

Fenómenos de transporte de la fermentación sumergida para obtener enzimas pectolíticas a partir de *Aspergillus foetidus*¹

Lena Prieto Contreras* / Renata Grevechova**

RESUMEN

En esta investigación se evaluó el proceso de obtención de las enzimas pectolíticas endopolimetilgalacturonasa (endo-PMG) y pectinesterasa (PE) con una cepa del hongo *Aspergillus foetidus*. La producción de las enzimas se realizó en un biorreactor New Brunswick modelo BioFlo 110 (ubicado en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de La Salle), con fermentaciones de 3 L de medio de cultivo que contenía pectina cítrica como sustrato y con adición permanente de 3 L/min de oxígeno. En estas condiciones de la fermentación sumergida se hallaron los siguientes resultados en los fenómenos de transporte desarrollados: coeficiente de transferencia de película entre la pared del biorreactor y el medio de 1.710 W/Km^2 , coeficiente de transferencia de masa de $4,24 \times 10^{-4} \text{ m/s}$, coeficiente volumétrico de transferencia de masa de $6,07 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, y una potencia disipada con aireación de 0,089 W; para unos rendimientos de 0,030 kg de enzimas/3 L de medio y 0,83 kg de enzimas/1 kg de biomasa.

Palabras clave: *Aspergillus foetidus*, enzimas pectolíticas, fenómenos de transporte, transferencia de calor, transferencia de masa.

TRANSPORT PHENOMENA IN THE PRODUCTION OF PECTOLYTIC ENZYMES FROM *ASPERGILLUS FOETIDUS* UNDER SUBMERGED FERMENTATION CONDITIONS

ABSTRACT

The production process of the pectolytic enzymes endo-polymethylgalacturonase (endo-PMG) and pectin esterase (PE) from a fungal strain of *Aspergillus foetidus* was studied in this research. The pectolytic enzymes were produced in a New Brunswick BioFlo 110 bioreactor located in the Laboratory of Biotechnology at the Food Engineering Department of La Salle University. The fermentation assays were carried out in 3 L batches of growth medium with citric pectin as the substrate and permanent addition of oxygen at 3 L/min. Under these fermentation conditions, the following results were found in the developed phenomena: film transfer coefficient between the bioreactor wall and the growth medium: 1.710 W/K.m^2 , mass transfer coefficient: $4,24 \times 10^{-4} \text{ m/s}$, volumetric mass transfer coefficient: $6,07 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, and an aeration-dissipated potency of 0,089 W; for yields of 0,030 kg of enzymes/3 L growth medium and 0,83 kg of enzymes/1 kg of biomass. These results are close to those found by other researchers.

Key Words: *Aspergillus foetidus*, pectolytic enzymes, transport phenomena, heat transfer, mass transfer

¹ Este artículo es parte del Proyecto de Investigación: «Determinación del modelo cinético de fermentación y de los fenómenos de transporte en el proceso de obtención de enzimas pectolíticas a partir de *Aspergillus niger* y *Aspergillus foetidus* (Ascomycetes: Aspergillales)»; desarrollado con la Dra. Renata Grevechova y financiado por la Universidad de La Salle. Correo electrónico: lprieto@lasalle.edu.co

* Ingeniera Química, Magíster en Educación y Docente Investigadora de la Facultad de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de La Salle.

** Profesora Investigadora Universidad de La Salle. Correo electrónico: rgrevechova@hotmail.com

Fecha de recepción: julio 4 de 2006.

Fecha de aprobación: septiembre 15 de 2006.

INTRODUCCIÓN

Actualmente se integran los conocimientos del microbiólogo, del bioquímico, del ingeniero químico y del ingeniero de alimentos a los procesos biotecnológicos que incluyen fermentaciones, para implementar este tipo de producción en la industria alimentaria, con el fin de unir los conceptos biológicos a los principios de ingeniería y así, llevar esta integración a la producción industrial para lograr alcances de importancia donde se beneficie la industria con procesos modernos en tecnología (Quintero, 1981).

