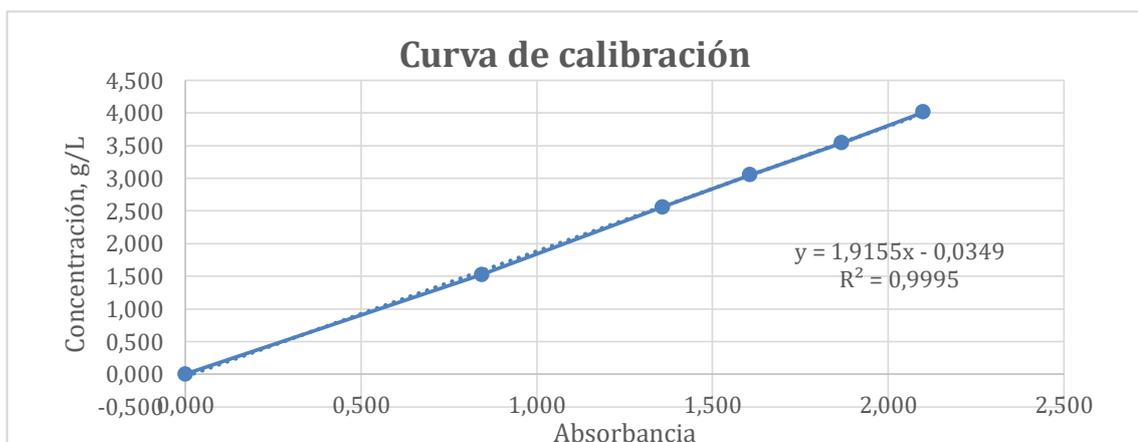
Tabla 11-3 Análisis macroscópico y microscópico de la levadura *S. cerevisiae*.

<i>Análisis</i>	<i>Resultado</i>
Olor	Tipo fermentado característico a la levadura
Color	Blanco hueso
Sabor	Característico a levadura
Naranja de acridina	Positivo para levadura

Realizado por: Mario Franco. 2019.

b. Análisis de previo de la melaza y longitud de onda de la levadura

En el sembrado en PCA realizado a la melaza, revelaron carga de microbiana, anexo D, y en el proceso de filtrado se encontraron pequeñas partículas, indicando impureza. En el barrido realizado al medio que contenida levadura a diferentes concentraciones, Se obtuvieron los siguientes valores, anexo E, con ello se realizó la curva de calibración, gráfica 4-3.

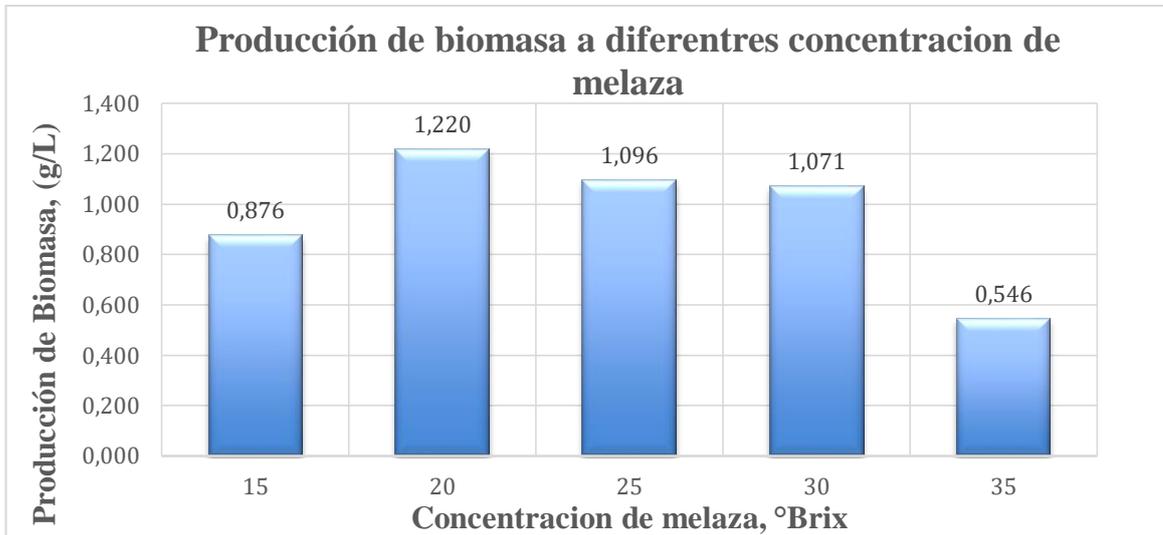


Gráfica 4-3 Indica la curva de calibración a una longitud de onda de 610nm

Realizado por: Franco, Mario, 2019.

3.2.5.2. Resultados a escala laboratorio

Los resultados obtenidos con las diferentes concentraciones de melaza (15, 20, 25, 30 y 35) ° Brix, como se indican en la gráfica 5-3 y se detallan en el anexo F. Donde se tomaron los valores máximos de concentración de biomasa en cada tratamiento.

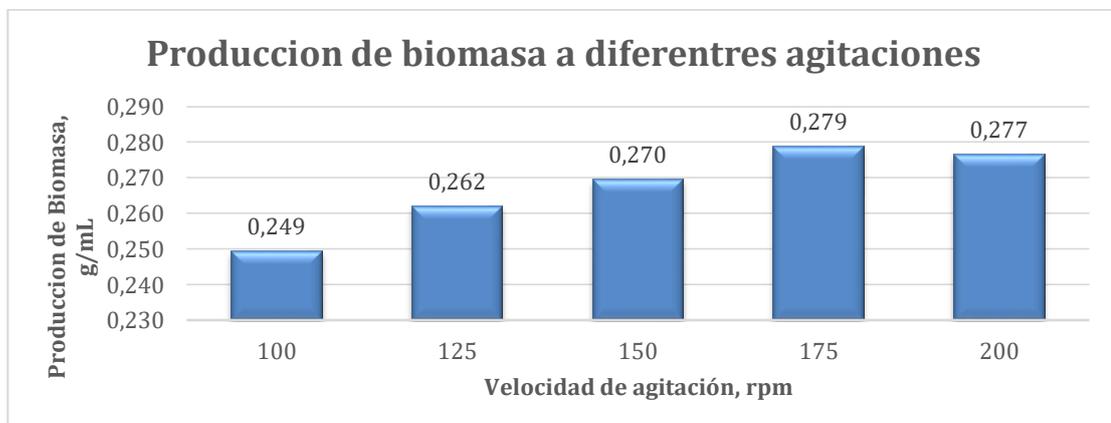


Gráfica 5-3 Indica la producción de biomasa (g/L) con respecto a la concentración de melaza (15, 20, 25, 30, 35) °Brix.

Realizado por: Franco, Mario, 2019.

3.2.5.3. Resultado a escala prototipo

En la gráfica 6-3, se indica los resultados de velocidad de agitación (100, 125, 150, 175 y 200) rpm donde se tomó los puntos máximos en cada tratamiento, el análisis estadístico más detallado se indica en los anexos C.



Gráfica 6-3 Producción de biomasa (g/mL) con relación a las diferentes velocidades de agitación (100, 125, 150, 175 y 200) rpm en el prototipo de 20 Litros.

Realizado por: Mario Franco, 2019.

3.2.5.4. Resultado de las características fisicoquímicas y microbiológicas de la biomasa obtenida y comparación con la norma colombiana (NTC-1807, 2004).

En la tabla 12-3, se muestran los valores fisicoquímicos de la levadura obtenida en el prototipo mecánico de 20 litros con una concentración de melaza de 20 °Brix y 175 rpm.

Tabla 12-3 Resultados fisicoquímico de la levadura obtenida.

<i>Variables</i>	<i>Resultados Obtenidos</i>
Materia seca, en %	36,67
Proteínas en base seca, en % (N x 6,25)	30,59
Fósforo como P2O5 en base seca, en %	30
pH solución al 10 %	5,32
Cenizas en base seca, en %	3,28
Porcentaje de células vivas	94.5

Fuente: SaQMIC, 2019

En la tabla 13-3 los valores microbiológicos de la levadura obtenida en el prototipo mecánico de 20 litros con una concentración de melaza de 20 °Brix y 175 rpm.

Tabla 13-3 Resultados microbiológico de la levadura obtenida.

<i>Variables</i>	<i>Resultados Obtenidos</i>
<i>E. Coli/g</i>	Negativo
<i>Salmonella/50 g</i>	Negativo
Mohos/g	Negativo
NMP Coliformes/g	Negativo

Fuente: SaQMIC, 2019

La tabla 14-3, se realiza la comparación de la levadura obtenida con los estándares permisibles de la norma colombiana (NTC-1807, 2004), en los parámetros fisicoquímicos.

Tabla 14-3 Comparación fisicoquímico de la levadura obtenida con la norma (NTC-807, 2004).

