

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**  
**DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



**EFFECTO DEL TIPO DE REACTOR SOBRE LA PRODUCCIÓN DE  
ÁCIDO KÓJICO POR LA CEPA DE *ASPERGILLUS NIGER***

Por:

**ALEJANDRO MATA BAEZA**

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:**  
**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México  
diciembre, 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

EFFECTO DEL TIPO DE REACTOR SOBRE LA PRODUCCIÓN DE  
ÁCIDO KÓJICO POR LA CEPA DE *ASPERGILLUS NIGER*

POR:

ALEJANDRO MATA BAEZA

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como  
requisito para obtener el título de:  
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Aprobada por:



Dr. Armando Robledo Olivo  
Asesor Principal



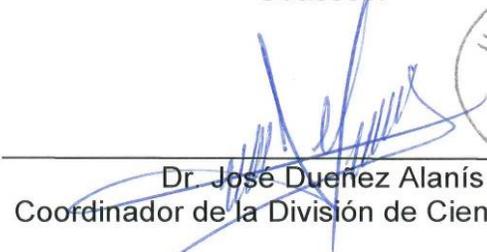
Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez  
Coasesor



Dra. Dolores Gabriela Martínez Vázquez  
Coasesor



M.C. Sarahí del Carmen Rangel Ortega  
Coasesor



Dr. José Duñez Alanís  
Coordinador de la División de Ciencia Animal



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

diciembre, 2021

## MANIFIESTO DE HONESTIDAD ACADÉMICA

El suscrito **Alejandro Mata Baeza**, alumno del programa docente de Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos, con número de matrícula **41164592** y autor de la presente tesis manifiesta que:

1. Reconozco que el plagio académico constituye un delito que está penado en nuestro país.
2. Las ideas, opiniones, datos e información publicadas por otros autores y que han sido incluidas en este trabajo, han sido debidamente citadas, reconociendo la autoría de la fuente original.
3. Toda la información consultada ha sido analizada e interpretada por el suscrito y redactada según su criterio y apreciación, de tal manera que no se ha incurrido en el “copiado y pegado” de dicha información.
4. Reconozco la responsabilidad sobre los derechos del autor de los materiales bibliográficos consultados por cualquier vía y manifiesto no haber hecho mal uso de ellos.
5. Entiendo que la función y alcance de mi comité de asesoría está circunscrito a la orientación de guía respecto a la metodología de investigación realizada para el presente trabajo, así como el análisis e interpretación de los resultados obtenidos. Por lo tanto, eximo de toda responsabilidad relacionada al plagio académico a mi comité de asesoría y acepto que cualquier responsabilidad al respecto es únicamente mía.

ATENTAMENTE



---

Alejandro Mata Baeza

Tesista

“No conozco ningún hecho más alentador  
que la incuestionable capacidad del  
hombre para dignificar su vida por  
medio del esfuerzo consciente.”

Henry David Thoreau

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a mi madre, por todo el apoyo brindado durante mi vida académica, tanto por el apoyo moral, como por el apoyo económico.

Agradezco infinitamente a mi ALMA TERRA MATER, por brindarme las herramientas necesarias para formarme como profesionista de pensamiento crítico, inquietud científica y corazón humanista.

Agradezco al Dr. Armando Robledo Olivo, por la oportunidad de trabajar bajo su tutela, por su disponibilidad y por las atenciones brindadas a lo largo del proyecto.

Agradezco al personal del Departamento de Ciencias Básicas, en especial a la Q.F.B. María del Carmen Julia García, por abrirme las puertas de su departamento durante la parte final de este proyecto. Siempre me consideraré hijo de Ciencias Básicas.

Agradezco a la M.C. Rosa María Paredes Camacho, por instruirme, apoyarme y brindarme material durante la fase de análisis de este proyecto.

Agradezco a la M.C. Tomasa Quiterio Gutiérrez, por instruirme dentro del laboratorio y por todo el material facilitado a lo largo de la fase experimental.

Agradezco a mi hermana Ximena Mata Baeza, por el apoyo brindado durante la finalización de este documento.

Agradezco a mi sobrino Nahum Eduardo Flores Mata, por su aportación a este proyecto con las imágenes diseñadas y cedidas.

Agradezco al cuerpo académico de Bioprocesos Agroalimentarios, a la Dra. Gabriela Martínez Vázquez, a la Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez y a la M.C. Sarahí del Carmen Rangel Ortega, por la revisión de este documento.

Agradezco a todas las personas de este país que con sus trabajos y sus oficios pagan mes con mes sus impuestos, gracias a su trabajo honesto me he formado como profesionista.

## DEDICATORIAS

### ***A mi mamá***

La culminación de este trabajo es solo la punta del iceberg de todo este largo proceso que hemos trabajado y forjado juntos. Eres la persona que siempre y que más ha creído en mí, has puesto tu tiempo, tu dinero, y tu esfuerzo para brindarme la más valiosa de las herencias que a un hijo se le puede dar, la educación y la preparación académica. Te dedico con todo mi amor y agradecimiento este trabajo, del cual tú hiciste la mayor parte. Nunca me cansare de decirlo: **“Soy el resultado de lo que una gran mujer quiso hacer de mí”**. Te amo, mamá.

### ***A mi familia***

Rosa, Pablo, Yahir, Nahum, Guadalupe, Christian, Andrea, Cecilia, Alma, Leonardo, Iván y Adelaida, este trabajo también es suyo por ser parte de este proceso, por su apoyo incondicional, por sus consejos y por revitalizarme cuando era el momento de regresar a casa. Tengo la bendición y la dicha de tener una familia unida, los amo.

### ***A mi hermana Ximena (Pochi)***

Te dedico este trabajo por tu apoyo durante estos tres últimos años de universidad, donde hemos trabajado codo a codo, siendo tu compañía trascendental para la consecución de este proyecto. “Rompe el ciclo, Morty. Sé mejor, enfócate en la ciencia”.

### ***A mi hermano David***

Te dedico este trabajo por tu apoyo, por tu amistad incondicional y porque has sido una de las personas que siempre ha creído en mis capacidades, gracias de corazón, viejo. “Más que un hermano, has sido un brother”, ja,ja.

### ***A mis maestros***

Le dedico con cariño este trabajo a la Q.F.B. María del Carmen Julia García y al M.C. Oscar Noé Reboloso Padilla, por el valioso conocimiento que me han transmitido y por hacerme disfrutar en mi estancia como estudiante.

### **A SERVESA A.C.**

Les dedico este trabajo a la empresa que me abrió las puertas durante un tiempo tan difícil y complicado para la humanidad, agradezco de corazón todo el apoyo brindado durante mi estancia.

### ***A mi universidad***

Les dedico este trabajo a todas las personas que forman parte de la universidad, a quienes con sus profesiones y oficios mueven el engranaje universitario para forjar profesionistas. Choferes, cocineros, guardias, secretarias, maestros, conserjes, laboratoristas, entre otros, muchas gracias por su trabajo.

### ***A Don Antonio Narro Rodríguez***

Le dedico este trabajo a Don Antonio Narro Rodríguez, agradeciéndole desde lo más profundo de mi ser todas las bondades que ha traído a mi vida el sueño que concibió hace más de cien años. Tu legado es mi sueño, estoy seguro que vida me faltara para corresponder todo lo que, por ti, a manos llenas se me ha entregado. Este trabajo, como todo lo trascendente que haga en mi vida, será siempre bajo tu nombre.

*Los momentos de felicidad y éxito en la vida deben compartirse con aquellos que fueron parte del proceso, del camino, de las tormentas y de los días soleados.*

***“El agradecimiento es la memoria del corazón”.***

# ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS .....	v
DEDICATORIAS .....	vi
ÍNDICE GENERAL.....	i
LISTA DE CUADROS .....	iv
LISTA DE FIGURAS .....	v
RESUMEN .....	vi
CAPÍTULO I .....	7
INTRODUCCIÓN .....	7
1.1. Objetivo .....	9
1.2. Objetivos específicos.....	9
1.3. Hipótesis.....	9
CAPÍTULO II.....	10
ÁCIDO KÓJICO.....	10
2.1. Descripción general del ácido kójico .....	10
2.2. Antecedentes del ácido kójico .....	11
2.3. Usos y aplicaciones del ácido kójico .....	11
2.4. Fuentes de obtención del ácido kójico.....	12
CAPÍTULO III.....	14
BIORREACTORES .....	14
3.1. Descripción general de los biorreactores.....	14
3.2. Principales tipos de biorreactores.....	15

3.2.1. Tanque de agitado .....	15
3.2.2. Reactor de transporte aéreo (AIRLIFT).....	17
CAPITULO IV .....	19
TRANSFERENCIA DE CALOR.....	19
4.1. Generalidades de la transferencia de calor .....	19
4.2. Transferencia de energía.....	20
4.3. Principio de conservación de la energía .....	21
4.5. Mecanismos de transferencia de calor .....	23
4.5.1. Conducción .....	23
4.5.2. Convección .....	25
CAPÍTULO V .....	27
ADITIVOS ALIMENTARIOS.....	27
5.1. Descripción general de los aditivos alimentarios .....	27
5.2. Antioxidantes .....	28
5.2.1. Tipos de antioxidantes .....	28
5.3 Potenciadores de sabor.....	29
5.3.1. Tipos de potenciadores de sabor .....	29
CAPITULO VI.....	30
Hongos filamentosos.....	30
6.1 Generalidades de los hongos filamentosos .....	30
6.2 Importancia biotecnológica de los hongos filamentosos.....	31
6.2.1. Cinética microbiana de hongos filamentosos .....	32
6.2.2. Síntesis de ácido kójico por hongos filamentosos.....	33
6.2.3. Aspergillus niger .....	34
MATERIALES Y MÉTODOS .....	36

Etapas del proyecto.....	36
Primera etapa.....	36
Segunda etapa.....	37
Tercera etapa.....	37
Cuarta etapa.....	37
Producción de ácido kójico.....	38
Determinación de ácido kójico.....	41
Determinación azúcares reductores por el método de DNS.....	42
Cuantificación de biomasa por espectrofotometría.....	43
Quinta etapa.....	45
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
Caracterización de biorreactores.....	46
Caracterización geométrica.....	46
Partes de los biorreactores.....	48
Transferencia de calor.....	49
Evaluación de cinéticas fermentativas.....	51
Cinética de fermentación para la síntesis de ácido kójico.....	51
CONCLUSIONES.....	58
REFERENCIAS.....	59
ANEXOS.....	65
Unidades empleadas.....	65
Cálculos de transferencia de calor.....	66

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 2.1. Microorganismos productores de ácido kójico.....	13
Cuadro 5.1 Antioxidantes utilizados en la industria alimentaria .....	28
Cuadro 5.2 Potenciadores de sabor utilizados en la industria alimentaria .....	29
Cuadro 8.1 Caracterización geométrica reactor estático sin luz .....	47
Cuadro 8.2 Caracterización geométrica reactor Airlift sin luz.....	47
Cuadro 8.3 Caracterización geométrica reactor estático con luz .....	47
Cuadro 8.4 Caracterización geométrica reactor Airlift con luz .....	47
Cuadro 8.5 Transferencia de calor en reactores sin luz.....	49
Cuadro 8.6 Transferencia de calor en reactores con luz.....	50
Cuadro 8.7 Parámetros estimados para los diferentes sistemas de biorreactores en la producción de ácido kójico .....	55
Cuadro 8.8 Análisis de varianza de los parámetros evaluados a través de un diseño factorial completo .....	56

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 2.1.</b> Estructura química del ácido kójico. ....	10
<b>Figura 3.1.</b> Reactor tanque de agitado. ....	16
<b>Figura 3.2.</b> Reactor de transporte aéreo. ....	17
<b>Figura 3.3.</b> Bucle interno. ....	18
<b>Figura 4.1.</b> Tipos de convección.....	25
<b>Figura 6.1.</b> <i>Aspergillus niger</i> .....	34
<b>Figura 7.1.</b> Reactor tanque estático sin luz. ....	36
<b>Figura 7.3.</b> Reactor de transporte aéreo sin luz. ....	37
<b>Figura 7.5.</b> Cinética fermentativa con luz. ....	38
<b>Figura 7.7.</b> Lavado de esporas.....	40
<b>Figura 7.9.</b> Montaje de cinética sin luz. ....	40
<b>Figura 7.11.</b> Muestreo. ....	40
<b>Figura 7.13.</b> Muestras filtradas. ....	44
<b>Figura 7.15.</b> Determinación de azúcares reductores. ....	45
<b>Figura 8.1</b> Partes del reactor Airlift. ....	48
<b>Figura 8.2</b> Partes del reactor estático.....	48
<b>Figura 8.3</b> Absorbancias de las biomasas registradas durante el proceso de fermentación en los reactores diseñados.....	52
<b>Figura 8.4</b> Consumo de sustrato durante la cinética de producción de ácido kójico en biorreactores con luz y en oscuridad.....	53
<b>Figura 8.5</b> Producción de ácido kójico durante los reactores con luz y aireación. ....	54
<b>Figura 8.6</b> Diagrama de Pareto de efectos estandarizados. ....	57

## RESUMEN

La industria de la biotecnología y los bioprocesos han adquirido gran relevancia durante las últimas décadas dentro de la investigación científica, lo anterior obedece a la posibilidad de obtener productos de interés y utilidad para su aplicación en distintos sectores productivos. El ácido kójico (AK) es un metabolito sintetizado por bacterias y hongos filamentosos, ha sido objeto de investigación desde su descubrimiento, siendo utilizado en la industria cosmética como un aclarador de piel y en la industria alimentaria como un antioxidante en vegetales y mariscos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar, comparar y optimizar el proceso de producción de ácido kójico mediante una cepa de *Aspergillus niger* en un sistema de reactores construidos, en los que se consideraron diversas variables, como: presencia de luz, ausencia de luz, presencia de agitación y ausencia de agitación. Se establecieron dos cinéticas fermentativas para cada uno de los reactores, cada cinética fermentativa tuvo una duración de seis días, con tomas de muestra cada 24 horas, muestras a las que se les evaluó la presencia de: ácido kójico, biomasa y azúcares reductores. Siendo el reactor con agitación de burbujas y presencia de luz el que presentó mayor efecto en la producción de ácido kójico a partir de *Aspergillus niger*. Lo anterior demuestra que el tipo de agitación y la presencia de luz sí tienen injerencia en la producción de este metabolito a una temperatura de fermentación de 30°C.

Palabras clave: Ácido Kójico, Biorreactores, *Aspergillus niger*, Fermentación, Bioprocesos.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

El ácido kójico (AK) es un producto sintetizado por bacterias (*Acetobacterium sp*) y diversos géneros de hongos filamentosos (*Aspergillus* y *Penicillium*) [1]. En la industria alimentaria se utiliza generalmente como un antioxidante y en la industria cosmética es empleado para llevar a cabo el aclaramiento de la piel [1]. Así mismo, al ácido kójico se le atribuyen una amplia gama de actividades biológicas, como: antibacterianas, antifúngicas, antiinflamatorias, antineoplásticas, anticonvulsivas y antivirales [1]. La producción de ácido kójico es un tema de interés dentro de la industria biotecnológica, su síntesis y la de sus derivados es un desafío para los investigadores académicos e industriales [1]. En la actualidad se conocen dos fuentes principales para la obtención de ácido kójico, la primera es la fuente vegetal (hojas de la planta del arándano) y la segunda es mediante los procesos de fermentación aeróbica de hongos filamentosos (género *Aspergillus*) [2], [3]. Siendo *Aspergillus flavus* y *Aspergillus oryzae*, los hongos con mayores rendimientos en la síntesis de este metabolito [4]. Sin embargo, la obtención de ácido kójico con *Aspergillus flavus* ha mostrado una producción concomitante de aflatoxinas altamente cancerogénicas, por lo que su uso en alimentos o en productos farmacéuticos es un problema [4].

Por lo anteriormente mencionado y ante un constante crecimiento en la demanda de ácido kójico, es necesario investigar nuevas fuentes de obtención de este producto, que sean inocuas para el ser humano y económicamente rentables para su implementación a nivel industrial.

