

“Determinación de los Parámetros de Proceso, necesarios para el Diseño de un Fermentador Continuo, para obtener Levaduras de Panificación”

Gandhi Armas Andrade¹, Mirella Bermeo de Bonilla²

¹Ingeniero en Alimentos 2006

²Directora de Tesis. Ingeniera Química, Universidad de Guayaquil, 1983; Postgrado en Docencia Superior, Universidad de La Habana, 1996; Master en Ingeniería ambiental, Universidad de Guayaquil-Coruña, 2005; Profesora de Bioingeniería en Alimentos (ESPOL), Enzimología de alimentos (ESPOL), Educación Ambiental (ESPOL), Ingeniería en aguas (Universidad de Guayaquil).

RESUMEN:

El presente estudio tiene como objetivo principal la determinación experimental de los datos que deben ser usados para el posterior diseño de un fermentador continuo a escala semi-industrial, para la producción continua de levaduras de panadería.

Para alcanzar dicho objetivo se parte con el dimensionamiento y construcción del equipo piloto en el cual se harán las determinaciones, teniendo como datos de partida, para su construcción, consideraciones prácticas y datos bibliográficos relativos al crecimiento discontinuo de levaduras para panificación, ampliamente estudiada en la rama de la bioingeniería. La puesta en marcha de nuestro biorreactor proveerá datos de carácter microbiológicos y físico-químicos, los cuales mediante el uso conjunto de la teoría del quimiostato e hipótesis aceptables, nos permitirán encontrar datos prácticos aplicables en el diseño mecánico de un biorreactor a escala semi-industrial, dichos resultados son: la velocidad de dilución en la cual se obtiene el máximo en la productividad volumétrica de biomasa ($D_{opt.}$); la velocidad de dilución de vaciado ($D_{crit.}$), definida como la velocidad de dilución en la cual la concentración de biomasa en el equilibrio es cero; las necesidades de eliminación de calor por unidad de volumen y de tiempo, para mantener la temperatura biológicamente satisfactoria; la potencia de agitación que debe ser suministrada por impeler como función del volumen de reactor; y el valor del coeficiente transferencia de oxígeno ($K_L a$), que debe solventar el sistema de transferencia de oxígeno del quimiostato.

Los datos obtenidos aquí obtenidos serán útiles, para el escalado del proceso, siempre y cuando, se opere bajo las mismas condiciones de cultivo que se adoptaron en este estudio (formulación del medio de cultivo, Temperatura, pH, tipo de cepa de levadura a usar).

REVIEW:

The present study has as main goal, the experimental determination of data that must be used to the subsequent design of a continuous fermentor to semi-industrial scale, to the continuous production of bakery's yeast.

To achieve the mentioned goal, it begins from the dimensions and building the show equipment, in which will make the determinations having beginning data, to its building, practicing tests and bibliography data related to discontinued increasing of yeast for baking, widely studied in the bioengineering career. The use of our bio jet will provide us kind of microbiological and physico-chemistry data, which according to the use quimiostato studies and suitable hypothesis, will allow us to find useful and helpful data in the mechanic design of a bio jet in a semi-industrial scale, these results are: dilution velocity in which you get the maximum in the volumetric productivity of bio-mass ($D_{opt.}$); dilution velocity of die-cast ($D_{crit.}$), defined as the dilution velocity in which the bio-mass concentration in die balance is zero; the necessities of hot elimination per unity of volume and time, to keep a satisfied biologically temperature; the restlessness power that must be provided to absorb as a function of the reactor volume; and the value of rate transfer of oxygen ($k_L a$), that has to solve the transfer system of oxygen of quimiostato.

The obtained data here will be useful, to ascension of the process, therefore, working according to the same terms of harvest that were adopted in this study (statement of environment harvest, temperature, pH, kind of vine of yeast to use).

INTRODUCCIÓN:

Un quimiostato es un reactor de tanque agitado continuo o CSTR (en inglés, continuous stirred – tank reactor) en el cual el volumen de líquido se mantiene constante, debido a la igualación de los flujos de entrada y salida. Los parámetros de operación característicos en los reactores continuos son la velocidad de dilución D y el tiempo medio de residencia τ , definido como el recíproco de la velocidad de dilución. En un quimiostato las concentraciones en el estado estacionario de biomasa, producto y sustrato están en función de la velocidad dilución utilizada (proporción entre el caudal y el volumen de líquido en el reactor).