Requisitos	Porcentaje, Norma (%)	Porcentaje, Obtenida (%)
Materia seca, en %	30 min.	36,67
Proteínas en base seca, en % (N x 6,25)	30 min.	30,59
Fósforo como P2O5 en base seca, en %	1,5 min.	30
pH solución al 10 %	3,5 min.	5,32
Cenizas en base seca, en %	5 máx.	3,28
Porcentaje de células vivas	90 min.	94.5

min= rango mínimo de calidad
máx.= rango máximo de calidad

Realizado por: Mario Franco, 2019.

La tabla 15-3, se realiza la comparación de la levadura obtenida con los estándares permisibles de la norma colombiana (NTC-1807, 2004), en los parámetros microbiológicos.

Tabla 15-3 Comparación microbiológico de la levadura obtenida con la norma (NTC-1807, 2004).

Requisitos	Límite máximo (Norma)	Límite (Obtenido)
<i>E. Coli</i> /g	Negativo	Negativo
<i>Salmonella</i> /50 g	Negativo	Negativo
Mohos/g	< 100	Negativo
NMP Coliformes/g	30	Negativo

Realizado por: Mario Franco, 2019.

3.2.5.5. Dimensiones del BIOREACTOR

En la tabla 16-3, se señala los valores para el diseño del BIOREACTOR el cual tendrá una capacidad de 61 litros de producción y genera 18 kg de levadura para panificación.

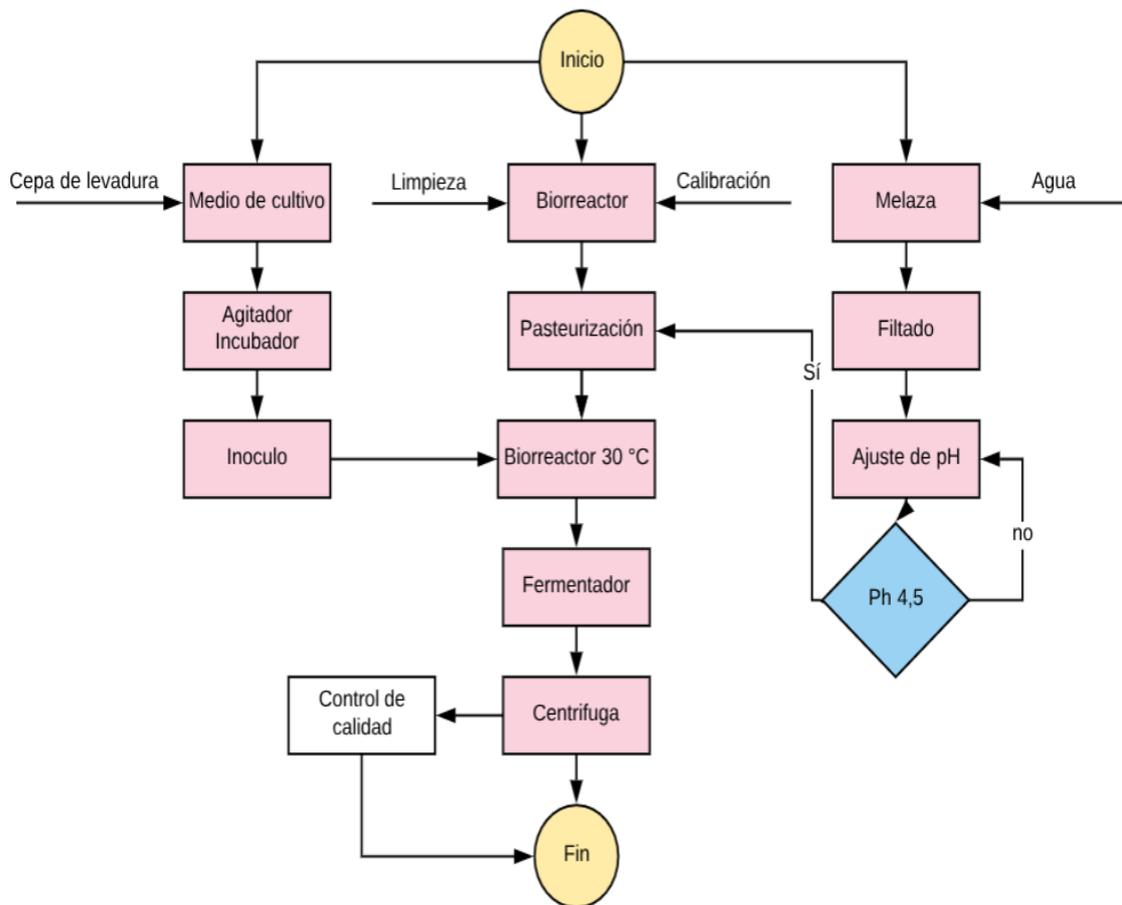
Tabla 16-3 Geometría del BIOREACTOR y accesorios

<i>Variables</i>	<i>Valor</i>	<i>Unidad</i>
Tanque		
Altura tanque	67	cm
Diámetro tanque	38	cm
Radio chaqueta	3,8	cm
Agitación		
Altura aspas	2,6	cm
Ancho aspas	3,3	cm
Ancho deflector	3,8	cm
Distancia tanque-reflector	0,8	cm
Diámetro aspas	13	cm
Distancia fondo-Aspa	13	cm
Aireación		
Número de orificio	6	-
Diámetro del orificio de aireación	3	mm
Diámetro del tubo de aireación	1/4	in
Otros		
Motor	0,25	Hp
Compresor	< 800	Bar

Realizado por: Mario Franco, 2019.

3.3. Proceso de Producción

El proceso que debe aplicar la empresa panificadora debe ser el señalado en la gráfica 7-3, el cual muestra en un diagrama de flujo todo el proceso.



Gráfica 7-3 Diagrama de proceso para la producción de 18 kg de levadura para panificación en el BIOREACTOR de 61 litros.

Realizado por: Mario Franco, 2019

3.4. Requerimientos de tecnología, equipos y maquinaria.

Al ser un proceso nuevo para la empresa carece de equipos y maquinaria para la producción de levadura los cuales están indicado y su aplicación en la producción en la tabla 17-3.

Tabla 17-3 Requerimientos de tecnología, equipos y maquinaria.

<i>Materiales</i>	<i>Aplicación</i>
Proceso	
BIOREACTOR	Equipo para producir levadura por un proceso de fermentación
Filtrador Melaza	Separador de las impurezas de la solución de melaza
Filtrador Producto	Separador de la levadura de medio de cultivo residual

Compresor	Fuente de oxígeno del medio de cultivo
Laboratorio	
PH metro	Para controlar la acidez del medio de cultivo para la fermentación
Balanza Analítica	Para los pesajes de insumos para el medio de cultivo
Cristalería	Toma de muestras del fermentador, preparar soluciones y para el control de calidad
Agitador Incubador	Para preparar el inculo
Materiales plásticos	Para las mediciones volumétricas en la preparación del medio

Realizado por: Mario Franco, 2019.

3.5. Análisis de Costo/Beneficio del proyecto

Para el análisis financiero solo se tomó en cuenta la capacidad de producción del BIOREACTOR el mismo que puede cubrir la demanda diaria de la empresa. Llegando a generar 18 kg/día.

3.4.1. Inflación

Para el análisis financiero se tomó en cuenta la inflación que el país ha tenido en los últimos años (2010-2018), indicado en la tabla 18-3, y con ello se realizó una proyección para los años futuros, llegando a tener un pronóstico del valor de la materia prima e insumos que se utiliza (BCE, 2019, pp-2-3)

Tabla 18-3 Inflación del país desde el 2010-2018

<i>Año</i>	<i>Inflación (%)</i>
2010	3,33
2011	5,41
2012	4,16
2013	2,7
2014	3,67
2015	3,38
2016	1,12

2017	-0,2
2018	0,39

Fuente: BCE, 2018

Realizado por: Mario Franco 2019

Con estos datos se aplicó el método de incremento porcentual para calcular una proyección de la inflación en los próximos años, la misma que fue de 2,66 %.

Para este proyecto se tiene estipulado un tiempo de 5 años, se tomar la misma inflación para cada año.

3.4.2. Costo del equipo

Para tener un promedio del precio que tendría la construcción de prototipo mecánico, se llevaron las dimensiones, detalladas en el capítulo IV, se 5 talleres aledaños a la ciudad de Riobamba, y se procedió a promediar el valor, el mismo que fue de \$2 353 dólares americanos.

3.4.3. Otros equipos

Para el funcionamiento óptimo del equipo y de la calidad del producto se necesita otros materiales como pH metro, balanza analítica, agitador incubador y un sistema de filtración para melaza y del producto final.

Para los dos equipos de filtración la empresa ya cuenta con los precios, el filtrador de melaza para 20 litros de solución \$ 730, mientras que para el filtrador del medio que tiene la capacidad de filtrar 5 L/min \$ 3 750.

3.4.4. Egresos

3.2.4.1. Precio de materiales y equipos

Al ser un proyecto totalmente diferente a lo que la empresa está relacionada, se tomó en cuenta materiales para medición tanto másico, como volumétrico que son los materiales de vidriería y plástico, señalado en la tabla 19-3.

Tabla 19-3 Precio, vida útil y depreciación anual de materiales y equipos.