En el presente trabajo de investigación se lleva a cabo la evaluación, comparación y optimización del proceso de producción de ácido kójico en fermentación de medio líquido, mediante una cepa de *Aspergillus niger* en un sistema de reactores

a escala de laboratorio, considerando diversas variables, como la presencia de luz, ausencia de luz, presencia de agitación y ausencia de agitación.

El trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Fermentaciones, perteneciente al Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos y en el Laboratorio de Bioquímica, perteneciente al Departamento de Ciencias Básicas, dentro de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

### **1.1. Objetivo**

Comparar las condiciones de producción de ácido kójico por *Aspergillus niger* M4 en un reactor de tanque estático y en un reactor de transporte aéreo (Airlift).

### **1.2. Objetivos específicos**

- Diseñar los reactores de transporte aéreo (Airlift) y de tanque estático para la síntesis de ácido kójico por *Aspergillus niger* M4 en fermentación de medio líquido.
- Evaluar la cinética de producción de ácido kójico mediante fermentación líquida en los cuatro reactores diseñados.
- Establecer las condiciones de operación óptimas para la producción de ácido kójico en los reactores diseñados.

### **1.3. Hipótesis**

Los hongos del género *Aspergillus spp.*, producen ácido kójico bajo condiciones de estrés, por lo que la variación en el tipo de operación del reactor afectará la producción de ácido kójico.

## CAPÍTULO II

### ÁCIDO KÓJICO

#### 2.1. Descripción general del ácido kójico

El ácido kójico es un metabolito natural producido por bacterias y hongos filamentosos, destaca por la capacidad de inhibir la actividad tirosinasa en la síntesis de melanina [3]. Químicamente su estructura es identificada como 5-hidroxi-2-hidroximetil-4-pirona (Figura 2.1) [4]. Es un heterociclo polifuncional, con varios centros de reacción importantes, utilizados en muchos tipos de reacciones, que implican adición, alquilación, oxidación, apertura de anillos, reacciones nucleófilas y de sustitución electrofílica [1].

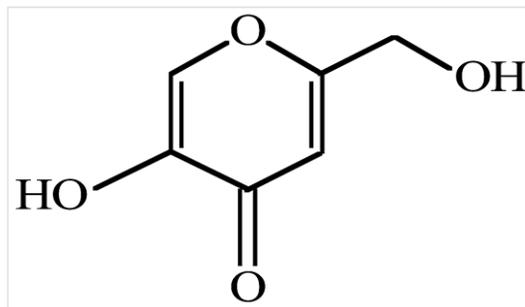


Figura 2.1. Estructura química del ácido kójico.

## 2.2. Antecedentes del ácido kójico

El nombre de ácido kójico se deriva de “Koji”, nombre común con el que se le conoce en Japón [4]. Fue aislado por Saito en 1907, de un micelio de *Aspergillus oryzae* cultivado en arroz al vapor (cultivo de estado sólido) [4]. La estructura química fue determinada por Yabuta en 1924.

Es un compuesto químico multifuncional y posee una propiedad ácida débil, su origen natural confirma su biodegradación no peligrosa, lo que lo convierte en un esqueleto atractivo y rentable para desarrollar compuestos biológicamente activos [4].

El ácido kójico se comercializó por primera vez en 1955 por Charles Pfizer and Company, primera empresa en intentar producir este producto [3]. En los últimos años, son cinco las empresas productoras de ácido kójico, dos se encuentran en China y tres empresas más en Japón, Suiza y Estados Unidos [3]. En la actualidad, el crecimiento de las industrias y el descubrimiento de los usos potenciales del ácido kójico y sus derivados, generaron grandes demandas para este producto [3].

## 2.3. Usos y aplicaciones del ácido kójico

Las principales aplicaciones del ácido kójico y sus derivados dentro de la medicina se basan en su biocompatibilidad y en las propiedades antimicrobianas, antivirales, antitumorales, antidiabéticas, anticancerígenas y antiparasitarias que posee este compuesto químico [3]. En la cosmetología se utiliza como un agente de aclaramiento o blanqueamiento de la piel, pudiéndose encontrar en cremas, lociones, jabones y también en productos de cuidado dental [1], [3].

El ácido kójico es utilizado en la industria alimentaria por sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes, previniendo la decoloración y el daño enzimático en verduras y mariscos [1]. Además, se emplea como un precursor de potenciadores del sabor (maltol y maltol etílico) [4].

Las propiedades pesticidas e insecticidas que posee el ácido kójico lo vuelven una alternativa de interés para su estudio y aplicación dentro de la agricultura.

## 2.4. Fuentes de obtención del ácido kójico

El ácido kójico es un metabolito obtenido de la fermentación aeróbica de hongos filamentosos, como: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus tamaris* y *Aspergillus parasiticus* (Cuadro 2.1). Puede producirse a partir de la fermentación de algunos alimentos asiáticos, por ejemplo, salsa de soja y vino de arroz [3]. Por otra parte, existen bacterias como *Acetobacterium sp.*, con capacidad para producir este compuesto [1].

El proceso de fermentación aeróbica para la obtención de ácido kójico, como el de cualquier otro metabolito secundario sintetizado por un microorganismo, puede verse afectado por diversos factores, como: factores químicos, factores nutricionales, presencia de azúcares, presencia de sales, presencia de oligoelementos y presencia de metales pesados [5]. Las altas concentraciones de sacarosa afectan drásticamente el crecimiento de los hongos a medida que disminuye la tasa de crecimiento y aumenta el período de incubación [5]. La mayoría de los organismos vivos requieren una serie de metales en cantidades minuciosas para el mantenimiento normal del metabolismo, sin embargo, la presencia de metales pesados en altas concentraciones causa un efecto letal en el sistema vivo de los hongos [5]. Finalmente, no debe dejarse de lado la existencia de factores críticos para un proceso de fermentación, como lo es el pH, la temperatura y la presencia o ausencia de agitación, factores que serán solventados con la elección correcta del reactor a utilizar.

**Cuadro 2.1. Microorganismos productores de ácido kójico**

Familia	Género	Especie
Pleosporáceas	Alternaria	<i>Alternaria alternata</i>
	Pleospora	<i>P. herbarum</i>
	Pleospora	<i>Pleospora allí</i>
Chaetomiáceas	Chaetomium	<i>Chaetomium globosum</i>
Microascáceas	Microascus	<i>Microascus brevicaulis</i>
Stachybotryaceae	Stachybotrys	<i>Stachybotrys chartarum</i>
	Stachybotrys	<i>Stachybotrys theobromae</i>
Toruláceas	Torula	<i>Herbarum de Torula</i>
Hipocreáceas	Trichoderma	<i>Trichoderma hamatum, Trichoderma koningii, T. longibrachiatum, T. polysporum</i>
	Acremonio	<i>Strictum de Acremonium</i>
Nectriáceas	Fusarium	<i>Fusarium aquaeductuum, F. chlamydosporum F. equiseti, F. lateritium F. moniliforme, F. oxysporum F. proliferatum, F. solani F. subglutinans, F. tricinctum</i>
Cunninghamellaceae	Cunninghamella	<i>Cunninghamella echinulata</i>
Mucoráceas	Mucor	<i>Mucor circinelloides, Mucor. Fuscus</i>
Syncephalastraceae	Syncephalastrum	<i>Syncephalastrum racemosum</i>
Trichocomaceae	Penicillium	<i>P. Capsulatum, P. lividum, P. spinulosum P. funiculosum, P. purpurogenum, P. rugulosum, P. albidum, P. atramentosum, P. aurantiogriseum P. janthinellum, P. citrinum, P. corylophilum, P. camemberti P. chrysogenum, P. cyaneofulvum P. cyclopium, P. digitatum, P. expansum P. frequentans, P. godlewski, P. nigricans, P. somniferum, P. viridicatum</i>
Trichocomaceae	Aspergillus	<i>A. Candidus, A. phoenicis, A. melleus A. Ochraceus, A. sclerotiorum A. Sulphureus, A. fumigatus A. flavus, A. flavus var. columnaris A. Oryzae, A. Parasiticus A. tamarii, A. wentii, A. aculeatus A. niger, A. terreus, A. flavipes A. Janus, A. sydowii A. versicolor, A. nidulans</i>

Fuente: Saeedi, Eslamifar y Khezri (2019), Aplicaciones del ácido kójico en preparaciones cosméticas y farmacéuticas.

## CAPÍTULO III

### BIORREACTORES

#### 3.1. Descripción general de los biorreactores

Un biorreactor es un equipo donde se realiza un proceso de cultivo, empleando microorganismos (bacterias, hongos, algas o levaduras) y que comúnmente es denominado “fermentador” [6].

Sea en estado sólido o líquido, el diseño debe ser tal que asegure homogeneidad entre los componentes del sistema, las condiciones óptimas para el crecimiento microbiano y la obtención del producto deseado [6].

Es importante tomar en cuenta los problemas de transferencia de calor y difusión de oxígeno, los cuales dependen de las características del reactor utilizado para la fermentación, siendo este, uno de los principales factores que afectan el diseño y las estrategias de control [6]. Los criterios más importantes en el diseño de un biorreactor se resumen del siguiente modo, dependiendo del tipo de biorreactor y la fermentación a utilizar [6]:

1. El tanque debe diseñarse para que funcione asépticamente durante numerosos días, para evitar la aparición de contaminantes en las operaciones de bioprocesos de larga duración.
2. Debe permitir una mayor área de contacto entre las fases biótica y abiótica del sistema, es decir, se debe proporcionar un sistema adecuado de aireación y agitación para cubrir las necesidades metabólicas de los microorganismos.
3. El consumo de energía debe de ser el mínimo posible.

4. Debe tener entradas para la adición de nutrientes y el control de pH.
5. El crecimiento microbiano es generalmente exotérmico, por lo que el biorreactor debe facilitar la transferencia de calor del medio hacia las células y viceversa, a medida que se produce el crecimiento celular, además de mantener estable la temperatura deseada.
6. Mantener las células uniformemente distribuidas en todo el volumen de cultivo.
7. Suministrar oxígeno a una velocidad tal que satisfaga el consumo.
8. El diseño debe ser tal que permita mantener el cultivo puro; una vez que todo el sistema ha sido esterilizado y posteriormente inoculado con el microorganismo deseado.

### **3.2. Principales tipos de biorreactores**

Los procesos de fermentación se consideran sistemas biológicamente complejos, cuentan con múltiples entradas y salidas, como tal, la selección de las estrategias de control de estos sistemas suele ser una tarea complicada [7]. A lo largo de los años se han desarrollado diferentes tipos de reactores para cumplir con distintos propósitos, la mayoría de los reactores están contenidos en alguna de las siguientes categorías: recipientes sin agitación, recipientes agitados, columnas de burbujeo, acoplados a bombas de succión y de lechos empacados. La diferencia principal entre los diferentes tipos de reactores es la agitación [8].

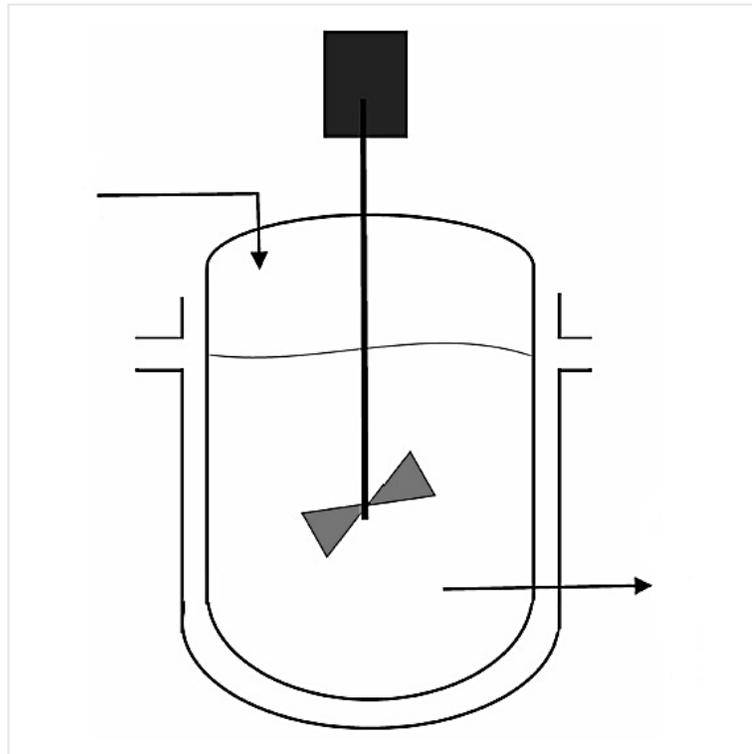
#### **3.2.1. Tanque de agitado**

El tanque de agitado es el reactor más importante utilizado en la industria, mayormente posee forma cilíndrica (Figura 3.1), construido de acero inoxidable y está equipado con un agitador, el cual consiste en una barra donde se coloca uno u más propulsores, los cuales pueden estar en la parte inferior o en la parte superior del recipiente, siendo la primera configuración la más común [8].

El enfriamiento y/o calentamiento de este tipo de reactor se lleva a cabo a través de la pared de este o por medio de serpentines internos. El líquido que circula dentro

de estos serpentines puede ser bombeado hacia fuera de estos y ser calentado y/o enfriado por un intercambiador de calor externo [8].

Los biorreactores de tanque de agitado proporcionan altos valores de transferencia de masa, tasas de transferencia de calor y un mezclado excelente [8]. Para los tanques de agitado existen diferentes tipos de propulsores, sus características varían con respecto al padrón de flujo, la capacidad de suspensión y la capacidad de dispersión. Se distinguen dos principales tipos de propulsores, los de flujo axial y los de flujo radial. El diseño de seis espas igualmente espaciadas y montadas sobre un disco es llamada turbina de Rushton, el diámetro de estas generalmente es de un tercio del diámetro que posee el reactor, mientras que los propulsores de espas inclinadas pueden llegar a tener un diámetro mayor a la mitad del diámetro que posee el reactor [8].



**Figura 3.1.** Reactor tanque de agitado.

### 3.2.2. Reactor de transporte aéreo (AIRLIFT)

Los reactores de transporte aéreo son de diseño simple, bajo costo de operación, mantenimiento y construcción (Figura 3.2). Se utilizan en procesos fermentativos en donde los microorganismos a cultivar son sensibles al daño mecánico provocado por las fuerzas de cizalla [9]. Para el diseño de un reactor de transporte aéreo se consideran las relaciones geométricas entre la altura del tubo concéntrico, la altura de operación del líquido, el diámetro del tubo concéntrico, el diámetro del reactor y su efecto sobre la hidrodinámica [10]. Un reactor de transporte aéreo consta de las siguientes zonas: zona de ascenso de fluido (tubo interno), zona de descenso, desgasificación y zona inferior de base plana o cónica. Entre los accesorios que son ensamblados al biorreactor se tiene un difusor por donde se generan las burbujas de aire, un tubo interno conocido como riser, puertos de toma de muestra y acoplamientos de electrodos (pH, oxígeno disuelto) [9].