El objetivo principal de esta tesis es la determinación de la información que debe ser usada para el diseño futuro de un quimiostato semi-industrial, para producir levaduras panificadoras, utilizando como medio de cultivo un preparado hecho a base de melaza de caña de azúcar.

Los aspectos que cubre el diseño de un quimiostato son la determinación de: el volumen de reactor y el caudal de trabajo; el diseño y elección del equipo de transferencia de calor (tanques enchaquetados, serpentines, intercambiadores de carcasa y tubos, etc.); la potencia necesaria de agitación; y las condiciones adecuadas de transferencia de oxígeno (presión parcial de oxígeno en el aire de entrada, velocidad de agitación, uso de antiespumantes, etc.).

CONTENIDO:

El desarrollo del presente estudio se organizó bajo los siguientes títulos:

1. DIMENSIONAMIENTO DEL PROTOTIPO EXPERIMENTAL

Esta sección aborda la recopilación de la información necesaria para el diseño del prototipo en el cual se llevarán a cabo las determinaciones. Los aspectos que el diseño debe cubrir son los siguientes:

1.1. Dimensionamiento del tanque reactor.

El dimensionamiento del tanque reactor consiste primeramente en la elección de un diseño general tanque-equipos de agitación, lo cual se basa en la consideración de las características reológicas del medio de cultivo y los requerimientos de aireación. Luego, para el cálculo del volumen y del rango de caudales a utilizar, se adoptarán como compromisos, la minimización del tamaño del equipo, y la procuración del no vaciado de las células cuando se trabaje con el límite superior del rango de caudales. El diseño elegido es el siguiente:

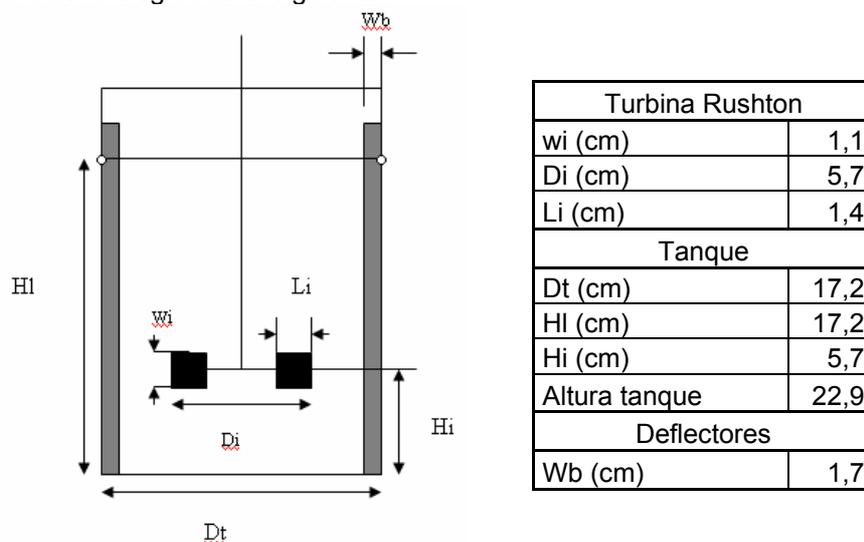


Figura 1. Dimensiones del tanque reactor del prototipo.

1.2. Selección del motor agitador.

La elección de la potencia debe responder a dos premisas:

- La potencia del motor agitador debe ser la suficiente para generar un régimen turbulento de flujo totalmente desarrollado.
- La turbulencia generada por el agitador no debe exceder el límite sobre el cual se produce daño por cizalla.

La consideración simultánea de ambos aspectos, nos generará un rango de valores de potencia válido. Se elegirá finalmente el motor más pequeño, ofertado en el mercado, que se encuentre dentro del intervalo de potencias.