<i>Materiales</i>	<i>Unidad</i>	<i>Precio</i>	<i>Total</i>	<i>Vida útil</i>	<i>Depre. Anual</i>
BIOREACTOR	1	2353	2353	12	196,08
Filtrador Melaza	1	730	730	12	60,83
Filtrador Producto	1	3750	3750	12	312,50
PH metro	2	80	160	5	32,00
Balanza Analítica	1	320	320	10	32,00
Cristalería	3	57	171	5	34,20
Agitador Incubador	1	423	423	10	42,30
Materiales plásticos	5	32	160	5	32,00
Compresor	1	300	300	5	60,00
infraestructura	1	3200	3200	25	128,00
Total (dólares)			11567		929,92

Realizado por: Mario Franco, 2019.

3.2.4.2. Abono a capital

Al ser el Proyecto Financiado 100 %, por la empresa y no hay interés por prestamista, se dividió la deuda en los 5 años que tiene como plazo el proyecto, como se indica en la tabla 20-3.

Tabla 20-3 Abono a capital

<i>Año</i>	<i>Cuota</i>	<i>Saldo</i>
0		11567
1	2313,4	9253,6
2	2313,4	6940,2
3	2313,4	4626,8
4	2313,4	2313,4
5	2313,4	0

Realizado por: Mario Franco, 2019.

3.2.4.3. Gastos de producción

Al haber hechos los análisis en un prototipo mecánico y ubicado en la empresa, se pudo hacer una estimación de los gastos que la producción de levadura generaría, como se muestra en la tabla 21-3. En donde se tomaron en cuenta los gastos de luz en el proceso (equipo y alumbrado), gasto de

agua (proceso y limpieza) y mantenimiento, donde se tomaron en cuenta en mantenimiento del equipo y aseo.

Tabla 21-3 Gastos de producción

<i>Detalle</i>	<i>Años</i>				
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Electricidad (KW/h)	1008,00	1034,81	1062,34	1090,60	1119,61
Agua	2000,00	2053,20	2107,82	2163,88	2221,44
Mantenimiento	2120,00	2170,20	2251,82	2283,88	2341,44
Total	5128,00	5258,21	5421,97	5538,36	5682,49

Realizado por: Mario Franco, 2019.

3.2.4.4. Salario

Para la producción de levadura se requiere un técnico-operario para el control de calidad del producto, y de la producción señalado en la tabla 22-3.

Tabla 22-3 Presupuesto anual del técnico

<i>Concepto</i>	<i>frecuencia</i>	<i>Año 1</i>	<i>Año 2</i>	<i>Año 3</i>	<i>Año 4</i>	<i>Año 5</i>
Salario acorde	mensual	800	810	820	830	840
IESS Empleado	mensual	75,6	76,545	77,49	78,435	79,38
Salario para recibir	mensual	724,4	733,455	742,51	751,565	760,62
Décimo Tercero	anual	800	810	820	830	840
Décimo Cuarto	anual	544,00	550,80	557,60	564,40	571,20
Total	Anual	10036,80	10162,26	10287,72	10413,18	10538,64

Realizado por: Mario Franco, 2019.

3.2.4.5. Materia prima e insumos

En la siguiente tabla 23-3, se muestra los insumos para la elaboración de levadura, sus respectivos precios y los pronósticos de sus precios para los próximos 5 años.

Tabla 23-3 Precios de la materia prima actual y pronóstico para los próximos 5 años.

Inflación	2,66%	Año 1		Año 2		Año 3		Año 4		Año 5	
Sustancias	Cant. (Kg)	Valor (kg)	Precio								
N Inorgánico	46	0,240	11,002	0,246	11,295	0,253	11,595	0,260	11,903	0,267	12,220
Cloruro	19	0,200	3,705	0,205	3,804	0,211	3,905	0,216	4,009	0,222	4,116
cobre	2	3,600	5,803	3,696	5,957	3,794	6,115	3,895	6,278	3,999	6,445
Calcio	2	1,360	2,597	1,396	2,666	1,433	2,737	1,471	2,810	1,511	2,885
Zinc	2	4,000	6,728	4,106	6,907	4,216	7,090	4,328	7,279	4,443	7,473
Manganeso	2	5,000	9,154	5,133	9,398	5,270	9,648	5,410	9,904	5,554	10,168
Magnesio	2	6,000	11,406	6,160	11,709	6,323	12,020	6,492	12,340	6,664	12,668
Fósforo	61	8,000	490,560	8,213	503,609	8,431	517,005	8,656	530,757	8,886	544,875
Hierro	2	0,700	1,349	0,719	1,385	0,738	1,422	0,757	1,460	0,778	1,498
N orgánico	38	0,060	2,304	0,062	2,366	0,063	2,428	0,065	2,493	0,067	2,559
Antiespumante	0,5	1,5	0,750	1,540	0,770	1,581	0,790	1,623	0,811	1,666	0,833
Melaza	7600	0,040	304,000	0,041	312,086	0,042	320,388	0,043	328,910	0,044	337,659
Total (dólares)		849,36		871,95		895,14		918,96		943,40	

Donde N* indica el nitrógeno requerido para la formación del medio de cultivo en la producción de levadura.

Realizado por: Mario Franco, 2019.

3.2.4.6. Egreso Total

En la tabla 24-3, se muestra todos los egresos estimados en los 5 años que durará el proyecto.

Tabla 24-3 Precios de la materia prima actual y pronóstico para los próximos 5 años.

Variables	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5
Materiales e insumos	849,36	871,95	895,14	918,96	943,40
Gastos de Producción	5128,00	5258,21	5421,97	5538,36	5682,49
Depreciación	929,92	929,92	929,92	929,92	929,92
Abono a Capital	2313,4	2313,4	2313,4	2313,4	2313,4
Salario	10036,80	10162,26	10287,72	10413,18	10538,64
Total	19257,47	19535,74	19848,15	20113,82	20407,85

Realizado por: Mario Franco, 2019.

3.4.5. Ingresos totales

Para el análisis del ingreso se tomó la capacidad de producción (15 kg/día), proyectando a una escala de producción semanal y mensual, valorando el producto al precio que la empresa lo adquiere y se realizando así, los cálculos monetario-mensuales y anuales para los próximos 5 años, indicado en la tabla 25-3.

Tabla 25-3 Ingreso total por la producción de levadura en los próximos 5 años.

Meses	Día/Mes	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5
Enero	30	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00
Febrero	30	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00
Marzo	30	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00
Abril	30	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00
Mayo	30	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00
Junio	30	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00
Julio	30	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00
Agosto	30	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00
Septiembre	30	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00

Octubre	30	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00
Noviembre	30	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00
Diciembre	30	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00	2430,00
Total, ton de fruta de pan		29160,00	29160,00	29160,00	29160,00	29160,00
Precio de la levadura (Kg)				4,5		
Capacidad de producción Kg mensual				540		
Capacidad de producción Kg semana				126,00		
Cantidad de producción Kg-día				18,00		
Tiempo de Producción				14 horas		

Realizado por: Mario Franco, 2019.

3.4.6. Análisis del B/C, VAN y TIR.

Para realizar el análisis de los indicadores del proyecto se calculó el flujo neto, el mismo que se detalla en la tabla 26-3, y llegando a calcular los valores del B/C, VAN y TIR en la tabla 27-3.

Tabla 26-3 Flujo neto del proyecto

<i>Año</i>	<i>Ingresos</i>	<i>Egresos</i>	<i>Flujo Neto Actual</i>
0			-11567
1	29160,00	19257,47	9902,53
2	29160,00	19535,74	9624,26
3	29160,00	19848,15	9311,85
4	29160,00	20113,82	9046,18
5	29160,00	20407,85	8752,15
Ingreso total por el proyecto			46636,97

Realizado por: Mario Franco, 2019.

Tabla 27-3 Valores del B/C, VAN y TIR

VAN	\$26.998,42
TIR	79%
B/C	1,47

Realizado por: Mario Franco, 2019.

3.6. Cronograma del proyecto

Tabla 28-3 Cronograma ejecutado para la elaboración de este proyecto

ACTIVIDAD	TIEMPO																											
	1° mes				2° mes				3° mes				4° mes				5° mes				6° mes							
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
Revisión bibliográfica	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Caracterización de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y análisis de la melaza			■	■																								
Obtención de las variables de producción de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>					■	■	■	■																				
Diseño del BIOREACTOR									■	■	■	■	■															
Validación del proceso de obtención de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>													■	■														
Elaboración y Corrección de Borradores, Tipiado del trabajo final																	■	■	■	■	■	■						
Empastado y presentación del trabajo final																					■	■						
Auditoría académica																						■	■					
Defensa del trabajo																												■

Realizado por: Mario Franco, 2019.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para el proceso de caracterización de la cepa, se utilizó una levadura fresca de tipo comercial, normalmente empleada por la empresa para su producción diaria, aplicando la norma (NMX-F-056, 1962, p.1), de análisis macroscópicos – organolépticos. En el análisis de olfativo se comprobó que la cepa cuenta con el olor de fermentado característico de la levadura, en la variable visual se observó el color blanco hueso propio levadura sin mancha de ningún tipo, para la variable sabor el resultado fue el indicado para levadura. En el análisis microscópico realizado a la levadura resultó positivo con una forma estilo elíptica y alargada, como indica la tabla 14-3. La levadura que utiliza la empresa es de origen colombiano y según la norma (NTC-1807, 2004, p.4), a la levadura se le debe aplicar métodos para que no gane ninguna impureza que pueda deteriorar al microorganismo, ocasionando alteraciones en la misma que puede ser observados de manera macroscópicas y microscópica. (Duarte, 1995, pp.377-378), indica que una de las maneras más común de contaminación de la levadura es por la variable temperatura, en la pasteurización cuando no se cumplen los tiempos de variación térmica y en el almacenamiento cuando hay averías o cortes de luz en el área de enfriamiento permitiendo así que se proliferen microorganismos como moho.