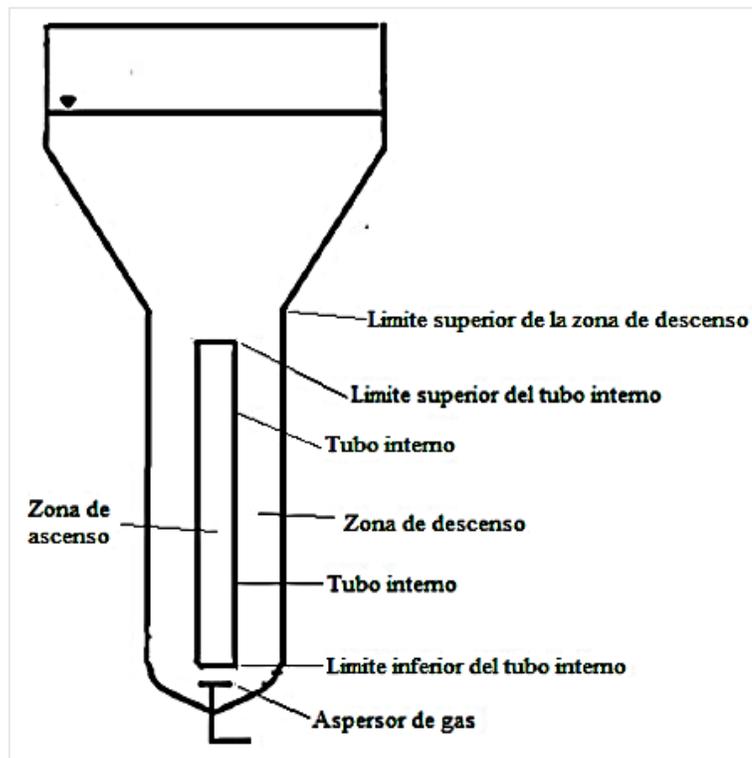
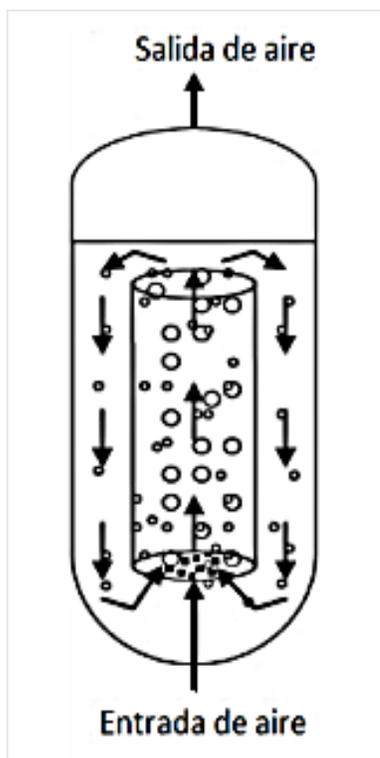


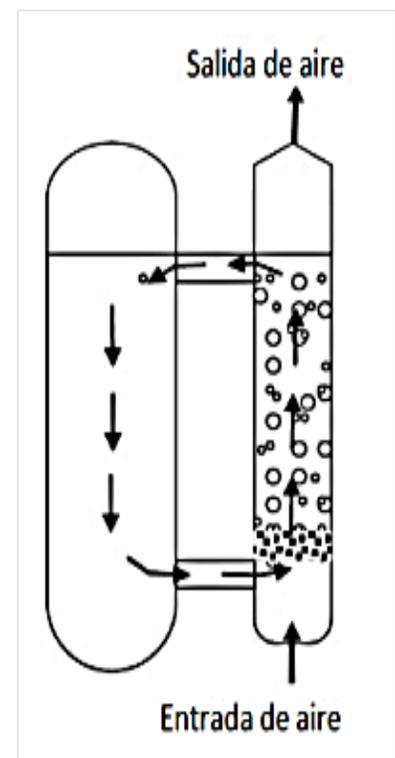
Figura 3.2. Reactor de transporte aéreo.

El funcionamiento del reactor de transporte aéreo se basa en la formación de un sistema gas-líquido-sólido y la circulación del medio se realiza a través de un tubo concéntrico [9]. El propósito de la configuración óptima de estos sistemas es que las células estén en contacto de manera eficiente con los nutrientes del medio y del oxígeno [9].

Finalmente, la clasificación de los reactores de transporte aéreo es de acuerdo con la configuración de las zonas de ascenso, de descenso, la presencia de tubos internos u otro tipo de dispositivos que permiten el direccionamiento y el movimiento del medio de cultivo para optimizar el tiempo de homogenización y la transferencia de oxígeno. Por lo tanto, tendremos como principal ejemplo: a los reactores de transporte aéreo de bucle interno (Figura 3.3) y a los reactores de transporte aéreo de bucle externo (Figura 3.4) [9].



**Figura 3.3.** Bucle interno.



**Figura 3.4.** Bucle externo.

## **CAPITULO IV**

### **TRANSFERENCIA DE CALOR**

El crecimiento de microorganismos en un reactor depende directamente de diversos parámetros involucrados en el proceso fermentativo, por ejemplo, la temperatura de fermentación, el pH del medio de cultivo y el tipo de agitación empleada. La literatura y las investigaciones realizadas hasta el momento muestran que se han utilizado diversas técnicas de control convencionales y avanzadas para los parámetros ya mencionados [11].

#### **4.1. Generalidades de la transferencia de calor**

La termodinámica trata de la cantidad de transferencia de calor a medida que un sistema pasa por un proceso de un estado de equilibrio a otro y no hace referencia a cuánto durará ese proceso. Pero en la ingeniería a menudo estamos interesados en la rapidez o razón de esa transferencia, la cual constituye el tema de la ciencia de la transferencia de calor [12]. La transferencia de energía siempre se produce del medio que tiene la temperatura más elevada hacia el de temperatura más baja y esa transferencia se detiene cuando ambos alcanzan la misma temperatura [12]. Un análisis termodinámico sencillamente nos dice cuánto calor debe transferirse para que se realice un cambio de estado específico con el fin de satisfacer el principio de conservación de la energía [12]. Es común encontrar la transferencia de calor en los sistemas de ingeniería, aparatos electrodomésticos y en el diseño de espacios que requieren un aislamiento [12].

Los equipos de transferencia de calor, como los intercambiadores de calor, las calderas, los condensadores, los radiadores, los calentadores, los hornos, los refrigeradores y los colectores solares, están diseñados tomando en cuenta el análisis de la transferencia de calor. Los problemas que se encuentran en la práctica se pueden considerar en dos grupos: Los de capacidad nominal y los de dimensionamiento. Los problemas de capacidad nominal tratan de la determinación de la razón de la transferencia de calor para un sistema existente a una diferencia específica de temperatura. Los problemas de dimensionamiento tratan con la determinación del tamaño de un sistema con el fin de transferir calor a una razón determinada para una diferencia específica de temperatura [12]. Los estudios de transferencia de calor en un aparato se pueden realizar de dos formas, experimentalmente, mediante pruebas y mediciones, o analíticamente, mediante el análisis y elaboración de cálculos [12].

#### 4.2. Transferencia de energía

La energía se puede transferir hacia una masa dada, o desde esta, por dos mecanismos: calor ( $Q$ ) y trabajo ( $W$ ). Una interacción energética es transferencia de calor si su fuerza impulsora es una diferencia de temperatura. De lo contrario, es trabajo [12]. La cantidad de calor transferido durante el proceso se denota por  $Q$ , la cantidad de calor transferido por unidad de tiempo se llama razón de transferencia de calor y se denota por  $\dot{Q}$ , el punto arriba representa la derivada respecto al tiempo, la velocidad de transferencia de calor,  $\dot{Q}$ , tiene la unidad  $J/s$ , lo cual es equivalente a  $W$  [12].

Cuando se cuenta con la razón de transferencia de calor,  $\dot{Q}$ , entonces se puede determinar la cantidad total de transferencia de calor  $Q$  durante un intervalo de tiempo  $\Delta t$  a partir de:

$$Q = \int_0^{\Delta t} \dot{Q} dt \quad (J) \quad (1)$$

siempre que se conozca la variación de  $\dot{Q}$  con el tiempo. Para el caso especial de  $\dot{Q} =$  constante, la ecuación anterior se reduce a:

$$Q = \dot{Q}\Delta t \quad (J) \quad (2)$$

La razón de transferencia del calor por unidad de área perpendicular a la dirección de esa transferencia se llama flujo de calor y el flujo promedio de calor se expresa como:

$$\dot{q} = \frac{Q}{A} \quad \left(\frac{W}{m^2}\right) \quad (3)$$

en donde  $A$  es el área de transferencia de calor. En unidades inglesas, la unidad de flujo de calor es:  $Btu/h \cdot ft^2$  [12].

### 4.3. Principio de conservación de la energía

El principio de conservación de la energía expresa que, en el curso de un proceso, la energía no se crea, no destruye; sólo se puede transformar [12]. Este principio también es conocido como balance de energía, para cualquier sistema que pasa por cualquier proceso se puede expresar de la siguiente forma: El cambio neto (aumento o disminución) en la energía total de un sistema en el curso de un proceso es igual a la diferencia entre la energía total que entra y la energía total que sale en el desarrollo de ese proceso [12].

$$\left( \begin{array}{c} \text{ENERGÍA TOTAL} \\ \text{QUE ENTRA EN EL} \\ \text{SISTEMA} \end{array} \right) - \left( \begin{array}{c} \text{ENERGÍA TOTAL} \\ \text{QUE SALE DEL} \\ \text{SISTEMA} \end{array} \right) = \left( \begin{array}{c} \text{CAMBIO EN LA} \\ \text{ENERGÍA TOTAL} \\ \text{DEL SISTEMA} \end{array} \right) \quad (4)$$

Dado que la energía se puede transferir hacia un sistema, o hacia afuera de este, por medio de calor, trabajo y flujo de masa, y que la energía total de un sistema simple compresible consta de las energías interna, cinética y potencial, el balance de energía para cualquier sistema que pasa por cualquier proceso se puede expresar como [12]:

$$\frac{(E_{ent} - E_{sal})}{\text{TRANSFERENCIA NETA DE ENERGÍA POR CALOR, TRABAJO Y MASA}} = \frac{\Delta E_{sistema}}{\text{CAMBIO EN LAS ENERGÍAS INTERNA, CINÉTICA, POTENCIAL, ETC.}} \quad (J) \quad (5)$$

o bien, en la forma de razones, como:

$$\frac{(\dot{E}_{ent} - \dot{E}_{sal})}{\text{VELOCIDAD DE LA TRANSFERENCIA NETA DE ENERGÍA POR CALOR, TRABAJO Y MASA}} = \frac{dE_{sistema}/dt}{\text{VELOCIDAD DEL CAMBIO EN LAS ENERGÍAS INTERNA, CINÉTICA, POTENCIAL, ETC.}} \quad (W) \quad (6)$$

La energía es una propiedad y el valor de una propiedad no cambia a menos que cambie el estado del sistema. Por lo tanto, el cambio en la energía de un sistema es cero ( $\Delta E_{sistema} = 0$ ) si el estado de ese sistema no cambia durante el proceso, entonces el proceso es estacionario. En este caso, el balance de energía se reduce a [12]:

$$\frac{\dot{E}_{ent}}{\text{RAZÓN DE TRANSFERENCIA NETA DE ENERGÍA POR CALOR, TRABAJO Y MASA}} = \frac{\dot{E}_{sal}}{\text{RAZÓN DE TRANSFERENCIA NETA DE ENERGÍA, HACIA AFUERA, POR CALOR, TRABAJO Y MASA}} \quad (7)$$

En ausencia de efectos significativos eléctricos, magnéticos, de movimiento, gravitatorios y de tensión superficial (es decir, para sistemas compresibles estacionarios), el cambio en la energía total de un sistema durante un proceso es sencillamente el cambio en su energía interna; es decir,  $\Delta E_{sistema} = \Delta U_{sistema}$  [12]. En el análisis de la transferencia de calor, es usual tener interés únicamente en las formas de energía que se pueden transferir como resultado de una diferencia de temperatura; es decir, el calor o energía térmica. En esos casos resulta conveniente escribir un balance de calor y tratar la conversión de las energías nuclear, química, mecánica y eléctrica hacia energía térmica como generación de calor. En ese caso, el balance de energía se puede expresar como [12]:

$$\frac{Q_{ent} - Q_{sal}}{\text{TRANSFERENCIA NETA DE CALOR}} + \frac{E_{gen}}{\text{GENERACIÓN DE CALOR}} = \frac{\Delta E_{t\acute{e}rmica,sistema}}{\text{CAMBIO EN LA ENERGÍA T\acute{E}RMICA DEL SISTEMA}} \quad (J) \quad (8)$$

#### 4.5. Mecanismos de transferencia de calor

El calor se puede transferir en tres modos diferentes: conducción, convección y radiación. Todos los modos de transferencia de calor requieren la existencia de una diferencia de temperatura y todos ellos ocurren del medio que posee la temperatura más elevada hacia uno de temperatura más baja [12].

##### 4.5.1. Conducción

La conducción es la transferencia de energía de las partículas más energéticas de una sustancia hacia las adyacentes menos energéticas, como resultado de interacciones entre esas partículas. La conducción puede tener lugar en los sólidos, líquidos o gases. En los gases y líquidos la conducción se debe a colisiones y a la difusión de las moléculas durante su movimiento aleatorio [12]. En los sólidos se debe a la combinación de las vibraciones de las moléculas en una red y al transporte de

energía por parte de los electrones libres [12]. La rapidez o razón de la conducción de calor a través de un medio depende de la configuración geométrica de éste, su espesor y el material de que esté hecho, así como de la diferencia de temperatura a través de él [12].

La razón de la conducción de calor a través de una capa plana es proporcional a la diferencia de temperatura a través de ésta y al área de transferencia de calor, pero es inversamente proporcional al espesor de esa capa; es decir [12]:

$$\dot{Q}_{cond} = kA \frac{T_1 - T_2}{\Delta x} = -kA \frac{\Delta T}{\Delta x} \quad (\text{W}) \quad (9)$$

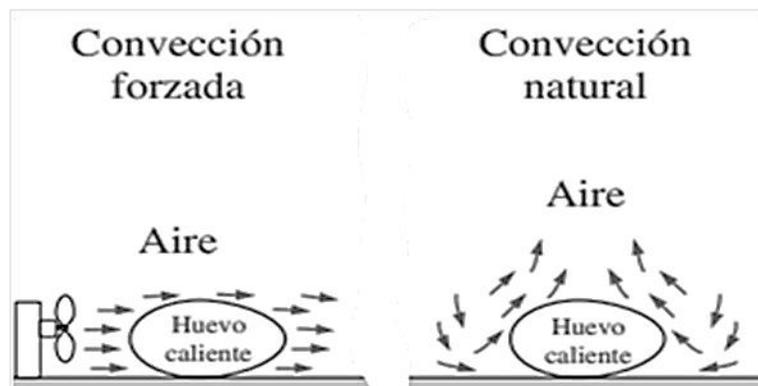
en donde la constante de proporcionalidad  $k$  es la conductividad térmica del material, que es una medida de la capacidad de un material para conducir calor. En el caso límite de  $\Delta x \rightarrow 0$ , la ecuación que acaba de darse se reduce a la forma diferencial [12]:

$$\dot{Q}_{cond} = -kA \frac{dT}{dx} \quad (\text{W}) \quad (10)$$

en donde  $dT/dx$  es el gradiente de temperatura, el cual es la pendiente de la curva de temperatura en un diagrama T-x (la razón de cambio de T con respecto a x), en la ubicación x. La relación antes dada indica que la razón de conducción del calor en una dirección es proporcional al gradiente de temperatura en esa dirección. El calor es conducido en la dirección de la temperatura decreciente y el gradiente de temperatura se vuelve negativo cuando esta última decrece al crecer x. El signo negativo en la ecuación garantiza que la transferencia de calor en la dirección x positiva sea una cantidad positiva. El área A de transferencia de calor siempre es normal (o perpendicular) a la dirección de esa transferencia [12].

#### 4.5.2. Convección

La convección es el modo de transferencia de energía entre una superficie sólida y el líquido o gas adyacentes que están en movimiento y comprende los efectos combinados de la conducción y el movimiento de fluidos [12]. Entre más rápido es el movimiento de un fluido, mayor es la transferencia de calor por convección. En ausencia de cualquier movimiento masivo de fluido, la transferencia de calor entre una superficie sólida y el fluido adyacente es por conducción pura [12]. Existen dos formas en que puede llevarse a cabo la transferencia de calor por convección, la convección forzada, que se presenta cuando el fluido es forzado a fluir sobre la superficie mediante medios externos como un ventilador, una bomba o el viento y la convección natural, que se presenta cuando el movimiento del fluido es causado por las fuerzas de empuje que son inducidas por las diferencias de densidad debidas a la variación de la temperatura en ese fluido (Figura 4.1) [12].



**Figura 4.1.** Tipos de convección.

A pesar de la complejidad de la convección, se observa que la rapidez de la transferencia de calor por convección es proporcional a la diferencia de temperatura y se expresa en forma conveniente por la ley de Newton del enfriamiento como:

$$\dot{Q}_{conv} = hA_s(T_s - T_\infty) \quad (\text{W}) \quad (11)$$

en donde  $h$  es el coeficiente de transferencia de calor por convección, en  $W/m^2 \cdot ^\circ C$  o  $Btu/h \cdot ft^2 \cdot ^\circ F$ ,  $A_s$  es el área superficial a través de la cual tiene lugar la transferencia de calor por convección,  $T_s$  es la temperatura de la superficie y  $T_\infty$  es la temperatura del fluido suficientemente alejado de esta superficie [12].