Se obtuvo como resultado que la potencia del motor del quimiostato debe ser de 0.05 hp (basándose en una eficiencia del sistema mecánico-eléctrico estimada del 75%).

1.3. Cálculo del caudal de líquido refrigerante o calefactor.

El objetivo del sistema de transferencia de calor en el reactor piloto, es el de mantener la temperatura de fermentación en un rango no mayor a $32 \pm 1^\circ\text{C}$, el cual es biológicamente satisfactorio para el crecimiento de *saccharomyces cerevisiae*. Para alcanzar dicho objetivo se adoptara como sistema de calefacción o refrigeración una chaqueta, que cubra los $\frac{3}{4}$ de la altura total del tanque. Dicha elección tiene como fundamento las bajas necesidades caloríficas que se proveen en un reactor de este tamaño. Bajo este contexto, el presente capítulo tiene como objetivo final, la obtención del caudal de fluido calefacción o refrigeración, del que se debe disponer en la chaqueta para mantener la temperatura del caldo de fermentación dentro de lo satisfactorio.

Para alcanzar dicho objetivo se comenzará con la determinación de las necesidades caloríficas del medio de cultivo (eliminación o retiro de calor), mediante el balance de energía del mismo, cálculo que dio como resultado $Q = 0.036 \text{ Kj / seg}$. Este dato incorporado en la ecuación general de diseño $Q = U A \Delta T$, nos permite encontrar el caudal másico de agua que debe entrar en la chaqueta.

1.4. Selección del compresor de aire.

El compresor de aire debe proveer, la velocidad superficial de aire en el fermentador, necesaria para generar un coeficiente de transferencia de masa ($k_L a$) mayor a un valor crítico $(k_L a)_{crit}$, el cual se define como el coeficiente de transferencia de masa necesario para cubrir la demanda volumétrica de oxígeno cuando la concentración del mismo en el caldo de fermentación es C_{crit} , definida como la concentración de oxígeno sobre la cual la demanda específica de oxígeno q_o ($\text{mol O}_2/\text{mol biomasa}\cdot\text{seg}$) es constante e independiente de la concentración de oxígeno en el medio. Bajo estos criterios se determinó que el caudal de aire necesario en el reactor piloto debe ser de 1.84 Lt/ seg.

2. PRUEBAS EXPERIMENTALES.

La parte experimental de esta tesis comprende: el análisis y pretratamiento de la melaza; metodología utilizada para la siembra; materiales, métodos y determinaciones llevadas a cabo durante el cultivo continuo y discontinuo. La presente sección esta dedicado a detallar las técnicas experimentales adoptadas para el trabajo de laboratorio, que se requiere realizar para alcanzar los objetivos propuestos.

3. ANALISIS DE RESULTADOS

El objetivo de este capítulo es la obtención de la relación entre, la información útil para el diseño, y los requerimientos de producción del quimiostato. Dicha información útil para el diseño es, el volumen de reactor, el caudal de operación, la potencia del motor agitador, y las necesidades caloríficas del sistema. El objetivo propuesto será alcanzado mediante el estudio de de información obtenida de la operación del prototipo construido. Los resultados obtenidos aquí, constituyen los datos necesarios para el diseño y construcción posterior, de un quimiostato a escala semi – industrial, que opere bajo las mismas condiciones de operación que se adoptaron el prototipo experimental (composición de medio de cultivo, tipo de cepa, pH, temperatura, y velocidad superficial de aire).

3.1. Estudio de la cinética celular mediante los datos generados en el quimiostato.

Las constantes que constituyen parámetros de las ecuaciones que explican la concentración de biomasa y sustrato, como funciones de la velocidad de dilución en el quimiostato, son:

- ✓ μ_{\max} = velocidad específica de crecimiento celular (gr biomasa / gr biomasa · h), cuando la concentración de biomasa, X , es mucho mayor a K_s .
- ✓ K_s = concentración de biomasa (gr biomasa / lt) en la cual la velocidad específica de crecimiento celular es la mitad de la máxima (μ_{\max}).
- ✓ Y_{xs} = rendimiento estequiométrico de biomasa con respecto a sustrato.
- ✓ m_s = coeficiente de mantenimiento, definido como los gramos de sustrato consumidos por gramo de biomasa por unidad de tiempo, debidos únicamente por concepto del mantenimiento (movilidad celular, mantenimiento del pH interno, etc.).