Al sembrar la melaza en el medio PCA, hubo crecimiento microbiano por lo que se realizaron las recomendaciones de Duarte (1995, p.371), Ítem 3.3.1.5, un calentamiento de 100 hasta 121°C en 26 minutos y un enfriamiento desde 121 hasta 100°C en 18 minutos para poder esterilizar el medio. Mientras que en la filtración se obtuvieron pequeñas partículas, llegando a verificar lo que indica Armas (2006, p.24), la melaza al disolverse requiere una filtración ya que cuenta con pequeñas impurezas. En el análisis de la longitud de onda se observó que el punto representativo oscila entre 500 y 700 nm, en ese rango se formó una curva creciente hasta los 610 nm, que desciende por ello se tomó la longitud de onda de 610 nm. La misma que se aproxima al trabajo realizado por Páez & Guerra (2011: p.68). que fue de 600 nm, sin embargo NTC-1807 (2004, p.13), propone una longitud de onda de 700 nm y Muñoz & Catrilaf (2013: p.4), una longitud de 540 nm.

Para la evaluación de los datos obtenidos por las diferentes concentraciones de melaza (15, 20, 25, 30, 35) °Brix, cada muestra empezó con una concentración de 0,12 g/L de biomasa, el tiempo de duración de cada análisis fue de 20 horas. Se aplicó una estadística descriptiva, el mayor valor se alcanzó a 20 °Brix, con un valor medio de biomasa de 1,22 g/L, con una desviación estándar de 0,0037 g/L y un error típico de 0,0011 g/L, como indica la gráfica 5-3 y la que obtuvo la más baja producción fue la de 35 °Brix con una media de producción de biomasa de 0,54 g/L, un error típico de 0,0022 g/L y una desviación de 0,0039 g/L, los datos más detallados se encuentran en el

anexo D y en el anexo F. Fajardo & Sarmiento (2007: p.81), evaluó concentraciones de (10,20 y 30) °Brix donde el mejor resultado fue el de 20 °Brix con una producción de 2,98 g/L de biomasa, en un sistema sin aireación como el aplicado en este trabajo. La diferencia de los resultados alcanzado por este autor y expuesto aquí se debe a que tuvo la facilidad de un pequeño BIOREACTOR, mientras que en este trabajo adaptamos equipos para simular el proceso. Por otro lado (Armas, 2006, p.106), utilizó concentración de 30 °Brix en su trabajo, con un producción de 15,6 g/L de biomasa que resulto efectiva, ya que trabajo en un fermentador de tipo continuo. Duarte (1995, p.447), menciona que los microorganismos toleran una cierta concentración de azúcares, entre ellos se tiene el caso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Si bien es conocida como devoradora de azúcares, pero a una alta concentración ésta disminuye su velocidad de crecimiento.

Para determinar la agitación adecuada se aplicó una estadística descriptiva con relación a la producción de biomasa, El tratamiento que tuvo el mayor producción de biomasa fue la agitación de 175 rpm con un valor de 279 g/mL, con una desviación de 0,0032 g/mL y un error típico de 0,0018 g/mL y la agitación que tuvo la más baja producción fue la de 100 rpm que fue de 0,249 g/mL, como uno error típico de 0,0014 g/mL y desviación estándar de 0,0025 g/mL, como indica la gráfica 6-3, también detallados en el anexos E y en el anexo G. A pesar de que no se obtuvo una producción mayor a 0,3 g/mL como el obtenido por Páez & Guerra (2011: p.101), los resultados no se alejan demasiado, un problema que se tuvo con el prototipo mecánica creado para validar la producción de levadura fue el no contar con un sistema automatizado para regular la temperatura y se tuvo variación de hasta 3 °C en la etapa de fermentación. Otra variable que pudo haber intervenido es las aspas ya que se utilizó de tipo turbina sin ninguna inclinación. Se obtuvo una mayor producción de biomasa en relación con el sustrato en comparación con el trabajo de Armas (2006, p.147), el cual obtuvo 0,485 g de biomasa/g sustrato, mientras que en este trabajo se obtuvo 0,78 g de biomasa/ g de sustrato.

Las dimensiones de equipo, tabla 12-3, están ajustadas para abastecer la demanda de levadura que tiene la empresa que es de 18 Kg/día. Por motivo de construcción se aproximaron valores para facilitar la construcción, Caso especial el del motor que tuvo una aproximación extrema, esto se debe que en el mercado no se consigue motor menor a 0,25 HP, mientras que en el caso del compresor se optó por esa capacidad de presión, ya que el compresor utilizado para oxigenar al BIOREACTOR fue lo suficiente para el prototipo y no se notó un sobre esfuerzo del mismo ya que se prendía cada hora. A pesar, que el prototipo utilizado se ve de una manera no ergonómica, el diseño del BIOREACTOR para la empresa cumple con lo establecido en el Ítem 1.9.1. Se puede observar en los planos de este en el anexo F.

Para la validación de la levadura obtenida en el prototipo mecánico de 20 litros, se tomaron en cuenta los parámetros fisicoquímicos (tabla 14-3 y los parámetros microbiológicos (tabla 15-3), de la levadura obtenida y se comparó con los valores que debe cumplir la levadura (NTC-1807, 2004), En lo referido a los fisicoquímicos y microbiológicos, se confirma la calidad de la levadura obtenida para el consumo en el proceso de panificación para la empresa.

Debido a que la empresa va a implementar el BIOREACTOR y no se cuenta con todos los equipos de laboratorio, necesarios para obtener la levadura, la inversión inicial aumenta de 2 353 a 11 567 dólares americanos. Haciendo una proyección a 5 años tendría un valor anual neto de 26 998,42 dólares americanos, con una tasa interna de retorno de 79 % y un beneficio-costo de 1,47. Valores muy aceptables ya que la tasa mínima de retorno debe ser de 10 %, y el beneficio costo debe ser mayor a uno para que sea rentable. Por lo tanto, el proyecto es rentable.

CONCLUSIONES

- De acuerdo de los análisis macroscópico y microscópico, se determina que el microorganismo en estudio es una levadura.
- Con los análisis realizados a escala laboratorio y en el prototipo, se determinaron las variables de proceso para la producción de levadura de panificación, temperatura 30 °C, pH=4,5, oxigenación 15 L/min, agitación 175 rpm y concentración de melaza 20 °Brix.
- En los tratamientos a diferentes concentraciones de melaza realizados a escala laboratorio, el tratamiento que obtuvo mejor producción de biomasa es la de 20 °Brix y la que produjo menos levadura es la de 35 °Brix.
- De acuerdo con los cálculos de ingeniería se diseñó el BIOREACTOR con capacidad de 60,6 litros para generar 18 Kg/día de levadura, con un motor de 0,25 HP y un compresor de banda con capacidad de soportar una presión de 80 Bar.
- Se validó por análisis fisicoquímicos y microbiológicos según la norma colombiana “LEVADURA PARA PANIFICACIÓN” (NTC-1807, 2004), la levadura obtenida a escala laboratorio, donde se comprobó la calidad de producto y siendo apto para el consumo.

RECOMENDACIONES

- Realizar los mismos análisis a escala laboratorio con un sistema que tenga oxigenación para observar si se genera más levadura en tratamientos con (25, 30 y 35) °Brix.
- Trabajar con cubas de cuarzo o de vidrio en el espectrofotómetro uv-visible.
- Trabajar en un prototipo automatizado en las variables agitación, temperatura y oxigenación.
- Realizar la caracterización de la levadura de pocas semanas de haber sido producida.
- Para la pasteurización en el prototipo se debe ajustar bien los seguros de presión y cerrar las llaves de entrada y salida del equipo.
- El equipo debe ser construido por personal capacitado respetando los tiempos de pasteurización para evitar la proliferación de microorganismos no deseado.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilar, J.; et al. “Evaluación de la cinética de crecimiento de *saccharomyces cerevisiae* utilizando un medio de cultivo a base de melaza de caña y suero lácteo”. *Agroindustrial Science* [en línea], 2015, (Perú) 5(1), pp. 38-39. [Consulta: 20 de agosto 2018]. ISSN 2226-2989. Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/agroindscience/article/view/932>.