El coeficiente de transferencia de calor por convección  $h$  no es una propiedad del fluido. Es un parámetro que se determina en forma experimental (ensayos y mediciones) y en forma analítica (número de Grashof (Gr), número de Reynolds (Re), número de Prandtl (Pr), Número de Rayleigh (Ra) y número de Nusselt (Nu)), cuyo valor depende de todas las variables que influyen sobre la convección, como la configuración geométrica de la superficie, la naturaleza del movimiento del fluido, las propiedades de éste y la velocidad masiva del mismo [12].

## **CAPÍTULO V**

### **ADITIVOS ALIMENTARIOS**

#### **5.1. Descripción general de los aditivos alimentarios**

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el concepto de aditivo se refiere a cualquier sustancia que, independientemente de su valor nutricional, se añade intencionadamente a un alimento con fines tecnológicos y en cantidades controladas [14]. Se cree que la incorporación de los aditivos a los alimentos fue de manera accidental, la exposición de la carne al humo que provenía del fuego durante periodo paleolítico sentó uno de los primeros antecedentes de la conservación de alimentos [15].

A través de los años se ha diversificado la obtención y el empleo de una gran variedad de aditivos, los cuales buscan satisfacer necesidades específicas de la industria alimentaria [14]. A pesar de la resistencia actual generada por corrientes o movimientos de personas que se sustentan en la desinformación sobre la industria alimentaria, el uso de los aditivos es fundamental para preservar la inocuidad de los alimentos elaborados, para mantenerlos en buenas condiciones durante su transporte y para asegurar su disponibilidad en el mercado.

Las fuentes de obtención de los aditivos alimentarios son: plantas, animales, minerales, microorganismos y la producción sintética [14]. El uso de los aditivos alimentarios obliga a establecer mecanismos de control que regulen su correcta utilización y que verifiquen sus resultados, de tal manera que estas sustancias no representen un peligro para el consumidor [15].

Los distintos tipos de aditivos alimentarios tienen lugar en alguna de las siguientes categorías: colorantes, conservantes, antioxidantes, reguladores del pH, agentes que actúan sobre la textura (espesantes y gelificantes), correctores de la acidez, sustancias minerales, potenciadores del sabor, enzimas, almidones modificados, agentes de recubrimiento, gases de envasado y edulcorantes [15].

## 5.2. Antioxidantes

Se entiende como antioxidante a aquella sustancia o mezcla de sustancias destinada a retardar o impedir la oxidación y enranciamiento de los productos [16]. En la industria alimentaria los antioxidantes se utilizan con dos propósitos principales, prevenir la oxidación de grasas y evitar el pardeamiento y/o deterioro del color en los alimentos (Cuadro 5.1). Los antioxidantes retrasan la alteración oxidativa del alimento, lo que quiere decir que no la evitara de forma definitiva. [15]

### 5.2.1. Tipos de antioxidantes

**Cuadro 5.1 Antioxidantes utilizados en la industria alimentaria**

Nombre	Aplicación
Ácido L-ascórbico	La adición de ácido ascórbico como antioxidante no permite hacer un uso publicitario del enriquecimiento en vitamina C del alimento.
Butil-hidroxi-anisol (BHA)	Se utiliza para proteger las grasas utilizadas en repostería, fabricación de galletas, sopas deshidratadas, etc.
Butil-hidroxi-tolueno (BHT)	Se utiliza siempre mezclado con el BHA.
Ácido láctico	Confituras y mermeladas Pan y pastas. Legumbres y hortalizas en conserva.
Ácido cítrico	Derivados cárnicos (salchichas, salazones, fiambres), Confituras y mermeladas. Zumos y néctares.
Ácido tartárico	Conservas vegetales, mermeladas, salmueras, salsas, sopas deshidratadas.

Fuente: Ibáñez, Torre y Irigoyen (2003), ADITIVOS ALIMENTARIOS.

### 5.3 Potenciadores de sabor

Los potenciadores de sabor se definen como aquellas sustancias que, en ciertas concentraciones en los alimentos no aportan un sabor propio, sino que refuerzan el de los otros compuestos presentes [15]. La percepción de las notas importantes se acentúa y prolonga, aumentando la palatabilidad de los alimentos. Entre los más conocidos están el glutamato monosódico, guanilato sódico, inosinato sódico, las proteínas vegetal y animal hidrolizadas, y los hidrolizados de levadura, el maltol y el etil maltol [16].

El uso de los potenciadores de sabor es amplio en la industria alimentaria (Cuadro 5.2), sin embargo, su uso es elevada importancia para el caso de sopas y salsas deshidratadas [15].

#### 5.3.1. Tipos de potenciadores de sabor

**Cuadro 5.2 Potenciadores de sabor utilizados en la industria alimentaria**

Nombre	Aplicación
Ácido L-glutámico	A bajas concentraciones, potencia los sabores y a dosis altas, confiere un sabor que recuerda a la carne.
Ácido guanílico	Derivados cárnicos (fiambres, patés, etc.) Sopas y caldos deshidratados
Maltol	Repostería (postres, bollos, galletas, etc.) y confitería (caramelos, chicles, etc.).

Fuente: Ibáñez, Torre y Irigoyen (2003), ADITIVOS ALIMENTARIOS.

## **CAPITULO VI**

### **Hongos filamentosos**

#### **6.1 Generalidades de los hongos filamentosos**

Los hongos filamentosos son un grupo de organismos eucariotas con la capacidad de crecer en diversos ambientes, como desechos biológicos, el suelo y la biomasa de plantas y algas [17]. Son productores de una gran cantidad de metabolitos secundarios con diversas actividades biológicas, dentro de estos compuestos se encuentran la penicilina, la ciclosporina o la lovastatina [18]. Así mismo, los hongos filamentosos secretan una amplia gama de enzimas, las cuales están involucradas en la descomposición y el reciclaje de biopolímeros complejos de tejidos vegetales y animales [19].

De manera general, la fisiología de los hongos filamentosos consiste en una pared celular rígida funcional. Aunque las funciones generales que se le atribuyen a esta son muy similares a las descritas para la pared celular de otros organismos, como, bacterias y algas, estas pueden diferir en cuanto a su composición. Lo mismo sucede entre especies de hongos filamentosos, la composición de la pared celular puede diferir con respecto a la presencia y cantidad de una serie de polisacáridos, incluidos quitosano, quitina, glucanos y mananos [20].

Para la producción de metabolitos secundarios con hongos filamentosos en reactores, específicamente en fermentaciones medio líquido, la morfología de estos es determinante, ya que pueden crecer en forma dispersa o en forma de pellets. La morfología de los pellets, el control de procesos y la productividad están estrechamente relacionados, debido a que el control de procesos en un reactor suele

demandar pellets compactos y pequeños debido a cuestiones reológicas. Por otra parte, la productividad óptima podría estar asociada con una morfología menos densa y más grande [21].

Como se mencionó en capítulos anteriores, el control de los factores que intervienen en un proceso fermentativo (pH, temperatura, agitación, etc.) es determinante para asegurar el desarrollo óptimo de organismos complejos y sensibles como lo son los hongos filamentosos.

## **6.2 Importancia biotecnológica de los hongos filamentosos**

La investigación desarrollada desde hace más de un siglo entorno a los hongos, nos ha permitido conocer la capacidad que estos organismos poseen para producir y secretar diferentes tipos de enzimas en grandes cantidades [19]. En la actualidad el interés dentro de los bioprocesos para el estudio de los hongos filamentosos reside en tres puntos específicos. El primero de ellos, es la complejidad y la relativa escasez de comprensión de la fisiología de los hongos filamentosos, lo cual obstaculiza el rápido desarrollo de estos organismos como fábricas altamente eficientes para poder producir proteínas heterólogas [22]. El segundo punto, se refiere al desarrollo de nuevos métodos para explotar el reservorio silencioso de metabolitos secundarios, lo anterior se sustenta en el hallazgo sobre las secuencias del genoma de hongos filamentosos, mismas que revelaron que el potencial codificado para producir metabolitos secundarios es mucho mayor que el número real de compuestos producidos durante el cultivo en el laboratorio [18]. El tercer punto y último de interés dentro de la investigación sobre los hongos filamentosos, es el papel que estos desempeñan actualmente en la industria, donde las enzimas fúngicas constituyen más de la mitad de las enzimas utilizadas en aplicaciones industriales y especies de hongos como *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, y *Trichoderma reesei* se han vuelto indispensables para la obtención de estas enzimas [17].

### **6.2.1. Cinética microbiana de hongos filamentosos**

El uso de organismos como bacterias, hongos, algas y de células, tanto animales como vegetales para la obtención de productos químicos, es una actividad que crece anualmente de manera considerable [23]. En estos procesos fermentativos es muy importante estudiar el comportamiento cinético de los microorganismos, ya que de este depende el rendimiento del producto de interés, aspecto que puede determinar la rentabilidad del proceso en cuestión [24].

Las transformaciones dentro de un microorganismo en un proceso fermentativo son complejas, involucran una amplia red de reacciones enzimáticas y metabólicas de varios tipos. Esta red de reacciones es complicada de describir, por un lado, se cuenta con el apoyo de los métodos matemáticos para la resolución del problema del cálculo de parámetros, sin embargo, con el actual desarrollo y facilidad del cálculo numérico, la principal dificultad sigue siendo la medida de un elevado número de especies químicas, cuyo análisis permitirá conocer la evolución de las concentraciones que podrán ser descritas a través de un modelo cinético de mayor o menor grado de dificultad [25].

La cinética microbiana se puede definir como el proceso mediante el cual se busca entender todas las manifestaciones y reacciones de la vida microbiana: crecimiento, supervivencia, muerte, adaptaciones, formación de producto, ciclos celulares y las interacciones con el medio ambiente [24]. Los principios de la cinética microbiana se establecieron entre los años cuarenta y sesenta, por Jacques Monod que junto a Francois Jacob y André Lwoff enfocaron su investigación en el crecimiento de bacterias como un método para el estudio de la fisiología y la bioquímica bacteriana, en donde se consideró exclusivamente a las fases del crecimiento positivas, ya que el estudio de la fase de muerte, que hasta ese tiempo implicaba muchos problemas de entendimiento, no fue considerado [25].

De manera general, se puede describir dos tipos principales de modelos matemáticos del crecimiento microbiano: Los primeros son los modelos estructurados, en los que se consideran los aspectos básicos de la célula, despreciando o agrupando

los demás componentes en grupos generalizados, como lípidos, proteínas, etc. Los segundos son los modelos no estructurados, que, para la mayoría de los casos de fermentaciones, este tipo de modelos puede describir adecuadamente el desarrollo del proceso, considerando que los microorganismos y/o células poseen una composición fija y simple. En este tipo de modelos desprecia los cambios en el medio de cultivo producto de la concentración de biomasa [26].

### **6.2.2. Síntesis de ácido kójico por hongos filamentosos**

En los procesos de fermentación, el microorganismo empleado tiene una serie de requerimientos nutricionales para su crecimiento óptimo. El tipo de medio de cultivo a emplear será en función del microorganismo elegido [23]. Son tres los aspectos fundamentales para favorecer el crecimiento microbiano: El primer aspecto son los macronutrientes, compuestos que son agregados en cantidades de gramos o litros que están representados por las fuentes de C, N, S, P, K y Mg. El segundo aspecto son los micronutrientes o elementos traza representados por sales de Fe, Mn, Mo, Ca, Zn y Co, se agregan en cantidades de miligramos por litro. Finalmente, el tercer aspecto son los factores de crecimiento, están constituidos generalmente por componentes orgánicos suministrados en baja concentración y que no son sintetizados ni metabolizados por las células, sino incorporados a estructuras celulares y de función metabólica específica, como vitaminas, algunos aminoácidos, ácidos grasos no saturados, etc. [24].

Además de los factores fundamentales para favorecer el crecimiento microbiano, debe considerarse la economía de estos, por ello diversas investigaciones se enfocan en la obtención de nuevas fuentes de carbono que resulten rentables para implementar en un proceso industrial [27].

Por otra parte, es importante considerar la ausencia o presencia de agitación y el tipo de agitación en caso de estar presente. Se sabe que los reactores de columnas de burbujas tienen un de bajo entorno de cizallamiento en comparación con los tanques agitados, lo que ha permitido el cultivo exitoso de células filamentosas, las cuales tienden a formar pellets [13].

En cuanto a la síntesis de ácido kójico por hongos filamentosos, se han realizado diversos estudios empleando diferentes especies de *Aspergillus*, siendo *oryzae* y *flavus* las de mayor enfoque debido a los altos rendimientos que presentan. Para la producción de ácido kójico a nivel de laboratorio se han reportado el uso de matraces Erlenmeyer con agitación orbital (150 RPM), agitación que permite un entorno de bajo cizallamiento [27], [28], [29]. En cuanto a la composición del medio de cultivo para la producción de ácido kójico, se ha reportado el uso de medios complejos, con fuentes de carbono como glucosa, maltosa, celulosa y residuos agroindustriales (cascara de cereales y frutas). En tanto a los componentes minerales del medio, se ha reportado el uso de  $MgSO_4$ ,  $K_2HPO_4$ ,  $(NH_4)_2SO_4$ , además de extracto de levadura, todos ellos en cantidades que van entre los 0.5 g/L y 2 g/L [27], [28], [29].

### 6.2.3. *Aspergillus niger*

*Aspergillus* es un hongo que se distribuye ubicuamente, en el aire, el suelo, el agua y la materia orgánica. Existen más de 340 especies diferentes pertenecientes al género *aspergillus*, entre ellas, *Aspergillus niger* (Figura 6.1) [30].



**Figura 6.1.** *Aspergillus niger*.

Es un hongo filamentoso saprobio que posee un alto potencial para la degradación de la biomasa vegetal. Su fuente de carbono son azúcares monoméricos,

los cuales obtiene de polisacáridos naturales [31]. Es considerado un microorganismo seguro de acuerdo con la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), posee una larga historia de uso en la industria de las fermentaciones, tanto en la producción de enzimas, como para la producción de ácido cítrico [19].

En cuanto al sustrato se refiere, *Aspergillus niger* a través de la fermentación en estado sólido, podría utilizar residuos agroindustriales de bajo costo, para reducir costes de producción y contribuir en la resolución de algunos problemas ambientales [32]. Por otra parte, a través de la fermentación de medio líquido de almidón, *Aspergillus niger* produce ácido cítrico, considerado uno de los ácidos orgánicos más importantes producidos comercialmente [33].

La condición de *Aspergillus niger* como un microorganismo seguro y la capacidad de este para desarrollarse en sustratos líquidos y sólidos, lo vuelven un objeto de interés dentro de la investigación científica, ya que puede ser abordado desde la obtención de metabolitos, como el ácido kójico, hasta la optimización y mejora de procesos fermentativos ya establecidos.