A nivel nacional e internacional las investigaciones de diferentes tipos de fermentaciones (alcohólicas, lácticas, acéticas, de células animales o vegetales, enzimáticas, entre otras), continúan con el estudio de los parámetros que se requieren para el diseño del bioproceso como: temperatura, pH, demanda de oxígeno y contenido de nutrientes (Bartow y Spark, 2004; Prieto y Grebechova, 2005); también, se determinan los fenómenos de transporte que se desarrollan en los diferentes procesos fermentativos con variables definidas a través de las diferentes experimentaciones de las investigaciones para que se realicen en el futuro su producción industrial (Duarte, 1995; Junker, 2003).

Además, estos fenómenos de transporte encontrados se explican a través de modelos matemáticos, donde describen la relación entre todas las variables dependientes e independientes, aunque algunos de ellos son empíricos pues se basan en observaciones (Duarte, 1995; Heldman y Newsome, 2003). Otro de los desarrollos actuales en el campo de la Biotecnología es el perfeccionamiento de los microorganismos industriales a través de la manipulación genética para la producción de biocatalizadores más estables, de mayor rendimiento y para el desarrollo de nuevos productos que

logren satisfacer la demanda tecnológica de los procesos industriales actuales (Rowlands, 2002; Ashie, 2003).

Lo anterior permite evaluar el proceso de obtención de las enzimas pectolíticas a partir de hongos *Aspergillus foetidus* de la Colección Nacional de Rusia, logrando la producción de estos biocatalizadores en diferentes escalas de fermentación para la aplicación en diferentes procesos alimentarios. Para complementar esto se estudian modelos predictivos, ya que su ausencia dificulta la selección de un modelo adecuado para la explicación del proceso bioquímico en cualquier escala de producción (Mukesh, 2002).

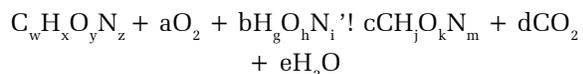
Balance de materia y energía. En la valoración de los fenómenos de transporte de las fermentaciones es importante establecer las cantidades de materiales y de energía involucradas durante la obtención de enzimas, lo cual permite su replica en experimentaciones similares. Debido a ello, se pueden establecer dichas cantidades porque todo proceso cumple la ley de la conservación (Doran, 1998); esto permite proponer igualdades matemáticas, conocidas como balance de materia y de energía del bioproceso, así:

$$\text{Materia que entra} - \text{materia que sale} + \text{materia generada} - \text{materia consumida} = \text{materia acumulada}$$

$$\text{Energía que entra} - \text{energía que sale} = \text{energía acumulada}$$

En la fermentación sumergida se realiza un balance de materia para los elementos que participan en el crecimiento de los microorganismos. A pesar de su complejidad y de que existen miles de reacciones intracelulares, el crecimiento de las células también obedece a la ley de la conservación. Todos los áto-

mos de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y otros elementos consumidos durante el crecimiento se incorporan a las nuevas células o se expulsan como producto (Doran, 1998). Este crecimiento de los microorganismos se puede describir mediante la siguiente ecuación (Duarte, 1995):



Donde: $C_w H_x O_y N_z$ es la fórmula química del sustrato que entra en el medio de cultivo, $H_g O_h N_i$ es la fórmula química de la fuente de nitrógeno, $CH_j O_k N_m$ es la fórmula química de la biomasa seca y CO_2 y H_2O son productos de la reacción.