3.1.1. Determinación de los parámetros cinéticos intrínsecos (μ_{\max} , K_s).

En el balance de biomasa de un reactor continuo generalizado se obtuvo como resultado que:

$$s = \frac{D \cdot K_s}{\mu_{\max} - D}$$

Donde s es la concentración de sustrato en el medio de cultivo una vez alcanzado el estado estacionario; D es la velocidad de dilución en la que opera el quimiostato.

La versión linealizada de Langmuir [5] de la ecuación precedente nos permite determinar experimentalmente los parámetros cinéticos intrínsecos del microorganismo, mediante la determinación gráfica de los parámetros de una recta cuya ordenada es s , y su abscisa s/D . A continuación se muestra dicho modelo lineal:

$$s/D = K_s/\mu_{\max} + s/\mu_{\max}$$

Con esta base, en el prototipo se determinó la concentración de sustrato en el equilibrio para diferentes velocidades de dilución, para luego determinar estadísticamente el mejor modelo lineal que se ajuste a la pareja de datos (s , s/D). A continuación se muestra la gráfica:

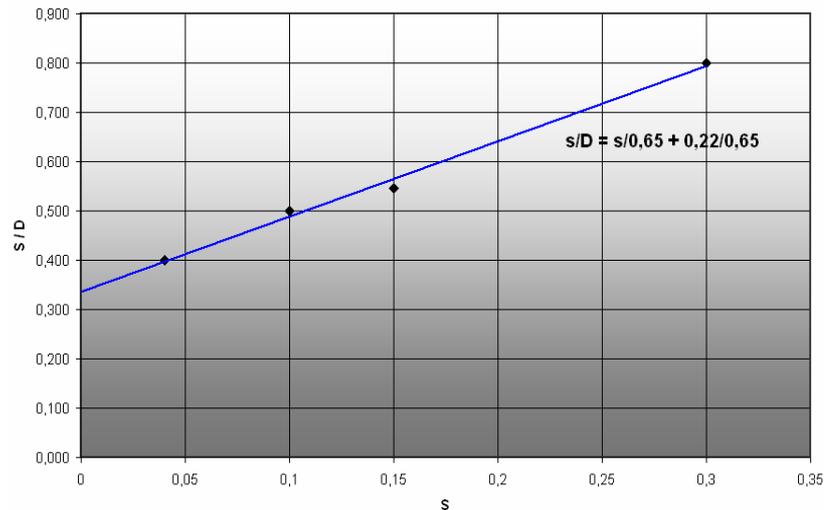


Figura 2. Determinación gráfica de los parámetros cinéticos intrínsecos .

3.1.2. Determinación del rendimiento estequiométrico de biomasa con respecto a sustrato y el coeficiente de mantenimiento (Y_{xs} , m_s).

Basándonos en la ruta metabólica seguida por la propagación de levaduras, y en el balance generalizado de biomasa, obtenemos el siguiente modelo lineal útil para la determinación de Y_{xs} y m_s , el cual utiliza como variables al recíproco del rendimiento observado de biomasa a partir de sustrato ($1/Y'_{xs}$), y al recíproco de la velocidad de dilución ($1/D$):

$$\frac{1}{Y'_{xs}} = \frac{1}{Y_{xs}} + \frac{m_s}{D}$$

Donde $Y'_{xs} = \frac{x}{s_i - s}$.