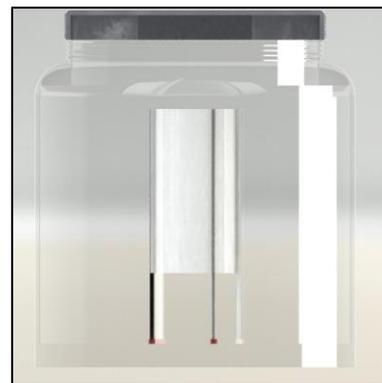
## MATERIALES Y MÉTODOS

### Etapas del proyecto



### Primera etapa

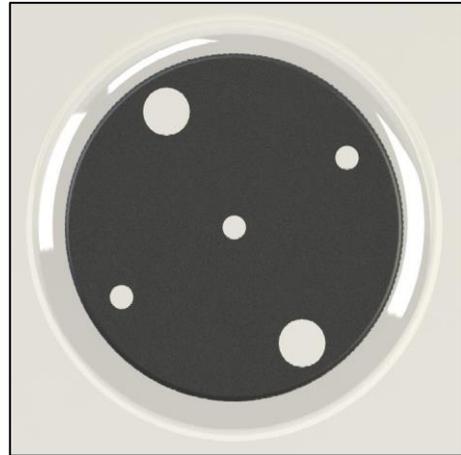
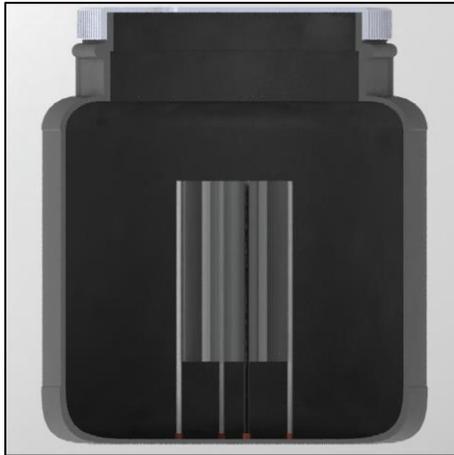
La primera etapa consistió en la construcción de cuatro reactores, los dos primeros reactores con capacidad de 1.4 L, hechos de polietileno de alta densidad (PEAD), sin entrada de luz (Figura 7.1), uno con agitación de burbujas y el otro sin agitación. Los siguientes dos biorreactores poseen una capacidad de 1.9 L, hechos de tereftalato de polietileno (PET), con entrada de luz natural (Figura 7.2), uno con agitación de burbujas, otro sin agitación.



**Figura 7.1.** Reactor tanque estático sin luz. **Figura 7.2.** Reactor de transporte aéreo con luz.

## Segunda etapa

La segunda etapa consistió en la caracterización de los reactores construidos, recabando información geométrica (volumen, altura y diámetro) (Figura 7.3) e información de propiedades de los materiales empleados (espesor, conductividad, densidad y temperatura de reblandecimiento) (Figura 7.4).



**Figura 7.3.** Reactor de transporte aéreo sin luz. **Figura 7.4.** Reactor tanque estático con luz.

## Tercera etapa

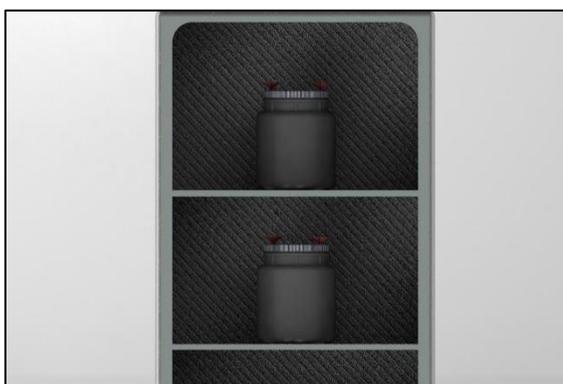
La tercera etapa consistió en realizar cálculos matemáticos de transferencia de calor de los cuatro reactores construidos.

## Cuarta etapa

La cuarta etapa consistió en establecer dos cinéticas fermentativas para cada uno de los reactores (Figura 7.5 y 7.6), cada cinética fermentativa tuvo una duración de seis días, con toma de muestra cada 24 h. A las muestras se les evaluó la presencia de ácido kójico, biomasa y azúcares reductores.



**Figura 7.5.** Cinética fermentativa con luz.



**Figura 7.6.** Cinética fermentativa sin luz.

### Producción de ácido kójico

Material	Equipo	Reactivo
4 reactores	1 termómetro digital marca RISEPRO, modelo HT-9815-cr	Agar PDA (MCD LAB, México)
8 porta globos	2 parrillas eléctricas marca Thermo Scientific, modelo SP131635	Etanol 72% (DIAFRA, México)
8 cajas de Petri	1 bomba de pecera marca Pawfly, modelo MA-60	Etanol 96% (DIAFRA, México)
1 probeta de 1L	1 micropipeta de 1000 µl	Dextrosa anhidra (Jalmek, México)
1 probeta de 50 ml	1 micropipeta de 100 µl	Extracto de levadura (MCD LAB, México)
1 vaso de precipitado de 250 ml	1 incubadora de laboratorio marca RIOSSA, modelo E-33	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (FAGALAB, México)
1 vaso de precipitado de 50 ml	1 balanza analítica marca Velab, modelo VE-303	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O (WOHLER, México)
1 charola de aluminio	1 autoclave ALL AMERICAN, 24 L	Agua destilada
2 mecheros de alcohol	1 campana de flujo laminar	Polisorbato 80 (HYCEL, México)
1 manguera de 2.5 mm de diámetro		
1 manguera de 0.5 mm de diámetro		
4 jeringas de 5 ml		
3 matraces Erlenmeyer de 500 ml		
1 matraz Erlenmeyer de 250 ml		
1 rollo de película plástica		
2 espátulas de aluminio		
1 encendedor		

1 tina de plástico de 15 L		
1 asa de vidrio		
1 asa de nicromo		
100 puntillas de plástico		
48 tubos de prueba de 15 ml		
Guantes de nitrilo		
Toallas de papel		
Jabón líquido		

1. Se propagó la cepa de *Aspergillus niger* M4 en agar papa dextrosa (MCD LAB, México) y se incubó a 30°C durante siete días (incubadora RIOSSA, E-33).
2. Se cosecharon las esporas con 20 ml de solución de polisorbato 80 1% (v/v) (HYCEL, México).
3. Se preparó el medio para la fermentación con las siguientes proporciones: 100 g/L de dextrosa (Jalmek, México), 2.5 g/L de extracto de levadura (MCD LAB, México), 1.5 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (FAGALAB, México) y 0.5 g/L  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (WHOLER, México).
4. Se esterilizó el medio de fermentación en la autoclave (ALL AMERICAN) a 121°C, durante 15 min.
5. Se lavaron los reactores y sus complementos, posteriormente se desinfectaron con etanol 72% (v/v) (DIAFRA, México) y se colocaron durante 30 min bajo luz UV.
6. Se realizó el vaciado del medio de fermentación en los reactores y se inocularon con 1 ml de la solución del lavado de esporas por cada 100 ml de medio. (Bajo condiciones de asepsia).
7. Se ensamblaron los reactores con los complementos y se llevaron a incubar a 30°C (incubadora RIOSSA, E-33).
8. Se monitoreó la fermentación durante seis días y se tomaron muestras cada 24 h para medir la acumulación de ácido kójico, la generación de biomasa y el consumo de azúcares.



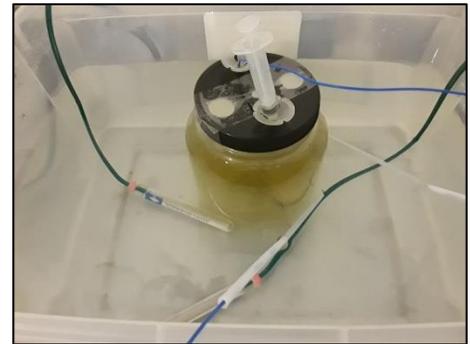
**Figura 7.7.** Lavado de esporas.



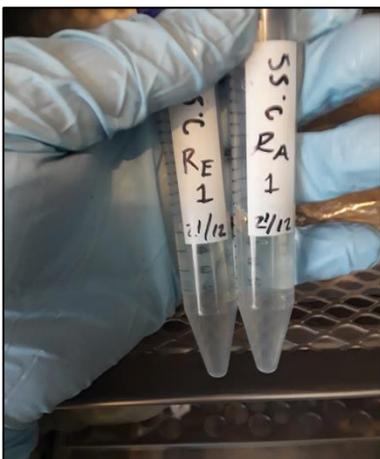
**Figura 7.8.** Inoculación de esporas.



**Figura 7.9.** Montaje de cinética sin luz.



**Figura 7.10.** Montaje de cinética con luz.



**Figura 7.11.** Muestreo.



**Figura 7.12.** Monitoreo de temperatura.

## Determinación de ácido kójico

Material	Equipo	Reactivo
13 tubos de ensayo	1 micropipeta de 1000 µl	Agua destilada
1 gradilla	1 micropipeta de 100 µl	Solución de fierro: Cloruro Férrico 1% (FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O) en una solución de HCl 0.1 N.
1 celda de cuarzo	1 espectrofotómetro marca Velab, modelo VE-5600UV	Ácido kójico
2 jeringas		
48 filtros de nylon de 0.45 µm		
2 vasos de precipitado de 250 ml		
1 piseta		
1 guantes de nitrilo		
Pañuelos de algodón		

El ácido kójico forma un compuesto quelado con iones férricos y posteriormente, genera un color rojo, el cual es determinado a una longitud de onda de 495-545 nm.

1. Se realizó una curva patrón con ácido kójico como standard (0.05 g en 50 ml) y posteriormente se diluyó en proporción 1:10 en agua destilada (10-250 µg/ml rango de curva).
2. Para el blanco, se colocó en un tubo 2 ml de medio de cultivo sin inocular y 4 ml de la solución de fierro 1%.
3. Para la muestra, se colocó en un tubo 2 ml de medio de fermentado y 4 ml de la solución de fierro 1%, lo anterior se diluyó con 10 ml de agua destilada.
4. Se leyó la absorbancia a 505 o 540 nm, ajustando el espectrofotómetro (Velab, VE-5600UV) a cero con el blanco.

**Se pueden realizar ajustes de volumen de muestra y reactivos en proporciones equivalentes, para ahorrar volumen.**

## Determinación azúcares reductores por el método de DNS

Material	Equipo	Reactivo
13 tubos de ensayo	1 micropipeta de 1000 $\mu$ l	Agua destilada
1 gradilla	1 micropipeta de 100 $\mu$ l	Hielo
1 celda de cuarzo	1 espectrofotómetro Velab, modelo VE-5600UV	Reactivo DNS (Sigma-Aldrich, Estados Unidos)
2 jeringas	1 baño María marca Wise Bath, modelo WB-11	
48 filtros de nylon de 0.45 $\mu$ m		
2 vasos de precipitado de 250 ml		
1 pipeta de 10 ml		
1 perilla de succión		
1 piseta		
Tina de plástico de 5 L		
1 rollo de papel aluminio		
1 guantes de nitrilo		
Pañuelos de algodón		

La técnica se enfoca en la reacción del DNS, el cuál es reducido del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS; de color amarillo) a ácido 3-amino-5-nitro-salicílico (ANS; de color rojo ladrillo). Este proceso de reducción se realiza debido a que las moléculas de azúcar actúan como agentes reductores, siempre que contengan un grupo aldehído y existan en una estructura de cadena abierta. Durante este proceso, el grupo aldehído de los azúcares se oxida a los respectivos ácidos carboxílicos generando una coloración intensa y estable a una longitud de onda de 540-570 nm.

1. La curva de calibración se realizó con una solución estándar de dextrosa (Jalmek, México) al 0.1% en agua (rango de 0 a 1 mg/ml). Se disolvió 1 g de dextrosa (Jalmek, México) en un litro de agua destilada.
2. Se adicionaron 1000  $\mu$ l de muestra en un tubo de ensaye limpio.
3. Posteriormente se agregaron 1000  $\mu$ l del reactivo DNS (Sigma-Aldrich, Estados Unidos).
4. Se colocaron los tubos con la mezcla anterior a baño maría de 90°C (Wise Bath, WB-11) durante 5 min.
5. Se detuvo la reacción mediante choque térmico con un baño de agua con hielo, dejando reposar los tubos con la mezcla durante 5 min.

6. Dentro del baño de hielo, adicionaron a cada tubo 5 ml de agua destilada y se agitaron manualmente durante 3 s.
7. Los tubos se retiraron del baño helado y se dejaron reposar lejos de la luz directa y a temperatura ambiente durante 5 min.
8. Se leyó la absorbancia a 540 nm en espectrofotómetro (Velab, VE-5600UV).

### **Cuantificación de biomasa por espectrofotometría**

<b>Material</b>	<b>Equipo</b>	<b>Reactivo</b>
1 celda de cuarzo	1 espectrofotómetro marca Velab, modelo VE-5600UV	Agua destilada
2 vasos de precipitado de 250 ml	1 mezclador de vórtice marca BIOBASE, modelo MIX-S	
1 piseta		
1 guantes de nitrilo		
Pañuelos de algodón		

De las muchas variables que se siguen de forma rutinaria durante el curso de una fermentación, la concentración de la masa celular es quizás la más básica y, a menudo, una de las más esenciales. Incluso cuando la biomasa en sí no es el producto deseado, el rendimiento general del proceso depende de la biomasa. Muchos parámetros derivados (por ejemplo, tasa de absorción de oxígeno específica, coeficientes de rendimiento) requieren un conocimiento de la concentración de biomasa. Hay varias técnicas disponibles para medir la concentración de masa celular. En medios libres de sólidos no microbianos, las mediciones espectrofotométricas de turbidez son muy populares; sin embargo, este método rápido y simple, como se practica convencionalmente, no es adecuado para hongos miceliales y bacterias filamentosas. Aquí revisamos brevemente las técnicas disponibles para las mediciones de biomasa micelial y filamentosa, y evaluamos un procedimiento alternativo, simple y rápido, basado en la medición espectrofotométrica de la densidad óptica del caldo de fermentación pretratado.

1. Se homogenizó durante 6 min en el mezclador de vórtice (BIOBASE, MIX-S) el caldo fermentado que contiene la biomasa.
2. Se leyó el caldo homogenizado a 450 nm en espectrofotómetro (Velab, VE-5600UV).
3. Se utilizó el medio de cultivo estéril y sin inocular como blanco.
4. Para la cuantificación, se restaron las absorbancias en tiempo "t" contra el blanco, según la ecuación:  **$ABS = ABS_t - ABS_b$**

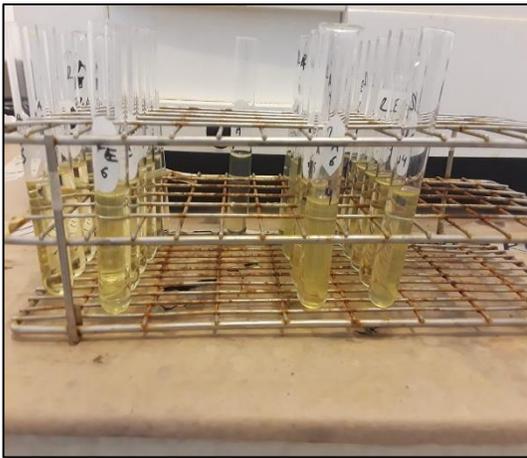
Donde:

**ABS** es la absorbancia final.

**ABS<sub>t</sub>** es la absorbancia a cada tiempo medido.

**ABS<sub>b</sub>** es la absorbancia del blanco (medio sin inocular).

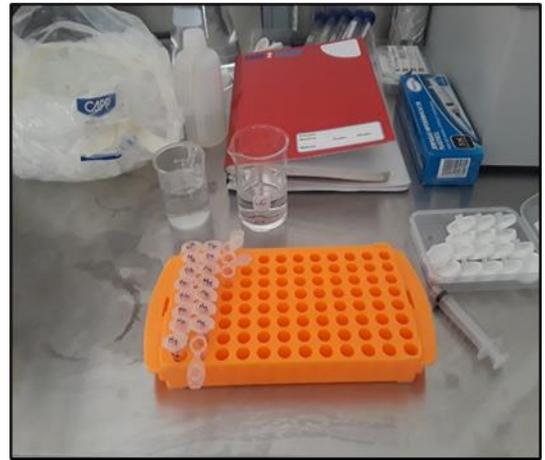
5. Los valores se reportaron como valores de absorbancia.



**Figura 7.13.** Muestras filtradas.



**Figura 7.14.** Determinación de ácido láctico.



**Figura 7.15.** Determinación de azúcares reductores. **Figura 7.16.** Preservación de muestras.

### Quinta etapa

La quinta etapa consistió en el análisis estadístico de los datos experimentales y a partir de ellos se generó una propuesta sobre las mejores condiciones de operación y producción del ácido kójico con *Aspergillus niger* en los biorreactores diseñados.

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Caracterización de biorreactores

Los procesos de fermentación se consideran sistemas biológicamente complejos, debido a la cantidad de parámetros (temperatura, pH, tipo de agitación, y difusión de oxígeno) que requieren ser controlados durante la realización de estos [7], [11].