Por otra parte, el balance de energía en la fermentación es significativo puesto que las células consumen el sustrato que provee la energía junto a la materia prima, requerida para la síntesis de la nueva masa adicional. Los hongos utilizan eficientemente la energía química, pero parte de esta energía disponible en el sustrato es liberada como calor. Entonces el balance de energía de una fermentación, sería (Duarte, 1995):

$$q_{MET} + q_{AG} = q_{AC} + q_{INT} + q_{EVAP} + q_{SEN}$$

Donde se considera, la velocidad de generación de calor por la actividad metabólica (q_{MET}) que es el calor asociado con el crecimiento de los microorganismos y también por la formación de productos, la velocidad de generación de calor por agitación mecánica (q_{AG}), la velocidad de acumulación de calor (q_{AC}) que es 0 en condiciones estables, la velocidad de transferencia de calor del reactor con los alrededores (q_{INT}), la velocidad de pérdida de calor por evaporación (q_{EVAP}), y la velocidad de

cambio en la entalpía en las corrientes líquida y gaseosa que entran y salen del biorreactor.

Fenómenos de transporte del bioproceso. Estos los integran las operaciones unitarias: mecánica de fluidos, transferencia de masa y transferencia de calor.

-Mecánica de fluidos. Los medios de cultivo de la fermentación están constituidos por agua, electrolitos, sólidos suspendidos y materiales disueltos. Estos componentes determinan el comportamiento reológico y la tensión superficial del medio de cultivo, y a la vez influye sobre las transferencias de calor y de masa en el biorreactor. La mayoría de los medios de fermentación manifiestan un comportamiento newtoniano, es decir, presentan una reología similar a la del agua; pero los medios en los cuales cambia las características físicas del mismo, especialmente la viscosidad, durante el crecimiento de los microorganismos, entonces se puede estudiar el medio como un fluido no newtoniano (Duarte, 1995).

Además, de las características reológicas del medio de cultivo, es importante determinar la velocidad de agitación y el flujo de aire para evaluar los Números de Potencia y de Reynolds, típicos del biorreactor en el cual se desarrolla la fermentación. En la práctica la potencia suministrada por agitación al biorreactor varía entre 1 y 5 W.(L)⁻¹, donde aproximadamente 85 – 95% de este valor corresponde a agitación mecánica y el resto a la energía cinética y expansión isotérmica del gas dispersado (Doran, 1998).

La potencia consumida por un sistema gaseado es considerablemente menor que en un sistema no gaseado. A bajos caudales el gas pasa por el impulsor del agitador sin dispersarse y el líquido fluye sin ser perturbado, pero a medida que se aumenta

el caudal del gas, este comienza a dispersarse y la potencia del sistema comienza a disminuir con respecto al sistema sin gas. A partir de este concepto se plantea el Número de Aireación (A_e), el cual relaciona la velocidad superficial del gas y la velocidad en la punta del impulsor, así:

Donde: Ca es el caudal del gas, Da es el diámetro del agitador, n son las revoluciones del impulsor, y $n \cdot Da$ es la velocidad en la punta del impulsor (Duarte, 1995).

Transferencia de masa. Durante las fermentaciones aeróbicas se requieren cantidades de oxígeno que permitan el crecimiento de los microorganismos a través del metabolismo que se desarrollan. La oxidación de la fuente de carbono y su transformación en células y en productos establece una demanda de oxígeno que es esencial satisfacer a través de la aireación durante la realización de la fermentación (Quintero, 1981). El mecanismo de la transferencia de oxígeno a la célula se ha explicado por medio de varios pasos de la siguiente manera: primero hay una transferencia difusional del oxígeno a través de las películas del gas y líquido que rodean las burbujas de aire, después continúa su camino en la solución, y finaliza a través de la película de líquido que rodea la célula para realizar la reacción bioquímica intracelular. La mayor resistencia la opone la película del líquido que rodea las burbujas (Doran, 1998).

La velocidad de transferencia de oxígeno se puede expresar así:

$$\text{Velocidad de transferencia} = \text{Coeficiente de transferencia} \times \text{área} \times \text{fuerza de masa de masa directriz}$$

La igualdad anterior se puede expresar matemáticamente como: $N_a = k_L a (C_g - C_L)$, donde k_L es el coeficiente de transferencia de oxígeno en la fase líquida, a es el área interfacial, C_g es la concentración de oxígeno en la entrecara gas-líquido es casi igual a la solubilidad, y C_L es la concentración de oxígeno en el seno de la solución. N_a es la velocidad de transferencia de masa o de oxígeno expresada por unidad de volumen, y esta es igual o mayor a la demanda de oxígeno (Q_o) para que el sistema no esté limitado por oxígeno.