Arevalo, S. “Optimización de la producción del agente de biocontrol *Candida sake* (CPA-1)” [En línea] (tesis). (Doctorado) Universitat de Lleida, Lleida, España. 1998. pp. 32-33. [Consulta: 11 de septiembre 2018]. Disponible en: <https://repositori.udl.cat/handle/10459.1/63893>.

Armas, G. “Determinación de los Parámetros de Proceso, necesarios para el Diseño de un Fermentador Continuo, para obtener Levaduras de Panificación” [En línea] (tesis). (Titulación) Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador. 2006. pp. 24-147 [Consulta: 3 de septiembre 2018]. Disponible en: <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/12009>.

Arteaga, M. & Ramos, E. “Diseño y construcción de un BIOREACTOR para la obtención de una bebida energizante del suero de la leche”. [En línea] (Tesis). (Titulación) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2015. p. 39. [Consulta: 3 de septiembre 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4116/1/96T00293%20UDCTFC.pdf>.

Banat, I.M.; et al. “Lead (II) uptake during baker's yeast production by aerobic fermentation of molasses”. *Process Biochemistry* [en línea], 2003, England 38(14), pp. 1479-1480. [Consulta: 20 de agosto 2018]. ISSN 0032-9592. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032959203000232>.

Bekatorou, A.; et al. “Production of Food Grade Yeasts”. *Food Technol* [en línea], 2006, Grecia 44(3), pp. 407-408. [Consulta: 12 de noviembre 2018]. ISSN 1330-9862. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/254613445_Production_of_Food_Grade_Yeasts.

Colin, R. & Bjørn, K. *Biología Básica*. 2º ed. Zaragoza-España: 2006, pp.132-214. Crece 7.8% producción nacional de melazas de caña. [en línea]. México D.F.: Moncayo, C. & Galindo, L., 2016. p. 1. [Consulta: 26 de octubre 2018]. Disponible en: <https://www.zafranet.com/2016/07/crece-7-8-produccion-nacional-de-melazas-de-cana/1/5>.

Cuzens, J.C. & Miller, J.R. “The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products”. *Biomass and Bioenergy* [en línea], 2002, Australia 10(23), pp. 286-287. [Consulta: 23 de agosto 2018]. ISSN 367–380. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/223381918_The_acid_hydrolysis_of_sugarcane_bagasse_hemicellulose_to_produce_xylose_arabinose_glucose_and_other_products.

Duarte, A. *Introducción a la Ingeniería Bioquímica* [en línea]. 2º ed. Santa Fe de Bogotá-Colombia: Instituto de Biotecnología. 1995. pp. 36-477. [Consulta: 23 de septiembre 2018]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/350121037/INTRODUCCION-A-LA-INGENIERIA-BIOQUIMICA-ALBERTO-DUARTE-TORRES-pdf>.

Durango, L. “Evaluación y escalamiento de la producción de levaduras nativas tipo *Saccharomyces spp.* A nivel de laboratorio” [En línea] (tesis). (Titulación) Universidad EAFIT, Medellín, Colombia. 2007. pp. 16-81. [Consulta: 3 de septiembre 2018]. Disponible en: https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/399/LauraPatricia_DurangoLondo%F1o_2007.pdf?sequence=1.

Fajardo, E. & Sarmiento, S. “Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*” [En línea] (tesis). (Titulación) Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia. 2007. pp. 21-121. [Consulta: 3 de octubre 2018]. Disponible en: <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis26.pdf>.

Fernández, G.; et al. “*Saccharomyces cerevisiae* en la fabricación del licor Cocuy”. *Microbiol* [en línea], 2003, Venezuela 23(1), pp. 3-5. [Consulta: 20 de noviembre 2018]. ISSN 1315-2556. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/52296667/En-cerevisiae-la-fabricacion-del-licor-del-Saccharomyces-cocuy>.

Gilces, P.; et al. “Estudio del uso de los nutrientes para la levadura en fermentación con el propósito de mejorar la producción del alcohol etílico” [En línea] (tesis). (Titulación) Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. 2006. pp. 23-43 [Consulta: 17 de junio 2018]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/737/1/975.pdf>.

Gómez, N.; et al. “Diseño de un método viable para la propagación de levadura (*saccharomyces cerevisiae*), en la producción de pan” [En línea] (tesis). (Titulación) Universidad Técnica Nacional Sede Universitaria de Atenas, Atena, Costa Rica. 2016. pp. 30-31. [Consulta: 21 de julio 2018]. Disponible en:

[http://repositorio.utn.ac.cr/bitstream/handle/123456789/120/Leo%20Oscar y Natalia Diseño de un método viable para la propagación de levadura%2C%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.utn.ac.cr/bitstream/handle/123456789/120/Leo%20Oscar%20y%20Natalia%20Dise%C3%B1o%20de%20un%20m%C3%A9todo%20viable%20para%20la%20propagaci%C3%B3n%20de%20levadura.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

González, L.; et al. “Influencia de diferentes factores en el crecimiento de bacterias endófitas de caña de azúcar”. *Revista Colombiana de Biotecnología* [en línea], 2016, Colombia 17(2), pp. 5-6. [Consulta: 28 de noviembre 2018]. ISSN 0123-3475. Disponible en:

<https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/54293>.

Held, P. *Monitoring Growth of Beer Brewing Strains of Saccharomyces cerevisiae*. [en línea]. E.E.U.U. 2010. p. 4. [Consulta: 11 de agosto 2018]. Disponible en:

<https://www.biotek.com/resources/application-notes/monitoring-growth-of-beer-brewing-strains-of-saccharomyces-cerevisiae-the-utility-of-synergy-h1-for-providing-high-quality-kinetic-data-for-yeast-growth-applications/>.

Holman, J. *Transferencia de calor* [en línea]. 10ª ed. México D.F. McGraw. .1999. pp. 483-603 [Consulta: 16 de septiembre 2018]. Disponible en:

<https://fenomenosdetransporte.files.wordpress.com/2008/10/transferencia-de-calor-holman.pdf>.

Inflación [en línea]. Quito-Ecuador: Banco Central del Ecuador. 2018. [Consulta: 20 de diciembre 2018]. Disponible en: [https://www.bce.fin.ec/index.php/component/k2/item/311-inflación](https://www.bce.fin.ec/index.php/component/k2/item/311-inflaci%C3%B3n).

INEC. *Encuesta Anual de Manufactura y Minería*. [en línea] Quito-Ecuador. 2013. pp. 30-350. [Consulta: 21 de junio 2018]. Disponible en:

http://www.inec.gob.ec/inec/index.php?option=com_content&view=article&id=134.

Lideres. *El pan continúa como el preferido*. [en línea]. Quito-Ecuador. 2018. p. 1. [Consulta: 21 de junio 2018]. Disponible en: <https://www.revistalideres.ec/lideres/pan-preferido-consumo-economia-ecuador.html>.

Manovacia, N.; et al. “Evaluación del contenido de nutrientes y producción de biomasa en cepas de levadura colombianas y comerciales”. *Revista Facultad Nacional de Agronomía* [en línea], 2007, Colombia 61(2), p. 4544. [Consulta: 14 de noviembre 2018]. ISSN 4542-4553. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/262183525_Evaluacion_del_contenido_de_nutrientes_y_produccion_de_biomasa_en_cepas_de_levadura_colombianas_y_comerciales_Evaluation_of_the_nutrient_content_and_biomass_production_in_colombian_and_commercial_yeas.

Martínez, K.; et al. *Producción de invertasa y amilasa a partir de saccharomyces cerevisiae y aspergillus niger*. [en línea]. México D.F. 2013. pp. 2-4. [Consulta: 14 de noviembre 2018]. Disponible en:

https://www.academia.edu/22460682/PRODUCCIÓN_DE_INVERTASA_Y_AMILASA_A_PARTIR_DE_Saccharomyces_Cerevisiae_y_Aspergillus_Niger.

Mesas, J. & Alegre, M. “El pan y su proceso de elaboración”. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* [en línea], 2002, México 3(5), p. 3. [Consulta: 14 de noviembre 2018]. ISSN 1135-8122. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=72430508>.

Montoya, J. & Giraldo, G. “Physical-Chemical Characterization of Wheat Flour, Dough and Bread”. *Rev. Invest. Univ. Quindío* [en línea], 2010, Colombia 31(20), p. 3. [Consulta: 14 de noviembre 2018]. ISSN 29-35. Disponible en:

http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/bd5a_RIUQ2004.pdf.

Mouso, N.; et al. “Efecto combinado del cobre y pH inicial del medio de cultivo sobre la producción de lacasa y manganeso peroxidasa por *Stereum hirsutum* (Willd) Pers Exoenzymes”. *Rev Iberoam Micol* [en línea], 2003, Argentina (20), pp. 176-177. [Consulta: 6 de enero 2019]. ISSN 176-178. Disponible en:

<https://www.researchgate.net/publication/228838227>.