El éxito en el control de los parámetros de un proceso fermentativo está estrechamente ligado al diseño y la correcta elección del biorreactor a emplear, dicha elección será siempre en función del microorganismo de interés [6].

El escalamiento de un biorreactor no es una tarea fácil, ni rápida, es un proceso progresivo de investigación y calculo. Inicia a nivel de laboratorio, con matraces y reactores con volúmenes entre 1 L y 3 L. Posteriormente, el proceso de escalamiento pasa a nivel de planta piloto, donde el éxito en este punto conducirá al escalamiento a nivel industrial.

## Caracterización geométrica

La caracterización geométrica de los cuatro reactores empleados para este proyecto de investigación se llevó a cabo una vez que estos fueron terminados de construir. La caracterización consistió en la obtención de los valores de volumen, altura, diámetro y espesor, estos valores se muestran en los cuadros 8.1, 8.2, 8.3 y 8.4.

**Cuadro 8.1 Caracterización geométrica reactor estático sin luz**

<b>Medida geométrica</b>	<b>Valor</b>
Volumen	1.4 L
Altura de tanque	0.12 m
Diámetro de tanque	0.13 m
Espesor de tanque	0.002 m

**Cuadro 8.2 Caracterización geométrica reactor Airlift sin luz**

<b>Medida geométrica</b>	<b>Valor</b>
Volumen	1.4 L
Altura de tanque	0.12 m
Diámetro de tanque	0.13 m
Espesor de tanque	0.002 m
Altura de tubo interno	0.07 m
Diámetro de tubo interno	0.04 m
Espesor de tubo interno	0.001 m

**Cuadro 8.3 Caracterización geométrica reactor estático con luz**

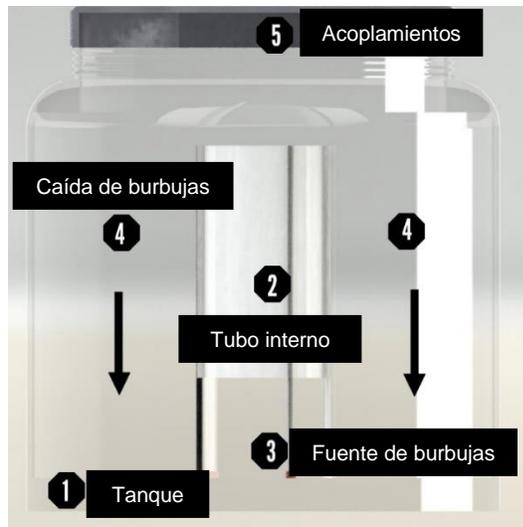
<b>Medida geométrica</b>	<b>Valor</b>
Volumen	1.9 L
Altura de tanque	0.12 m
Diámetro de tanque	0.14 m
Espesor de tanque	0.002 m

**Cuadro 8.4 Caracterización geométrica reactor Airlift con luz**

<b>Medida geométrica</b>	<b>Valor</b>
Volumen	1.9 L
Altura de tanque	0.12 m
Diámetro de tanque	0.14 m
Espesor de tanque	0.002 m
Altura de tubo interno	0.07 m
Diámetro de tubo interno	0.04 m
Espesor de tubo interno	0.001 m

## Partes de los biorreactores

En las figuras 8.1 y 8.2, se muestran las partes que conforman a los reactores con agitación (Airlift) y tanque estático.



**Figura 8.1** Partes del reactor Airlift.



**Figura 8.2** Partes del reactor estático.

## Transferencia de calor

El suministro de calor en proceso fermentativo es un punto crítico para favorecer el desarrollo microbiano [11]. En un sistema de biorreactores será común encontrar una combinación y por ende una sumatoria de los diferentes mecanismos de transferencia de calor (conducción, convección natural, convección forzada y radiación). Para llevar a cabo estudios de transferencia de calor en un sistema, se pueden realizar de dos formas, experimentalmente, mediante pruebas y mediciones, o analíticamente, mediante el análisis y elaboración de cálculos [12]. Una combinación de ambas metodologías resulta conveniente para comprobar que lo calculado analíticamente se cumple en la práctica.

En este proyecto se realizaron los cálculos de transferencia de calor mediante mediciones y determinaciones “en blanco”, es decir, empleando agua dentro de los sistemas de biorreactores.

Para los biorreactores sin presencia de luz, con agitación Airlift y estático, operando a 30°C, se estableció una combinación de mecanismos de transferencia de calor de la siguiente manera: convección natural (aire como medio), conducción (a través de la pared del tanque) y convección natural (a través del agua contenida en el tanque). En el cuadro 8.5, se muestra la fórmula utilizada y el calor total demandado para en cada uno de los mecanismos de transferencia de calor.

**Cuadro 8.5 Transferencia de calor en reactores sin luz**

Mecanismo de transferencia de calor	Fórmula	Calor calculado
Conducción	$\dot{Q}_{cond} = -kA \frac{dT}{dx}$ (W)	$\dot{Q}_{cond} = 18.3088$ W
Convección natural	$\dot{Q}_{conv} = hA_s(T_s - T_\infty)$ (W)	$\dot{Q}_{conv} = 1.1617$ W
Convección forzada	$\dot{Q}_{conv} = hA_s(T_s - T_\infty)$ (W)	$\dot{Q}_{conv} = 1.2384$ W
Calor total		$\dot{Q}_{total} = 20.7089$ W

Para los biorreactores con presencia de luz, con agitación Airlift y estático, operando a 30°C, se estableció una combinación de mecanismos de transferencia de calor de la siguiente manera: convección natural (agua como medio), conducción (a través de la pared del tanque) y convección natural (a través del agua contenida en el tanque). En el cuadro 8.6, se muestra la fórmula utilizada y el calor total demandado para en cada uno de los mecanismos de transferencia de calor.

**Cuadro 8.6 Transferencia de calor en reactores con luz**

Mecanismo de transferencia de calor	Fórmula	Calor calculado
Conducción	$\dot{Q}_{cond} = -kA \frac{dT}{dx}$ (W)	$\dot{Q}_{cond} = 11.7975$ W
Convección natural	$\dot{Q}_{conv} = hA_s(T_s - T_\infty)$ (W)	$\dot{Q}_{conv} = 40.1253$ W
Convección forzada	$\dot{Q}_{conv} = hA_s(T_s - T_\infty)$ (W)	$\dot{Q}_{conv} = 1.2384$ W
Calor total		$\dot{Q}_{total} = 53.1612$ W

El calor total demandado en el sistema de reactores con presencia de luz es mayor que en el sistema de reactores sin presencia de luz, esto se debe a que el primer sistema mencionado estaba abierto al ambiente, por lo que era propenso a disipaciones y/o pérdidas de calor, contrario al sistema sin luz, el cual era cerrado y con un sistema regulador automático. No obstante, ambos sistemas funcionaron de manera eficiente, cumpliendo con el objetivo de mantener la temperatura de las cinéticas fermentativas en 30°C.

## Evaluación de cinéticas fermentativas

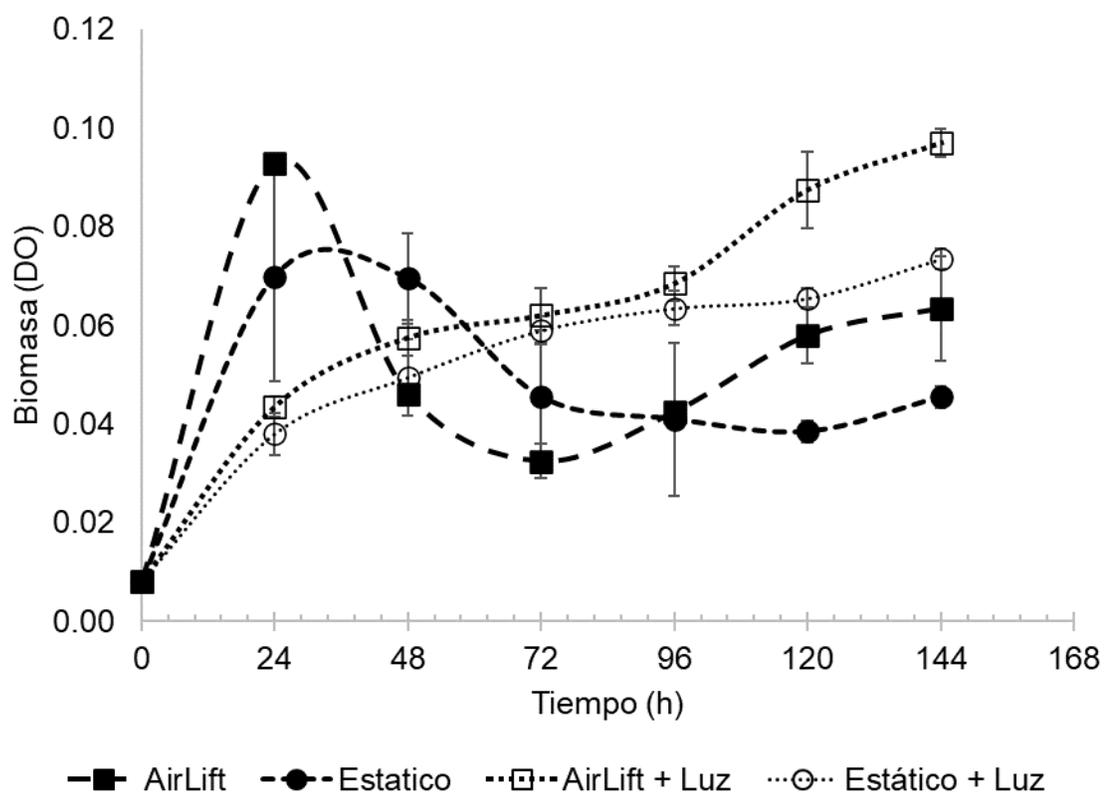
### Cinética de fermentación para la síntesis de ácido fólico

La cinética de crecimiento se muestra en la figura 1, donde se puede observar que la máxima tasa de crecimiento se alcanza en las primeras 24 h para los reactores sin luz, mientras que, para los reactores con luz, la máxima acumulación se observa a las 144 h. Los valores de biomasa obtenidos se ajustaron mediante la ecuación logística, para obtener la velocidad máxima de crecimiento ( $\mu_{max}$ ).

Para las condiciones del reactor Airlift ( $\mu=0.94 \text{ h}^{-1}$ ), y el reactor estático ( $\mu=0.97 \text{ h}^{-1}$ ), se muestra un mismo comportamiento con una rápida fase exponencial dentro de las primeras 24 h, para posteriormente tener una fase continua de decrecimiento hasta las 144 h. Para las condiciones de los reactores con luz, la velocidad de crecimiento fue menor ( $0.17 \text{ h}^{-1}$  y  $0.17 \text{ h}^{-1}$  para Airlift + Luz y Estático + Luz, respectivamente), pero se mantuvo en una tendencia creciente constante, hasta las 144 h.

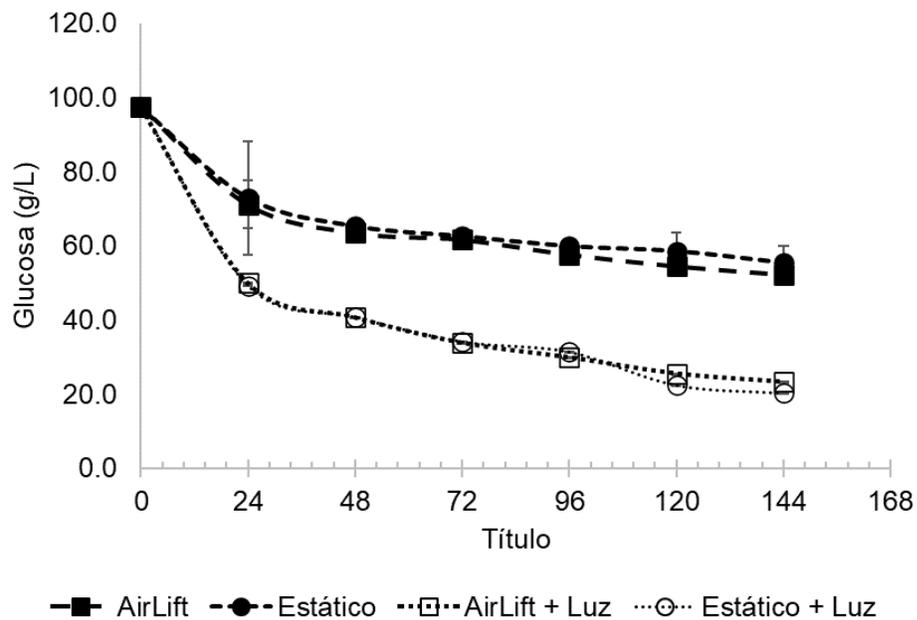
La luz en general, tienen un efecto fisiológico en todos los seres vivos, ya que favorece la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), como iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos, tanto orgánicos como inorgánicos [34]. Estos compuestos pueden generar un ambiente de estrés para los microorganismos, quienes responden ante un ambiente desfavorable sintetizando compuestos para contrarrestar los daños foto-oxidativos. Mantener un ambiente de oscuridad puede aumentar el crecimiento de *Aspergillus* spp., en las primeras horas de fermentación, sin embargo, la producción de biomasa tiende a disminuir al final del proceso. Por otra parte, mantener el proceso de fermentación bajo un ambiente circadiano de luz y oscuridad, favorece el mayor crecimiento conforme avanza el tiempo [35].

Palacio-Barrera y col (2018) mostraron el efecto de diferentes tipos de luces sobre la capacidad de crecimiento y el efecto que generan las luces de color sobre la producción de metabolitos secundarios.



**Figura 8.3** Absorbancias de las biomosas registradas durante el proceso de fermentación en los reactores diseñados.

El crecimiento del microorganismo requiere de una fuente de nitrógeno y de carbono, para realizar el funcionamiento metabólico de síntesis celular. La medición de la fuente de sustrato puede apoyar en la identificación de las condiciones de estrés por el microorganismo dentro de los biorreactores. El consumo de sustrato se mantuvo en constante disminución hacia las 144 h (Figura 8.4).

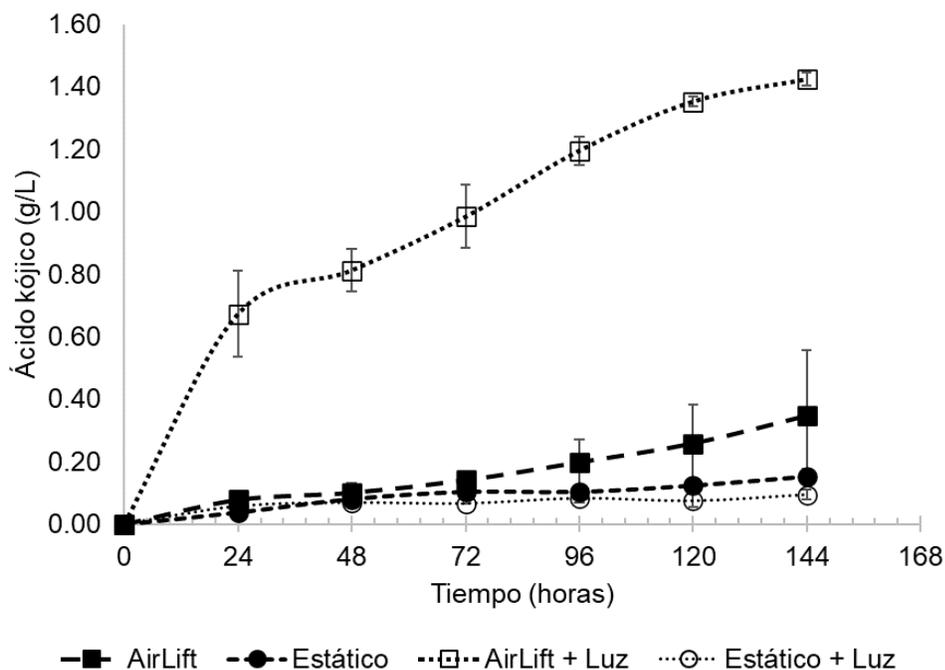


**Figura 8.4** Consumo de sustrato durante la cinética de producción de ácido kójico en biorreactores con luz y en oscuridad.