Los parámetros de la recta que mejor se ajusta a la pareja de datos ($1/Y'_{xs}$, $1/D$) nos permiten calcular Y_{xs} y m_s . A continuación se muestra la aplicación de este modelo a los datos obtenidos en el quimiostato:

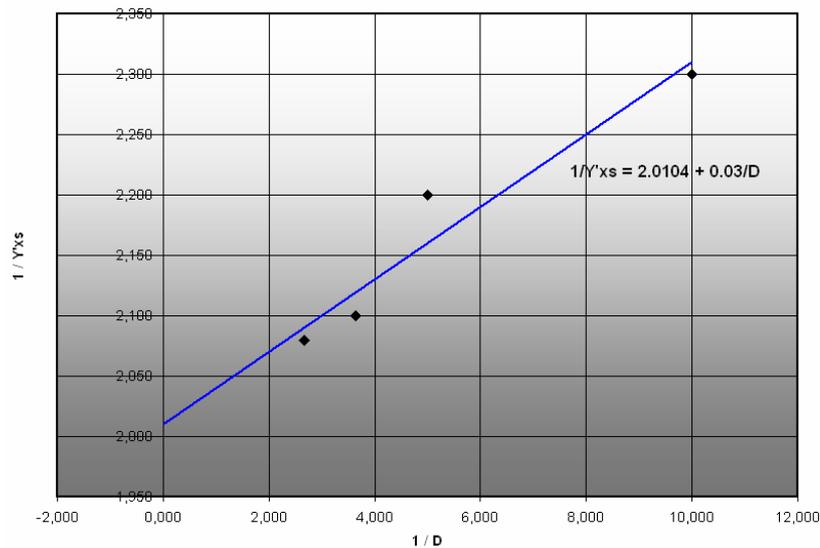


Figura 3. Determinación gráfica del rendimiento estequiométrico de biomasa a partir de sustrato y del coeficiente de mantenimiento.

3.2. Determinación de la dependencia entre la concentración de sustrato, biomasa y productividad volumétrica, con la velocidad de dilución.

Las ecuaciones que definen a la concentración de sustrato (s), biomasa (x) y productividad volumétrica de biomasa (Q_x) como funciones de la velocidad de dilución, se obtienen mediante la utilización de los parámetros cinéticos intrínsecos (μ_{\max} y K_s), rendimiento estequiométrico de biomasa con respecto a sustrato (Y_{xs}) y coeficiente de mantenimiento (m_s), determinados anteriormente, en las ecuaciones obtenidas a partir del balance de biomasa y sustrato teórico de un quimiostato generalizado. A continuación se muestran las gráficas resultantes.

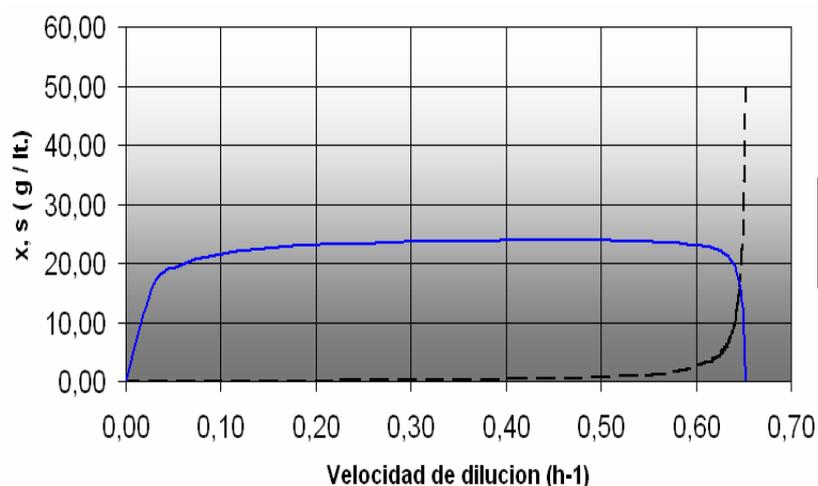


Figura 4. Concentración de células y de sustrato en el estado estacionario, en función de la velocidad de dilución en el quimiostato.