Muñoz, M. & Catrilaf, G. *Estimación de parámetros cinéticos de Saccharomyces cerevisiae en sistema de fermentación Batch bajo distintas condiciones de crecimiento* [en línea], Santiago de Chile-Chile, 2013. p. 4. [Consulta: 7 de julio 2018]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Miguel_Munoz_Flores/publication/257310255_Estimation_of_kinetic_parameters_of_Saccharomyces_cerevisiae_in_batch_fermentation_during_different_growth_conditions/links/00463524e576d9f2fc000000.pdf.

Nigam, P. & Singh, D. “Enzyme and microbial systems involved in starch processing”. *Tecnología de enzimas y microbios* [en línea], 1995, Irlanda del Norte 17(9), pp. 771-772. [Consulta: 6 de enero 2019]. ISSN 0141-0229. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/014102299400003A>.

NMX-F-056. *La levadura húmeda para panificación* [en línea], 1962.

NTC-1807. *Industria alimentaria-levadura para panificación* [en línea], 2004.

Páez, M. & Guerra, G. “Escalado de la producción industrial de levadura de panificación usando dos reactores modelo y un *BIOREACTOR* prototipo” [En línea] (tesis). (Titulación) Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador. 2011. pp. 11-101. [Consulta: 4 de mayo 2018]. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/5539/1/Gastón-Guerra.pdf>.

Pardá, C. *Fenómenos de Transporte* [en línea]. 2ª ed. México D.F. sd. 2007. p. 14. [Consulta: 28 de septiembre 2018]. Disponible en:
<https://ebuah.uah.es/dspace/bitstream/handle/10017/477/G.TRANSFERENCIADEMATERIAS-LÍQUIDO.pdf?sequence=6&isAllowed=y>.

Peña, C. & Arango, R. “Evaluation of ethanol production using recombinant strains of *saccharomyces cerevisiae* from sugar cane molasses”. *DYNA* [en línea], 2009, Colombia 76(159), pp. 153-161. [Consulta: 11 de noviembre 2018]. ISSN 0012-7353. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/262722741_Evaluation_of_ethanol_production_using_recombinant_strains_of_Saccharomyces_cerevisiae_from_sugar_cane_molasses.

Pérez, N.; et al. Influencia de las concentraciones iniciales de nitrógeno y carbono y de la velocidad de aireación sobre la producción de biomasa por *Saccharomyces cerevisiae*. *Tecnología Química* [en línea], 2001, Colombia 21(1), pp. 1-4. [Consulta: 11 de noviembre 2018]. ISSN 0253-9276. Disponible en:
<https://ar.masader.com/eds/detail?db=asn&an=18428644&isbn=02539276>.

Skoog, D.; et al. *Principios de análisis instrumental* [en línea]. 6°. México D.F.: Cervante Gonzales, Sergio, 2008. [Consulta: 12 de agosto 2018]. ISBN 9789706868299. Disponible en:
<https://www.tagusbooks.com/leer?isbn=9786074813906&li=1&idsource=3001>.

Soler, A. & Buitrago, G. "Evaluación de la transferencia de oxígeno en cultivos con lactococcus lactis empleando un sistema de fermentación con aireación externa". *Rev. Colomb. Biotecnol* [en línea], 2010. Colombia vol. 7(2), pp. 125-127. [Consulta: 22 de mayo 2018]. ISSN 0123-3475. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/18554>.

Suárez, C.; et al. "Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica". *Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar* [en línea], 2016, Cuba 50(1), pp. 20-23. [Consulta: 22 de mayo 2018]. ISSN 0138-6204. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223148420004>.

Toledo, J. "Elaboración de un plan de mercadeo para levadura seca en el mercado ecuatoriano" [En línea] (tesis). (Maestría) Universidad Andina Simón Bolívar sede Ecuador, Quito, Ecuador. 2008. pp. 14-50. [Consulta: 7 de junio 2018]. Disponible en: <http://repositorio.uasb.edu.ec/handle/10644/513>.

Valdivieso, C.; et al. Determinación del tamaño muestral mediante el uso de árboles de decisión. *INVESTIGACION & DESARROLLO* [en línea], 2017, Bolivia 1(11), p. 151. [Consulta: 28 de diciembre 2018]. ISSN 2518-4431. Disponible en: <https://ideas.repec.org/p/iad/wpaper/0311.html>.

Wagner, J.; et al. *Las Levaduras y sus productos derivados* [en línea]. Buenos Aire-Argentina: Universidad Nacional de Quilmes. 2010. pp. 17-38. [Consulta: 16 de septiembre 2018]. Disponible en: http://karin.fq.uh.cu/acc/2016/CIENCIAS_TECNICAS/032/New/Documentaci%C3%B3n/Parte%20I/Referencias/Libros%20y%20monograf%C3%ADas/Las%20Levaduras%20y%20sus%20productos%20derivados.pdf





a



b



c

NOTAS:	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:	 <p>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA ELABORADO POR: Mario Franco</p>	ANEXO A CARACTERIZACIÓN DE LA LEVADURA EN LABORATORIO.		
a. Análisis visual b. Análisis olfativo c. Análisis Gram en el microscopio	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		LÁM.	ESC	FECHA
			1	1:1	2019/02/01

<i>iónicos</i>				
<i>Componentes</i>	<i>Z_i</i>	<i>H_i 10⁻⁵ (m³/mol)</i>	<i>C_{il} 10⁻⁵ (mol/m³)</i>	<i>z_i²*H_i*C_{il}</i>
H+	1	-74	1000	-0,000074
NH4+	1	-72	0,001	-7,2E-11
Mg 2+	2	-31,4	6879	-0,000864
Mn 2+	2	-30,6	5778	-0,000707
Fe2+	2	-27,1	6977	-0,000756
Zn2+	2	-34,6	5895	-0,000816
Ca2+	2	-23,5	7879	-0,000741
SO42-	-2	25,3	58400	0,0059101
Cl-	-1	21	10	2,1E-07
OH-	-1	19,1	12	2,292E-07
H2PO4-	-1	103,7	1000	0,0001037
<i>No iónicos</i>				
<i>Componentes</i>	<i>Kj 10⁻⁵(m³/mol)</i>	<i>Cjl (mol/m³)</i>	<i>KJ*Cjl</i>	
Glucosa	11,9	43,56	0,0051836	
Sacarosa	149	92,4	0,137676	

a

<i>Aplicación de la formula</i>		
$0,5 \sum (Z_i^2 * H_i * C_{il})$	$(\sum K_j * C_{jl})$	$0,5 \sum (z_i^2 * H_i * C_{il}) + \sum (K_j * C_{jl})$
0,001028094	0,14285964	0,143887734
Cal*o	0,25	mol/L
Cal*	0,17949	mol/L
% solubilidad		71,796

b

NOTAS:	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA ELABORADO POR: Mario Franco	ANEXO B CÁLCULO EN EXCEL DE LA SOLUBILIDAD DEL OXÍGENO.		
a. Tabla de los componentes iónicos y no iónicos con sus respectivas operaciones. b. Aplicación de la fórmula para el cálculo de la solubilidad del oxígeno en el medio	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		LÁM.	ESC	FECHA
			2	1:1	2019/02/01

Absorbancia (disolución de la muestra 1:25)

T	A	B	C	Promedio
T0	0	0	0	0,0000
2	0,846	0,844	0,84	0,8433
4	1,38	1,332	1,361	1,3577
6	1,593	1,625	1,605	1,6077
8	1,799	1,836	1,967	1,8673
9	2,121	2,127	2,052	2,1000

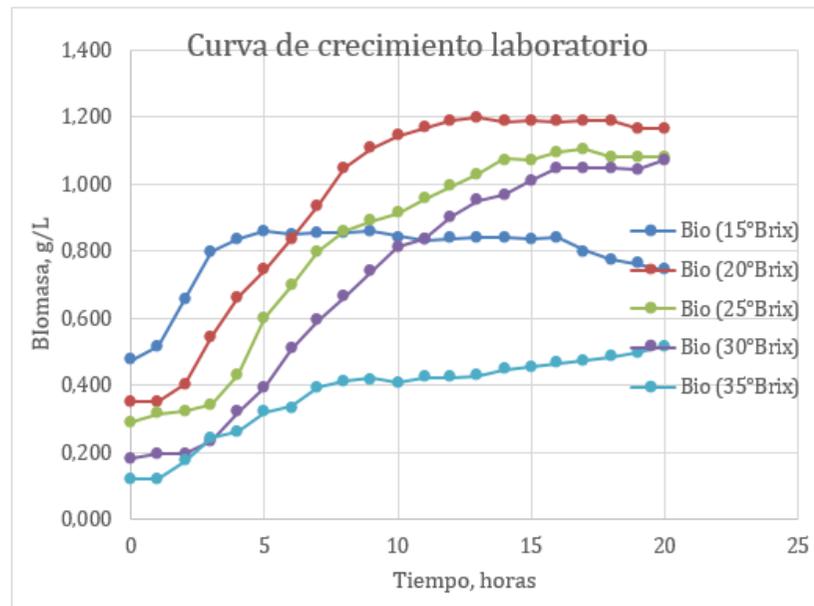
a

Concentración (disolución en 19 ml) mg/ml

Tratamiento	A (g)	B (g)	C (g)	Promedio
T0	0	0	0	0,0000
2	1,524	1,522	1,528	1,5247
4	2,557	2,555	2,561	2,5577
6	3,051	3,049	3,055	3,0517
8	3,538	3,536	3,542	3,5387
9	4,012	4,010	4,016	4,0127

b

NOTAS:	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA ELABORADO POR: Mario Franco	ANEXO C CURVA DE CALIBRACIÓN EN EXCEL DE LA LEVADURA A 610 NM.		
a. Absorbancia de las muestras con levadura. b. Concentración de la muestra con levadura.	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		LÁM.	ESC	FECHA
			3	1:1	2019/02/01