Al ser la glucosa el único sustrato disponible y de fácil asimilación, el microorganismo logra consumir la glucosa durante todo el proceso fermentativo. Sin embargo, en los reactores sin luz, el consumo significativo se presenta en las primeras 24 h, (27% y 25%, para Airlift y estático respectivamente), para posteriormente tener un consumo mínimo sin diferencia estadística significativa y lograr un consumo total de 46% para Airlift y 43% para estático. Para el caso de los reactores con exposición a la luz, las primeras 24 h marcan una proporción de consumo mayor, comparada con los demás tiempos. En este caso si se presenta una diferencia estadística significativa entre los tiempos, para lograr un consumo final de 76% para Airlift y de 79% para estático.

El comportamiento del consumo de sustrato durante el tiempo coincide con el desarrollo de la biomasa, y las condiciones de luz y oscuridad que requiere el microorganismo para su desarrollo.

Las síntesis y acumulación de ácido kójico en el medio de fermentación, se muestra en la figura 8.5. La máxima cantidad de ácido kójico se presenta a las 144 h con las condiciones de Airlift + luz.



**Figura 8.5** Producción de ácido kójico durante los reactores con luz y aireación.

Analizando la acumulación de ácido kójico y la biomasa determinada, se observa una correlación entre ambas variables para los procesos con luz ( $R^2=0.97$  para Airlift + luz, y  $R^2=0.934$  para estático + luz). Este comportamiento ha sido reportado por Ariff et al., 1996, mostrando una variación positiva conforme se oxigena el medio líquido de fermentación, incrementando la síntesis de ácido kójico.

Para estimar los parámetros asociados al crecimiento, se evaluaron los parámetros de acuerdo con lo reportado por Charles-Rodríguez et al., 2018, y se muestran los valores correspondientes en el cuadro 8.7.

**Cuadro 8.7 Parámetros estimados para los diferentes sistemas de biorreactores en la producción de ácido kójico**

	Airlift + Luz	Airlift	Estático + Luz	Estático
$\mu$ (h <sup>-1</sup> ) =	0.17	0.94	0.17	0.97
Y <sub>x/s</sub> (gX/gS) =	0.001	0.004	0.001	0.003
m =	0.57	5.87	4.39	5.56
Y <sub>p/s</sub> (α) (gAK/gS) =	17.55	0.40	1.49	0.50
k (β) =	0.000	0.045	0.000	0.023
-Q <sub>s</sub> (g/L.h) =	168.9	260.0	163.5	351.3
Q <sub>p</sub> (g/L.h) =	2963.1	104.6	243.4	175.9

Los diversos parámetros cinéticos estimados en los sistemas fermentativos nos permiten comparar de manera correcta y objetiva los procesos metabólicos del microorganismo. En este sentido, la velocidad de crecimiento ( $\mu$ ) nos indica cual sistema favorece un rápido desarrollo celular, siendo el sistema “Estático” el que presentó el máximo valor. Respecto al rendimiento biomasa-sustrato (Y<sub>x/s</sub>) que nos indica la capacidad del microorganismo de generar biomasa a partir del sustrato consumido, no se presenta un valor considerable, por lo que la cantidad de biomasa producida durante el proceso es muy baja en todos los sistemas, aunque el mayor valor se obtuvo en “Airlift”. El coeficiente de mantenimiento celular (m), representa el consumo de sustrato que se metaboliza en la obtención de energía para las funciones de mantenimiento celular, como membrana celular activa y el transporte de nutrientes, movilidad y estructura celular dañada. Se busca que este parámetro (m) sea el mínimo posible, ya que nos indica que el microorganismo se encuentra en menor condición de estrés y no gasta energía en mantener sus sistemas vitales activos. Para el caso del coeficiente de mantenimiento, el mejor sistema es el de “Airlift + Luz”.

Para evaluar la capacidad de formación de producto, se estimaron los parámetros  $\alpha$  y  $\beta$ , donde  $\alpha$  es el rendimiento producto-sustrato (Y<sub>p/s</sub>), que representa cuanto sustrato puede ser transformado en producto. En este rubro, el sistema “Airlift + Luz” fue el que obtuvo el máximo valor. El parámetro  $\beta$  nos ayuda a relacionar las condiciones de fermentación en las que la actividad del ácido kójico producido se asocia con la biomasa y es directamente influido por esta, lo que puede ser un factor significativo para una mejor productividad. Con estos parámetros, podemos calcular la

tasa específica de consumo de sustrato (-Qs), que es negativa debido a que se consume el sustrato, y por lo tanto se busca el menor valor posible, el cual se obtiene con las condiciones de “Estático + Luz”, sin tener una diferencia estadística significativa con el sistema “Airlift + Luz”. En cuanto a la tasa específica de formación de producto (Qp) nos indica que sistema mantiene una producción constante conforme avanza el tiempo, por lo que se busca el máximo valor posible, el cuál fue obtenido con el sistema “Airlift + Luz”.

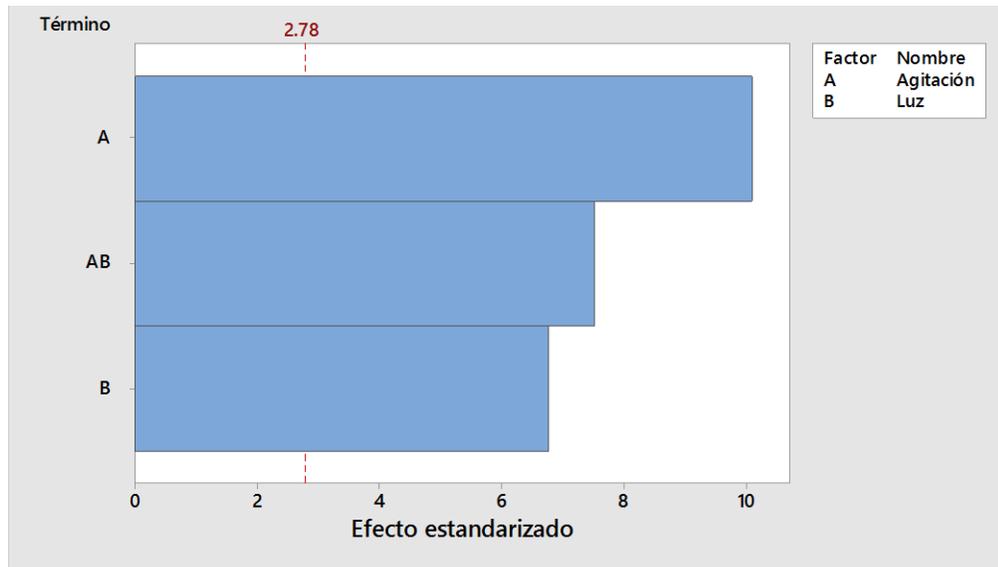
Considerando el análisis bajo un diseño factorial de la producción de ácido kójico, los rendimientos de los sistemas obtenidos a las 144 h de fermentación bajo diferentes condiciones de agitación y luz muestran un efecto ( $p < 0.05$ ) en lo individual, como en la interacción Agitación-Luz (Cuadro 8.8). El factor agitación (Airlift) es el que más contribuye a maximizar la producción de ácido kójico (Figura 8.6).

**Cuadro 8.8 Análisis de varianza de los parámetros evaluados a través de un diseño factorial completo**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	3	2.32305	0.77435	68.22	0.001
Lineal	2	1.67975	0.83987	73.99	0.001
Agitación	1	1.15955	1.15955	102.15	0.001
Luz	1	0.5202	0.5202	45.83	0.002
Interacciones de 2 términos	1	0.6433	0.6433	56.67	0.002
Agitación*Luz	1	0.6433	0.6433	56.67	0.002
Error	4	0.0454	0.01135		
Total	7	2.36845			

Las variables experimentales, agitación y luz, fueron correlacionadas siguiendo la ecuación propuesta por los datos evaluados, mostrando la variación en la respuesta y el valor R<sup>2</sup> del modelo. El valor R<sup>2</sup> fue de 0.98, siendo adecuado para futuras estimaciones de los factores analizados. El modelo lineal que describe la variación de respuesta de producción de ácido kójico en función de la agitación (A) y Luz (B) probados en modelos experimentales es:  $AK \text{ (g/L)} = 0.5044 + 0.3807 (A) + 0.2550 (B) + 0.2836 (A)*(B)$ .

Bajo las condiciones del modelo anterior, se permite estimar un valor de  $1.42 \pm 0.075$  mg/l de ácido kójico, empleando las condiciones de "Airlift + Luz".



**Figura 8.6** Diagrama de Pareto de efectos estandarizados.

## CONCLUSIONES

Finalmente, se concluye que el efecto de agitación del reactor Airlift y la presencia de luz sí tienen un efecto para la producción de ácido kójico a partir de *Aspergillus niger*.

La investigación desarrollada en este proyecto permiten establecer como condiciones de operación adecuadas para la producción de ácido kójico con *Aspergillus niger*;: 30°C de temperatura dentro del sistema, entrada de luz natural y/o artificial durante todo el proceso fermentativo y agitación con columna de burbujas.

Finalmente, sería conveniente que al replicar la metodología de obtención de ácido kójico, se efectuara el conteo del número de esporas a inocular y se evaluara la cinética fermentativa cada 12 h.

## REFERENCIAS

1. Dalal, K. S., Chaudhari, M. A., Dalal, D. S., & Chaudhari, B. L. (2021). The first efficient biocatalytic route for the synthesis of Kojic acid derivatives in aqueous media. *Catalysis Communications*, 152, 106-289. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2021.106289>
2. Frederick, U. O., & Samson, H. A. (2020). Bioactive lead compounds effective against skin diseases. *Phytochemicals as Lead Compounds for New Drug Discovery*, 211–220. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817890-4.00013-5>
3. Saeedi, M., Eslamifar, M., & Khezri, K. (2019). Kojic acid applications in cosmetic and pharmaceutical preparations. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 110, 582–593. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.006>
4. Sauer, M., Mattanovich, D., & Marx, H. (2013). Microbial production of organic acids for use in food. *Microbial Production of Food Ingredients, Enzymes and Nutraceuticals*, 288–320. <https://doi.org/10.1533/9780857093547.2.288>
5. Zain, M., El-Sheikh, H., Soliman, H., & Khalil, A. (2011). Effect of certain chemical compounds on secondary metabolites of *Penicillium janthinellum* and *P. duclauxii*. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15(3), 239–246. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2010.09.004>
6. Ruíz-Leza, H. A., & Rodríguez-Jasso, R.M., & Rodríguez-Herrera, R., & Contreras-Esquivel, J.C., & Aguilar, C. N. (2007). Diseño de biorreactores para fermentación en medio sólido. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6(1),33-40. [fecha de Consulta 14 de junio de 2021]. ISSN: 1665-2738. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62060105>
7. Lira Parada, P. A., Pettersen, E., & Bar, N. (2019). Bioreactor Scaling Enhances Feedback Control Of Concentration, Rates, and Yields. *IFAC-PapersOnLine*, 52(1), 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.ifacol.2019.06.068>

8. Quirós Fournier, J.P. (2014). Determinación de modelos para la predicción de los coeficientes volumétricos de transferencia de masa (KLA) oxígeno-medio de cultivo en biorreactores tipo tanque de agitado (Licenciatura en Ingeniería Química). Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. Recuperado de: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/2426/1/37234.pdf>
9. Huamán Gastelú, D. (2019). Diseño y construcción de un biorreactor “Airlift” y determinación de parámetros de operación óptimos para su aplicación en procesos fermentativos (Ingeniero Agroindustrial). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. Recuperado de: [https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/10442/Huaman\\_gd.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/10442/Huaman_gd.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
10. LIZARDI JIMÉNEZ, M. A., SAUCEDO CASTAÑEDA, G., & GUTIÉRREZ ROJAS, M. (s. f.). *HIDRODINÁMICA DE UN BIORREACTOR AIRLIFT TRIFÁSICO: EFECTO DE LA GEOMETRÍA* [ILUSTRACIÓN]. CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA Y BIOINGENIERÍA. [https://smbb.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA\\_V/CV-23.pdf](https://smbb.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA_V/CV-23.pdf)
11. Kumar, M., Prasad, D., Giri, B. S., & Singh, R. S. (2019). Temperature control of fermentation bioreactor for ethanol production using IMC-PID controller. *Biotechnology Reports*, 22, e00319. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00319>
12. Cengel, Y. A., & Castellanos, J. H. P. (2007). *Transferencia de calor y masa* (3.<sup>a</sup> ed., Vol. 1). McGraw-Hill Education.
13. Garcia-Ochoa, F., & Gomez, E. (2009). Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview. *Biotechnology Advances*, 27(2), 153–176. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.10.006>
14. *Aditivos alimentarios*. (2018, 31 enero). ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-additives#:~:text=%C2%BFQu%C3%A9%20son%20los%20aditivos%20ali>

[mentarios%3F%201%20Aromatizantes.%20Son,aditivos.%20.%204%20Respuesta%20de%20la%20OMS.%20](#)

15. Ibáñez, F. (2003). ADITIVOS ALIMENTARIOS. *Universidad Pública de Navarra*, 1(1), 1–8. [https://www.academia.edu/9076426/ADITIVOS\\_ALIMENTARIOS](https://www.academia.edu/9076426/ADITIVOS_ALIMENTARIOS)
16. Dergal, S. B. (2006a). *Química de los alimentos*. Pearson Educación.
17. Garrigues, S., Martínez-Reyes, N., & de Vries, R. P. (2021). Genetic Engineering for Strain Improvement in Filamentous Fungi. *Encyclopedia of Mycology*, 489–504. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819990-9.00006-8>
18. Nützmann, H. W., Schroeckh, V., & Brakhage, A. A. (2012). Regulatory Cross Talk and Microbial Induction of Fungal Secondary Metabolite Gene Clusters. *Methods in Enzymology*, 325–341. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-404634-4.00016-4>
19. El-Enshasy, H. A. (2007). Filamentous Fungal Cultures – Process Characteristics, Products, and Applications. *Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources*, 225–261. <https://doi.org/10.1016/b978-044452114-9/50010-4>
20. Karimi, S., Ferreira, J. A., & Taherzadeh, M. J. (2021). The Application of Fungal Biomass as Feed. *Encyclopedia of Mycology*, 601–612. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819990-9.00011-1>
21. Veiter, L., Rajamanickam, V., & Herwig, C. (2018). The filamentous fungal pellet—relationship between morphology and productivity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(7), 2997–3006. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8818-7>
22. Su, X., Schmitz, G., Zhang, M., Mackie, R. I., & Cann, I. K. (2012). Heterologous Gene Expression in Filamentous Fungi. *Advances in Applied Microbiology Volume 81*, 1–61. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-394382-8.00001-0>

23. INTRODUCCIÓN A BIORREACTORES. (s. f.). En INTRODUCCIÓN A BIORREACTORES (1.a ed., pp. 1–8). <http://www.criba.edu.ar/cinetica/reactores/CAPITULO%208.pdf>
24. Sepúlveda, L., & Aguilar, C. (2014). Cinética microbiana de microorganismos biofertilizantes. En Biofertilizantes Microbianos (1.a ed., Vol. 1, pp. 343–349). Universidad Autónoma de Coahuila. [https://www.researchgate.net/publication/264442301\\_Cinetica\\_microbiana\\_de\\_microorganismos\\_biofertilizantes](https://www.researchgate.net/publication/264442301_Cinetica_microbiana_de_microorganismos_biofertilizantes)
25. Almudena, M (1999). Desarrollo de Modelos Cinéticos para Bioprocesos: Aplicación a la Producción de Xantano (Tesis Doctoral). Universidad Complutense de Madrid, Madrid. Recuperado de: <https://www.bing.com/search?q=Desarrollo+de+Modelos+Cin%C3%A9ticos+para+Bioprocesos%3A+Aplicaci%C3%B3n+a+la+Producci%C3%B3n+de+Xantano&cvid=e3651fd2e9564d1dbaed4318c4b54960&aqs=edge..69i57.1048j0j1&FORM=ANAB01&PC=LCTS>
26. Calderón, J.F. (2017). AJUSTE DE UN MODELO CINÉTICO PARA EL CRECIMIENTO DE *Lactobacillus acidophilus* EN LA FERMENTACIÓN DE UN SUSTRATO COMPLEJO (Tesis de Licenciatura). FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA, Bogotá. Recuperado de: <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/6598/1/6121940-2017-2-IQ.pdf>
27. Yamada, R., Yoshie, T., Wakai, S., Asai-Nakashima, N., Okazaki, F., Ogino, C., Hisada, H., Tsutsumi, H., Hata, Y., & Kondo, A. (2014). *Aspergillus oryzae*-based cell factory for direct kojic acid production from cellulose. *Microbial Cell Factories*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-71>
28. El-Kady, I. A., Zohri, A. N. A., & Hamed, S. R. (2014). Kojic Acid Production from Agro-Industrial By-Products Using Fungi. *Biotechnology Research International*, 2014, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2014/642385>