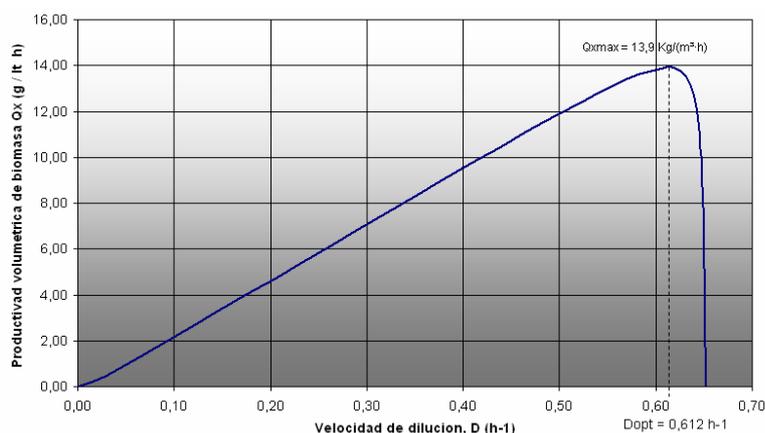


Figura 5. Productividad volumétrica de biomasa en estado estacionario en función de la velocidad de dilución en el quimiostato.

Como se observa en esta última gráfica, el máximo de productividad volumétrica de biomasa es de $13,9 \text{ Kg}/\text{m}^3 \cdot \text{h}$, el que se alcanza en una velocidad de dilución de $0,612 \text{ h}^{-1}$. La productividad volumétrica máxima y la velocidad de dilución óptima son los datos indispensables para el cálculo del volumen de reactor y caudal de alimentación respectivamente, dado un determinado nivel de producción.

3.3. Determinación de la dependencia entre la potencia de agitación en presencia de aireación y el nivel de producción.

El objetivo de esta sección es determinar la potencia que debe ser suministrada por concepto de agitación como función del nivel de producción. La correlación encontrada será útil para el ingeniero encargado de determinar la potencia del motor para el agitador, siempre y cuando se mantenga la adopción del diseño tanque – equipo de agitación especificado en este trabajo.

La determinación de dicha función se basa en las correlaciones empíricas existentes entre el número de potencia y el número de Reynolds, consultadas bibliográficamente [6], y en el factor de dimensionamiento del prototipo (productividad volumétrica de trabajo). A continuación se muestra la correlación encontrada entre la potencia de agitación y el nivel de producción:

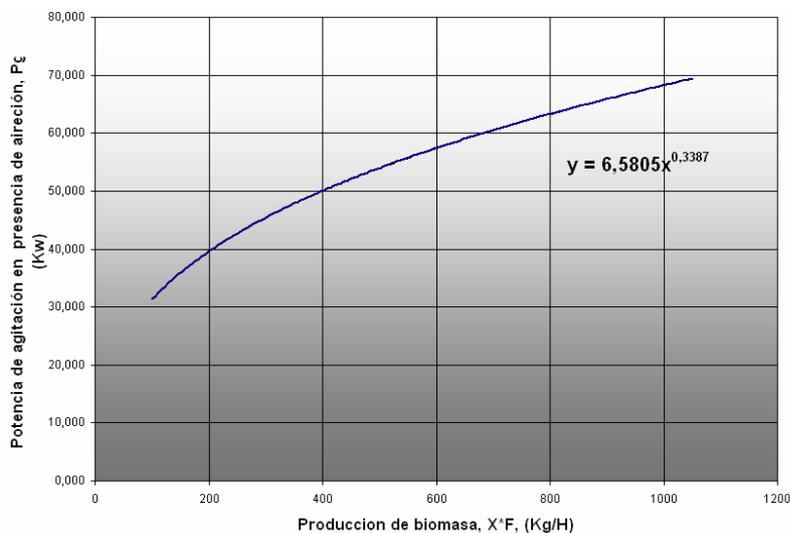


Figura 6. Potencia de agitación en presencia de aireación en función del nivel de producción.

3.4. Determinación de las necesidades caloríficas del reactor en función de la producción de biomasa.

El término necesidades caloríficas, se refiere a la cantidad de energía por unidad de tiempo que debe ser suministrada o retirada del cultivo, con el fin de mantener la temperatura constante. El objetivo de la presente sección es determinar la dependencia entre las necesidades caloríficas del sistema y el nivel de producción. Las necesidades caloríficas del proceso, se calculan mediante el balance integral de energía, tomando como sistema el medio de cultivo, y del factor de dimensionamiento (productividad volumétrica de biomasa). Dichos cálculos muestran que es necesario retirar energía para mantener el estado estacionario; la ecuación resultante es la siguiente: $Q=4,2624(x \cdot F)^{0,9743}$, donde $x \cdot F$ es la producción (Kg biomasa / hora) y Q es el calor generado (kW).