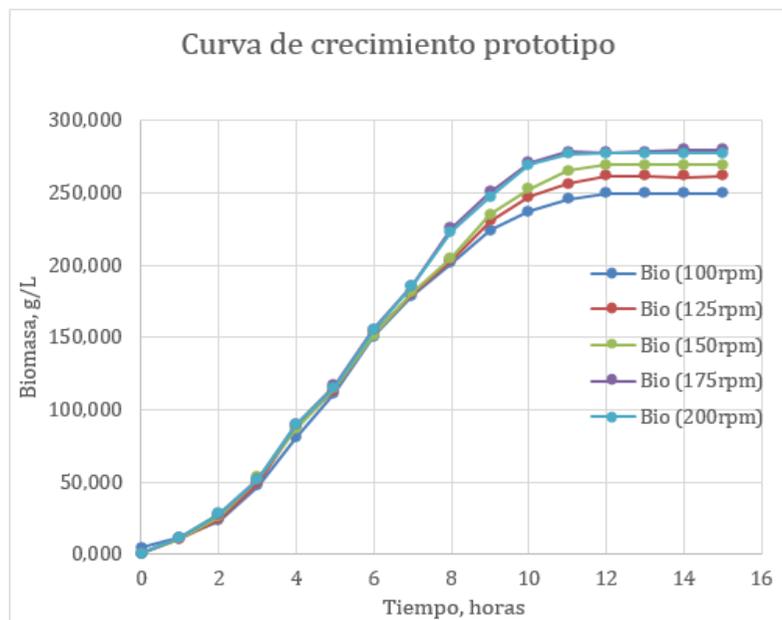
*Bio: producción de biomasa en el tratamiento

a

Tiempo	Bio g/L (15°Brix)	Bio g/L (20°Brix)	Bio g/L (25°Brix)	Bio g/L (30°Brix)	Bio g/L (35°Brix)
0	0,477	0,351	0,292	0,182	0,124
1	0,515	0,351	0,316	0,196	0,124
2	0,656	0,403	0,323	0,198	0,175
3	0,798	0,545	0,341	0,233	0,245
4	0,838	0,660	0,432	0,319	0,261
5	0,858	0,745	0,601	0,394	0,320
6	0,850	0,835	0,697	0,508	0,336
7	0,855	0,934	0,797	0,591	0,395
8	0,853	1,046	0,858	0,664	0,415
9	0,858	1,105	0,890	0,740	0,420
10	0,844	1,144	0,913	0,813	0,408
11	0,834	1,165	0,955	0,836	0,422
12	0,839	1,187	0,994	0,901	0,423
13	0,841	1,197	1,027	0,950	0,429
14	0,842	1,186	1,074	0,968	0,448
15	0,838	1,188	1,072	1,008	0,456
16	0,840	1,187	1,094	1,047	0,466
17	0,802	1,188	1,104	1,049	0,473
18	0,777	1,188	1,079	1,048	0,483
19	0,761	1,164	1,079	1,042	0,496
20	0,742	1,164	1,079	1,070	0,517

b

NOTAS:	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:	<p style="text-align: center;"> ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA ELABORADO POR: Mario Franco </p>	ANEXO D CURVA DE CRECIMIENTO EN EXCEL, DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS HECHOS EN EL LABORATORIO.		
a. Grafica de la curva de crecimiento con las diferentes concentraciones. b. Tabla de datos para la curva de crecimiento con las diferentes concentraciones.	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar			LÁM.	ESC
			4	1:1	2019/02/01



*Bio: producción de biomasa en el tratamiento

a

Tiempo	Bio g/L (100rpm)	Bio g/L (125rpm)	Bio g/L (150rpm)	Bio g/L (175rpm)	Bio g/L (200rpm)
0	4,486	0,401	0,398	0,408	0,413
1	11,682	10,630	11,185	11,752	12,335
2	22,721	24,034	25,992	27,521	28,012
3	47,485	49,121	52,517	52,410	52,258
4	80,298	88,148	86,554	89,005	89,246
5	111,264	113,111	114,727	116,604	115,688
6	150,417	152,516	151,912	155,371	154,689
7	178,904	180,366	181,190	185,723	185,567
8	201,382	203,028	205,036	225,197	223,245
9	223,761	230,600	234,838	250,772	247,531
10	237,057	247,332	252,911	270,680	269,653
11	245,298	256,134	265,844	278,867	276,757
12	249,333	262,005	269,668	278,070	277,367
13	249,260	261,919	269,619	278,513	277,491
14	249,255	260,916	269,065	279,426	277,343
15	249,302	261,292	269,551	279,204	277,347

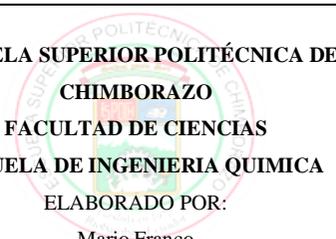
b

NOTAS:	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:	<p style="text-align: center;"> ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA ELABORADO POR: Mario Franco </p>	ANEXO E GRÁFICA Y DATOS DE CADA CURVA DE CRECIMIENTO EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS HECHOS EN EL PROTOTIPO.		
a. Grafica de la curva de crecimiento con las diferentes agitaciones. b. Tabla de datos para la curva de crecimiento con las diferentes agitaciones.	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		LÁM.	ESC	FECHA
					5

<i>15 °Brix</i>		<i>20 °Brix</i>		<i>25 °Brix</i>		<i>30 °Brix</i>		<i>35 °Brix</i>	
Media	0,876	Media	1,220	Media	1,096	Media	1,071	Media	0,546
Error típico	0,001	Error típico	0,002	Error típico	0,025	Error típico	0,002	Error típico	0,002
Mediana	0,876	Mediana	1,220	Mediana	1,092	Mediana	1,070	Mediana	0,547
Moda	#N/A	Moda	#N/A	Moda	#N/A	Moda	#N/A	Moda	#N/A
Desviación estándar	0,002	Desviación estándar	0,004	Desviación estándar	0,044	Desviación estándar	0,004	Desviación estándar	0,004
Varianza de la muestra	0,000	Varianza de la muestra	0,000	Varianza de la muestra	0,002	Varianza de la muestra	0,000	Varianza de la muestra	0,000
Coefficiente de asimetría	0,000	Coefficiente de asimetría	0,000	Coefficiente de asimetría	0,387	Coefficiente de asimetría	1,293	Coefficiente de asimetría	-1,293
Rango	0,004	Rango	0,008	Rango	0,087	Rango	0,008	Rango	0,008
Mínimo	0,874	Mínimo	1,216	Mínimo	1,054	Mínimo	1,068	Mínimo	0,541
Máximo	0,878	Máximo	1,223	Máximo	1,142	Máximo	1,075	Máximo	0,549
Suma	2,627	Suma	3,659	Suma	3,288	Suma	3,212	Suma	1,638
Cuenta	3,000	Cuenta	3,000	Cuenta	3,000	Cuenta	3,000	Cuenta	3,000
a									
NOTAS:		CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:		 <p>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA ELABORADO POR: Mario Franco</p>			ANEXO F ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA EN EXCEL DE LA PRODUCCIÓN MÁXIMA DE BIOMASA PARA CADA TRATAMIENTO EN LABORATORIO.		
a. Análisis estadístico de tipo descriptivo de la biomasa (g/L) en las concentraciones de (15, 20, 25, 30 y 35) °Brix obtenidos a escala laboratorio.		<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar					LÁM.	ESC	FECHA
							6	1:1	2019/02/01