29. Ammar, H. A. M., Ezzat, S. M., & Houseny, A. M. (2017). Improved production of kojic acid by mutagenesis of *Aspergillus flavus* HAK1 and *Aspergillus oryzae* HAK2 and their potential antioxidant activity. *3 Biotech*, 7(5). <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0905-4>
30. Abo-Zed, A., & Phan, T. (2020). Tympanic membrane perforation secondary to *Aspergillus niger* otomycosis. *IDCases*, 22, e00944. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2020.e00944>
31. Terebieniec, A., Chroumpi, T., Dilokpimol, A., Aguilar-Pontes, M. V., Mäkelä, M. R., & de Vries, R. P. (2021). Characterization of d-xylose reductase, XyrB, from *Aspergillus niger*. *Biotechnology Reports*, 30, e00610. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00610>
32. Putri, D. N., Khootama, A., Perdani, M. S., Utami, T. S., & Hermansyah, H. (2020). Optimization of *Aspergillus niger* lipase production by solid state fermentation of agro-industrial waste. *Energy Reports*, 6, 331–335. <https://doi.org/10.1016/j.egyr.2019.08.064>
33. Ellena, V., Bucchieri, D., Arcalis, E., Sauer, M., & Steiger, M. G. (2021). Sclerotia formed by citric acid producing strains of *Aspergillus niger*: Induction and morphological analysis. *Fungal Biology*. Published. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.01.008>
34. Srinivas, U. S., Tan, B. W., Vellayappan, B. A., & Jeyasekharan, A. D. (2019). ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox biology*, 25, 101084.
35. Naseer, O., Khan, J. A., Omer, M. O., Naseer, J., Sohail, M. L., Munir, M. A., ... & Shahid, M. (2020). Exogenous factors affecting growth of *Aspergillus* species. *Indian Journal of Animal Research*, 54(8), 994-999.
36. Palacio-Barrera, A. M., Areiza, D., Zapata, P., Atehortúa, L., Correa, C., & Peñuela-Vásquez, M. (2019). Induction of pigment production through media composition, abiotic and biotic factors in two filamentous fungi. *Biotechnology Reports*, 21, e00308.

37. (Ariff, A. B., Salleh, M. S., Ghani, B., Hassan, M. A., Rusul, G., & Karim, M. I. A. (1996). Aeration and yeast extract requirements for kojic acid production by *Aspergillus flavus* link. *Enzyme and Microbial Technology*, 19(7), 545–550. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(96\)00065-8](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(96)00065-8)
38. Charles-Rodríguez, V., Guerrero-Mata, A., Martínez-Vázquez, G., Cruz-Hernández, M. A., Belmares-Cerda, R. E., & Robledo, A. (2018). Bioreactor analysis for the corn-cob valorization in the xylanase production. *Waste and Biomass Valorization*, 9(6), 995-1001.

## ANEXOS

### Unidades empleadas

Descripción	Abreviatura
Centímetro (s)	cm
Grados Celsius	°C
Grados Kelvin	°K
Gramo (s)	g
Hora (s)	h
Kilogramo (s)	kg
Litro (s)	L
Metro (s) cuadrado (s)	m <sup>2</sup>
Metro (s) cúbico (s)	m <sup>3</sup>
Metro (s) por segundo	m/s
Microgramo (s)	µg
Microlitro (s)	µl
Miligramo	mg
Mililitro (centímetro cúbico)	ml
Milímetro (s)	mm
Minuto (s)	min
Por ciento	%
Segundo (s)	s
Watt	W

# Cálculos de transferencia de calor

Datos propios:

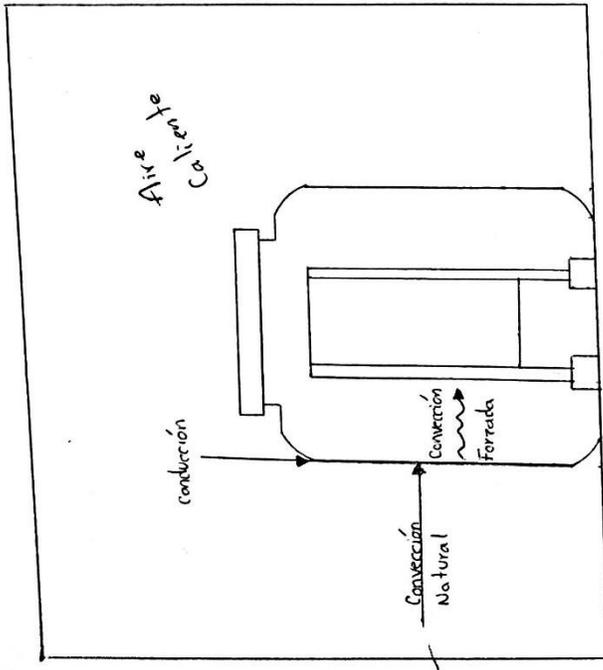
$-k = 0.485 \frac{W}{m \cdot K}$  PEAD  
 $T_{sx} = 304.15 \text{ } ^\circ K$  {pared externa.  
 $T_{si} = 303.15 \text{ } ^\circ K$  {pared interna.

$A = 0.0755 \text{ m}^2$   
 $x = 0.002 \text{ m}$

Sustituyendo:

$$q = \left( 0.485 \frac{W}{m \cdot K} \right) (0.0755 \text{ m}^2) \left( \frac{304.15 \text{ } ^\circ K - 303.15 \text{ } ^\circ K}{0.002 \text{ m}} \right)$$

∴ = 18.3088 W



Conducción

$$q = -kA \frac{(T_{sx} - T_{si})}{x}$$

Donde:

-k = Conductividad térmica del material.

A = Área

x = Espesor

$T_{sx}$  =  $T^\circ$  superficie exterior.

$T_{si}$  =  $T^\circ$  superficie interior.

Convección natural

$$q = Ah(T_s - T_{\infty})$$

h = Coeficiente de calor por convección.

A = Área superficial de transferencia de calor.  
(Enchufado)

T<sub>s</sub> = T° Superficie.

T<sub>∞</sub> = T° Del fluido lejos de la superficie.

Datos propios:

$$(h) = x$$

$$A = 0.1080 \text{ m}^2$$

$$T_s = 305.15^\circ\text{K}$$

$$T_{\infty} = 303.15^\circ\text{K}$$

q

$$q = (0.1080 \text{ m}^2) (1.1617 \frac{\text{W}}{\text{m}^2\text{K}}) (2^\circ\text{K})$$

$$\therefore q = 0.2509 \text{ W}$$

h

$$Nu = \frac{hD}{k}$$

$$Nu = 0.10 (Ra)$$

$$Ra = Gr \cdot Pr$$

Gr

$$Gr = \frac{g L^3 \beta \Delta T \rho^2}{\mu^2}$$

g = Gravedad

L = Longitud característica

β = Coeficiente de expansión volumétrica.

ΔT = Diferencia de T°'s entre el fluido y objeto.

ρ = Densidad del fluido

μ = Viscosidad cinemática del fluido.

Sustituyendo en Gr

$$Gr = (9.8066 \frac{\text{m}}{\text{s}^2}) (0.12 \text{ m})^3 (\frac{1}{305.15^\circ\text{K}}) (1^\circ\text{K}) (1.1567 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3})^2$$

$$(1.85 \times 10^{-5} \frac{\text{kg}}{\text{m} \cdot \text{s}})^2$$

Sustituyendo en h

$$h = \frac{Nu k}{D}$$

$$h = (5.3616) (0.026 \frac{\text{W}}{\text{m} \cdot \text{K}}) / (0.12 \text{ m})$$

Calculo de Nu

$$Nu = 0.10 (1.5413 \times 10^5)^{1/3}$$

$$\therefore Nu = 5.3616$$

$$\therefore h = 1.1617 \frac{\text{W}}{\text{m}^2 \cdot \text{K}}$$

### Convección forzada

$$q = A h (T_s - T_\infty)$$

donde:

$h$  = Coeficiente de calor por convección.

$A$  = Área superficial de transferencia de calor.

$T_s$  =  $t^\circ$  superficie.

$T_\infty$  =  $t^\circ$  fluido lejos de superficie.

Re:

$$Re = \frac{\rho v_{prom} D}{\mu} = \frac{v_{prom} D}{\nu}$$

Donde:

$v_{prom}$ : Velocidad promedio del flujo.

$D$  = Diámetro del tubo

$\nu$  = Viscosidad cinemática del fluido.

$v_{prom}$ :  $V = \frac{Q}{A} \rightarrow$  Caudal volumétrico  
 $A \rightarrow$  Área del tubo.

$$V = \frac{0.00003 \frac{m^3}{s}}{0.0755 m^2}$$

$$\therefore V = 0.0004 \frac{m}{s}$$

sustituyendo en Re

$$Re = \frac{(995.71 \frac{kg}{m^3}) (0.0004 \frac{m}{s}) (0.12987 m)}{(0.000798 \frac{kg}{m \cdot s})}$$

$$\therefore Re = 64.8185 \quad \therefore \text{Re F. Laminar.}$$

$Nu$ ; considerando f. laminar con  $\epsilon^\circ$  superficial constante.

$$Nu = \frac{h D}{k} = 3.66$$

$h$

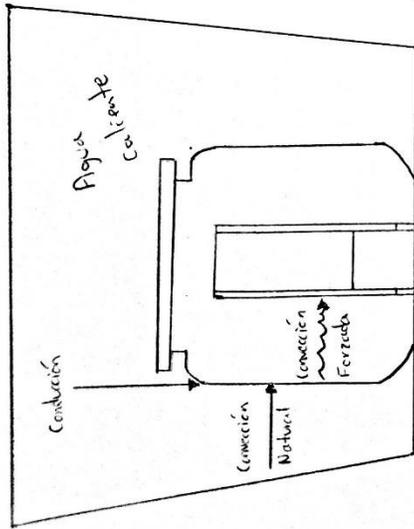
$$h = \frac{Nu \cdot k}{D} = \frac{(3.66) (0.582 \frac{W}{m^2 \cdot K})}{(0.12987 m)}$$

$$\therefore h = 16.4020 \frac{W}{m^2 \cdot K}$$

$q$

$$q = (16.4020 \frac{W}{m^2 \cdot K}) (0.0755 m^2) (304.15^\circ K - 303.15^\circ K)$$

$$\therefore q = 1.2384 W$$



$T_{s_x} = 304.15 \text{ } ^\circ\text{K}$  { Pared externa.  
 $T_{s_i} = 303.15 \text{ } ^\circ\text{K}$  { Pared interna.

Datos propios:  
 $-k = 0.275 \frac{\text{W}}{\text{m} \cdot \text{K}}$  PET

$A = 0.0658 \text{ m}^2$

$x = 0.002 \text{ m}$

Sustituyendo:

$$q = \left( 0.275 \frac{\text{W}}{\text{m} \cdot \text{K}} \right) \left( 0.0658 \text{ m}^2 \right) \left( \frac{304.15 \text{ } ^\circ\text{K} - 303.15 \text{ } ^\circ\text{K}}{0.002 \text{ m}} \right)$$

Conducción

$$q = -k A \frac{(T_{s_x} - T_{s_i})}{x}$$

$$\therefore q = 11.7975 \text{ W}$$

Donde:

$-k =$  Conductividad térmica del material.

$A =$  Área

$x =$  Espesor

$T_{s_x} = T^\circ$  superficie exterior.

$T_{s_i} = T^\circ$  superficie interior.

Convección natural

$$q = Ah (T_s - T_{\infty})$$

$h$  = Coeficiente de calor por convección.

$A$  = Área superficial de transferencia de calor (tubo).

$T_s$  =  $T^{\circ}$  superficie.

$T_{\infty}$  =  $T^{\circ}$  Del fluido lejos de la superficie.

Datos dados:

$$\phi = x$$

$$A = 0.0504 \text{ m}^2$$

$$T_s = 305.15^{\circ}\text{K}$$

$$T_{\infty} = 303.15^{\circ}\text{K}$$

$$q = (0.0504 \text{ m}^2) \left( \frac{398.0685 \text{ W}}{\text{m}^2 \cdot \text{K}} \right) (2^{\circ}\text{K})$$

$$\therefore q = 40.1253 \text{ W}$$

$$\underline{Nu} = \frac{hD}{k}$$

$$Nu = 0.10 (Ra)$$

$$Ra = Gr \cdot Pr$$

$$\underline{Gr} = g L^3 \beta \Delta T \rho^2$$

Substituyendo en Gr

$$Gr = (9.8066 \frac{\text{m}}{\text{s}^2}) (0.12 \text{ m})^3 \left( \frac{1}{305.15^{\circ}\text{K}} \right) (1^{\circ}\text{K}) \left( 995.7 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right)^2$$

$$Gr = 8.6456 \times 10^7$$

Substituyendo en Ra

$$Ra = (8.6456 \times 10^7) (5.42)$$

$$\therefore Ra = 4.6859 \times 10^8$$

Calculo de Nu

$$Nu = 0.10 (4.6859 \times 10^8)^{1/5}$$

$$\therefore Nu = 77.6719$$

Substituyendo en h

$$h = \frac{Nu \cdot k}{D}$$

$$h = (77.6719) \left( \frac{0.615 \frac{\text{W}}{\text{m} \cdot \text{K}}}{0.12 \text{ m}} \right)$$

$$\therefore h = 398.0685 \frac{\text{W}}{\text{m}^2 \cdot \text{K}}$$

Convección forzada

$$Q = Ah (T_s - T_{\infty})$$

donde:

$h$  = Coeficiente de calor por convección.

$A$  = Área superficial de transferencia de calor.

$T_s$  =  $T^{\circ}$  superficial.

$T_{\infty}$  =  $T^{\circ}$  fluido lejos de superficie.

Re

$$Re = \frac{\rho V_{prom} D}{\mu} = \frac{V_{prom} D}{\nu}$$

Donde:

$V_{prom}$  = Velocidad promedio del flujo.

$D$  = Diámetro del tubo.

$\nu$  = Viscosidad cinemática del fluido.

$-V_{prom}$ :  $V = \frac{Q}{A}$  Caudal volumétrico.

$-V_{prom}$ :  $V = \frac{Q}{A}$  Área del tubo.

$$V = \frac{0.00003 \frac{m^3}{s}}{0.0755 m^2}$$

$$\therefore V = 0.0004 \frac{m}{s}$$

$$\therefore \sqrt{0.0004 \frac{m}{s}}$$

Substituyendo en Re

$$Re = \frac{(995.7 \frac{kg}{m^3}) (0.0004 \frac{m}{s}) (0.142603 m)}{(0.000798 \frac{kg}{m \cdot s})}$$

$$(0.000798 \frac{kg}{m \cdot s})$$

$\therefore Re = 71.1736$   $\therefore Re$  F. Laminar.

$NU$ ; Considerando F. laminar con  $T^{\circ}$  superficial constante

$$Nu = \frac{h D}{k} = 3.66$$

$$\frac{h}{D} = \frac{Nu \cdot k}{D} \quad h = \frac{(3.66) (0.615 \frac{W}{m \cdot K})}{(0.142603 m)}$$

$$\therefore h = 15.7844 \frac{W}{m^2 \cdot K}$$

$Q$

$$Q = (15.7844 \frac{W}{m^2 \cdot K}) (0.0755 m^2) (1^{\circ}K)$$

$$\therefore Q = 1.1917 W$$