3.5. Determinación del coeficiente de transferencia de masa crítico $(k_L a)_{crit}$.

El objetivo de esta sección es determinar las exigencias mínimas que el sistema de transferencia de oxígeno debe cumplir en el quimiostato. Dichas exigencias mínimas vienen expresadas por un único e importante parámetro: el coeficiente de transferencia de masa crítico $(k_L a)_{crit}$, el mismo que se define como el mínimo valor del coeficiente de transferencia de masa, en el cual se obtiene una concentración de

oxígeno en el cultivo superior a su valor crítico ($C_{crit.}$), una vez alcanzado el estado estacionario (la demanda volumétrica de oxígeno es igual a la rapidez volumétrica de transferencia).

El cálculo de $(K_{La})_{crit.}$ tiene como argumentos a la demanda específica de oxígeno celular (determinada mediante el balance de la reacción de reproducción celular), y a la concentración crítica de oxígeno, $C_{crit.}$ obtenida bibliográficamente [1]. El coeficiente de transferencia de masa crítico calculado es **1.62 seg^{-1}** .

CONCLUSIONES.

- El máximo de productividad volumétrica de biomasa que se puede alcanzar en un quimiostato que opere bajo los parámetros de cultivo impuestos en este estudio (Temperatura = 33 °C, pH = 4, concentración de sustrato en la corriente de alimentación = 50 gr/lit, y suplementación de nutrientes), es de 13,9 Kg/ m³· h, lo que equivale a pensar que por cada metro cúbico de tanque reactor se producen 13.9 Kg de levadura por cada hora.
- Dicho máximo en productividad volumétrica ocurre cuando se trabaja a una velocidad de dilución de 0.612 h⁻¹, es decir, a un caudal equivalente a por ejemplo 0.612 m³/h por cada m³ de cultivo en el reactor.
- Trabajando en la velocidad de dilución óptima, y una vez alcanzado el estado estacionario, la concentración de sustrato en la corriente de salida es 3.14 gr/lit, y al recordar que la concentración de sustrato en la corriente de alimentación es 50 gr/lit, tenemos que el porcentaje de conversión de sustrato que como máximo se puede alcanzar en el quimiostato es 93.7%.
- Trabajando en la velocidad de dilución óptima, y una vez alcanzado el estado estacionario, la concentración de biomasa en la corriente de salida es 22.75 gr/lit, y al tener en cuenta el nivel de conversión de sustrato estimado en el punto precedente, podemos hablar que el quimiostato presenta un rendimiento observado de biomasa con respecto a sustrato equivalente a $Y'_{xs} = 22.75\text{gr/lit} / (50\text{gr/lit} - 3.14\text{gr/lit}) = 0.485$ o 48.5%.
- El rápido descenso de la productividad volumétrica de biomasa, que se observa en valores de velocidad de dilución inmediatamente posteriores al óptimo, evidencia la necesidad de trabajar tan cerca a la velocidad de dilución óptima como nos lo permita la precisión del sistema de dosificación de medio implementado.

BIBLIOGRAFIA.

1. HERMANN KRETZSCHMAR, Levaduras y Alcoholes, Editorial Reverté, Berlín, 1961.
2. JANETH BENITEZ, "Utilización de la Melaza de Caña de azúcar en el Crecimiento de levaduras para panificación" (Tesis, Facultad de Ingeniería Química, Universidad de Guayaquil, 1999).
3. JOSE A. MANRIQUE, Transferencia de Calor, Segunda Edición, Editorial Harla.
4. MICHAEL J. PELCZAR Jr., Microbiología: Conceptos y Aplicaciones, Editorial Mc Graw – Hill, 1993.
5. PAULINE M. DORAN, Principios de Ingeniería de los Bioprocesos, Editorial Acribia, Zaragoza (España), 1998.
6. ROBERT E. TREYBAL, Operaciones de Transferencia de Masa, Segunda Edición, Editorial Mc Graw – Hill.