<i>100 rpm</i>		<i>125 rpm</i>		<i>150 rpm</i>		<i>175 rpm</i>		<i>200 rpm</i>	
Media	0,249	Media	0,262	Media	0,270	Media	0,279	Media	0,277
Error típico	0,001	Error típico	0,001	Error típico	0,004	Error típico	0,002	Error típico	0,001
Mediana	0,249	Mediana	0,262	Mediana	0,269	Mediana	0,280	Mediana	0,276
Moda	#N/A	Moda	#N/A	Moda	#N/A	Moda	#N/A	Moda	0,276
Desviación estándar	0,003	Desviación estándar	0,002	Desviación estándar	0,007	Desviación estándar	0,003	Desviación estándar	0,001
Varianza de la muestra	0,000	Varianza de la muestra	0,000						
Coefficiente de asimetría	0,586	Coefficiente de asimetría	0,000	Coefficiente de asimetría	0,423	Coefficiente de asimetría	-1,545	Coefficiente de asimetría	1,732
Rango	0,005	Rango	0,004	Rango	0,014	Rango	0,006	Rango	0,002
Mínimo	0,247	Mínimo	0,260	Mínimo	0,263	Mínimo	0,275	Mínimo	0,276
Máximo	0,252	Máximo	0,264	Máximo	0,277	Máximo	0,281	Máximo	0,278
Suma	0,748	Suma	0,786	Suma	0,809	Suma	0,836	Suma	0,830
Cuenta	3,000	Cuenta	3,000	Cuenta	3,000	Cuenta	3,000	Cuenta	3,000

a

NOTAS:	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:	 <p>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA ELABORADO POR: Mario Franco</p>	ANEXO G ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA EN EXCEL DE LA PRODUCCIÓN MÁXIMA DE BIOMASA PARA CADA TRATAMIENTO EN EL PROTOTIPO.		
a. Análisis estadístico de tipo descriptivo de la biomasa (g/L) en las concentraciones de (100, 125, 150, 175 y 200) rpm obtenidos en el prototipo.	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		LÁM.	ESC	FECHA
					7



a



b



c

NOTAS:	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:	<p style="text-align: center;"> ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA ELABORADO POR: Mario Franco </p>			ANEXO H TRATAMIENTO DEL MEDIO DE CULTIVO PARA LA ESCALA LABORATORIO.		
a. Calibración del pH del medio de cultivo a 4,5. b. Medición de la conductividad. c. Esterilización del medio de cultivo.	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar				LÁM.	ESC	FECHA
		8	1:1	2019/02/01			



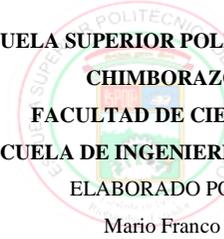
a



b



c

<p>NOTAS:</p>	<p>CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:</p>	<p style="text-align: center;">  ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA ELABORADO POR: Mario Franco </p>	<p>ANEXO I ANÁLISIS DE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE MELAZA (°BRIX) EN LABORATORIO.</p>		
<p>a. Agitación de cada tratamiento 130 rpm y 30 °C</p> <p>b. Toma de la muestra para medir la absorbancia</p> <p>c. Aforo a 20 ml de la muestra para medir la absorbancia</p>	<p> <input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar </p>		<p>LÁM.</p>	<p>ESC</p>	<p>FECHA</p>
		<p>9</p>	<p>1:1</p>	<p>2019/02/01</p>	



a



b



c

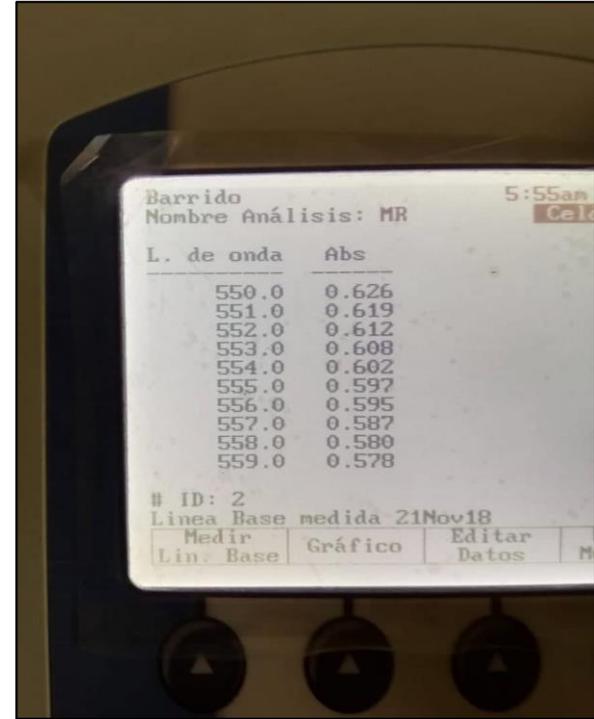
NOTAS:	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:	ANEXO J TRATAMIENTO DEL MEDIO DE CULTIVO PARA LA ESCALA LABORATORIO.		
a. Medición de los grados Brix y ajuste a 20 °Brix b. Medición del pH y ajuste a 4,5 c. Traspasado del medio de cultivo al prototipo	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA ELABORADO POR: Mario Franco		
		LÁM.	ESC	FECHA
		10	1:1	2019/02/01



a



b



c

NOTAS:	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:	<p style="text-align: center;">  ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA ELABORADO POR: Mario Franco </p>	ANEXO K MEDICIÓN EN EL ESPECTROFOTÓMETRO UV-VISIBLE (CÁLCULO DE LA LONGITUD DE ONDA).		
a. Toma de la muestra para la medición del barrido b. Colocación de la muestra en el espectrofotómetro uv-visible. c. Lecturas del barrido para cada longitud de 0-1100 nm	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		LÁM.	ESC	FECHA
			11	1:1	2019/02/01

EXAMEN BROMATOLOGICO Y MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS
CÓDIGO: 59-19

CLIENTE: Sr. Mario Franco
TIPO DE MUESTRA: Levadura
FECHA DE RECEPCIÓN: 13 de febrero del 2019
FECHA DE MUESTREO: 13 de febrero del 2019

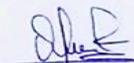
EXAMEN FÍSICO

COLOR: Característico
OLOR: Característico
ASPECTO: Homogéneo libre de material extraño

EXAMEN QUÍMICO

DETERMINACION	UNIDADES	METODO	RESULTADOS
Humedad	%	INEN 1235	63.33
Materia seca	%	INEN 1235	36.67
Ceniza	%	INEN 520	3.28
Proteína	%	INEN 1670	30.59
pH	Umd.	-	5.32
Fósforo	%	-	30.0
Escherichia Coli	UFC/ g	Siembra en placa	Ausencia
Coliformes totales	UFC/ g	Siembra en placa	Ausencia
Mohos	UFC/ g	Siembra en placa	Ausencia
Salmonella	UFC/ 25 g	Reveal 2.0	Ausencia

RESPONSABLE:



Dra. Gina Álvarez R.



El informe sólo afecta a la muestra solicitada a ensayo; el informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización de los responsables.

Dirección: Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes
Contactanos: 0998580374 - 032 942 322
Riobamba - Ecuador

NOTAS:	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA ELABORADO POR: Mario Franco	ANEXO L CERTIFICADO DE HABER HECHO LOS ANÁLISIS EN EL LABORATORIO		
	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		LÁM.	ESC	FECHA
a. Evidencia de haber realizado los análisis fisicoquímicos y microbiológicos en el laboratorio SAGMIC.			12	1:1	2019/02/01

NORMA TÉCNICA COLOMBIANA

NTC 1807

1982-12-01

INDUSTRIA ALIMENTARIA. LEVADURA PARA PANIFICACIÓN



E: FOOD INDUSTRY. YEAST FOR BREADMAKING

CORRESPONDENCIA:

DESCRIPTORES: industria de alimentos; levadura; panificación; levadura para panificación.

I.C.S.: 67.060

NOTAS:	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA ELABORADO POR: Mario Franco	Anexo M NORMA NTC 1807		
			LÁM.	ESC	FECHA
a. Norma técnica Colombiana para la industria alimentaria- levadura para panificación	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar		13	1:1	2019/02/01

NMX-F-056-1962. LEVADURA HÚMEDA PARA PANIFICACIÓN. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS.

1. DEFINICIÓN Y GENERALIDADES

1.1 Definición

Para los efectos de esta Norma, se entiende por "Levadura Húmeda para Panificación", el producto obtenido, a base de levaduras de fermentación alta, por procedimientos fabriles especiales.

1.2 Generalidades

Son masas húmedas constituidas por células vivas, al corte no deben presentar huecos, también puede presentarse como levadura seca.

1.2.2 Color

Deberán ser de un color blanco crema, no deberán presentar manchas ni hongos, hasta el momento de salida de la fábrica.

1.2.3 Sabor

Si se pone un poco de esta levadura en la boca, debe disolverse y tener un sabor característico del producto.

1.2.4 Olor

Característico de la levadura.

1.2.5 Conservación

Por ser un producto de fácil descomposición debe conservarse de preferencia en el refrigerador entre 2 y 4°C o en lugar fresco.

1.2.6 Usos

En la elaboración de pan para esponjar la masa por fermentación.

2. CLASIFICACIÓN Y ESPECIFICACIONES

2.1 Clasificación

Para los efectos de esta Norma, la levadura húmeda para panificación deberá ser de un sólo grado de calidad.

2.2 Especificaciones

NOTAS: a. Levadura húmeda para panificación. Normas mexicanas. Dirección general de normas.	CATEGORÍA DEL DIAGRAMA: <input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA ELABORADO POR: Mario Franco	Anexo N NMX-F-056		
			LÁM.	ESC	FECHA
			14	1:1	2019/02/01