Transferencia de calor. Inicialmente en el bioproceso se requiere suministro de calor en la operación de esterilización para calentar el medio de cultivo hasta la temperatura necesaria que permita la eliminación de microorganismos; después, esta temperatura se baja para inocular el medio y así dar inicio a la fermentación. Durante el desarrollo de la fermentación enzimática se requiere de calor para favorecer el clima de crecimiento de los microorganismos que producen los productos de interés (Duarte, 1995).

Las variables más importantes en la determinación del calor transferido son: la diferencia de temperatura entre el biorreactor y el medio ambiente, y el área disponible para transferencia de calor. El área efectiva de transferencia de calor de un sistema de camisa externa, es el área lateral del tanque:

$$Ac = \pi \cdot Dt \cdot H$$

Donde: Ac es el área de transferencia de calor de la camisa, Dt es el diámetro del biorreactor, y H es la

altura alcanzada por el medio de fermentación dentro del biorreactor. Por otra parte, la transferencia de calor se mide por medio del coeficiente de transmisión de calor, como se muestra en la siguiente ecuación:

$$q = U \cdot A \cdot \Delta T_M$$

Donde: q es la velocidad de transferencia de calor, U es el coeficiente global de transferencia de calor, A es el área de la superficie de transferencia de calor, y ΔT_M es la diferencia media de temperatura en el biorreactor (Duarte, 1995).

MATERIALES Y MÉTODOS

A continuación se explica sobre los datos que se levantaron experimentalmente y directamente en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ingeniería de Alimentos, Universidad de La Salle, para realizar los cálculos de balance de materia, balance de energía y fenómenos de transporte que caracterizan a la fermentación investigada, operación fundamental del bioproceso de obtención de las enzimas pectolíticas.

Balances de materia y energía en la fermentación.

Para la fermentación sumergida se preparó el medio de cultivo, nombrado E-4, constituido por los siguientes componentes: pectina cítrica, salvado de trigo, caseína, extracto de levadura, sulfato de amonio, fosfato ácido de potasio, cloruro de potasio, sulfato de magnesio, cloruro de cobalto y *tween* 80 (Grebechova y Prieto, 2005). Durante la fermentación, se evaluó el crecimiento de la cepa de hongos por medio de la reacción química que muestra el consumo del sustrato, pectina cítrica, y para realizar el balance de materia se requiere del peso molecular del sustrato.

Por lo tanto, se empleó el método de Rast (Shriner, 1957) para encontrar experimentalmente el peso molecular con 0,050g de pectina cítrica y 0,50g de alcanfor. La temperatura de fusión de la mezcla se determinó con un tubo capilar, al cual se le añadió la mezcla hasta una altura de 1 cm, después se amarró a un termómetro y se sumergió en un tubo de *Thiele* que contiene aceite mineral. Por último, se leyó la temperatura de fusión del alcanfor con tubo capilar. Los datos que se obtuvieron con el procedimiento anterior se aplicaron a la siguiente relación para hallar el peso molecular (PM):

$$PM = \frac{39,7 \times w \times 1000}{\Delta \times W}$$

Donde: W es el peso del alcanfor, w es el peso de la pectina cítrica, y Δ es la disminución del punto de fusión hallada por la diferencia entre las temperaturas de fusión del alcanfor y de la mezcla pectina cítrica-alcanfor.

Además, se determinó el calor de combustión del sustrato; dato indispensable del balance de energía de la fermentación sumergida, con una bomba calorimétrica de oxígeno marca Parr 1341 (ubicada en el Laboratorio de Nutrición, Facultad de Zootecnia, Universidad de La Salle), con 1g de pectina cítrica y 10 cm del alambre de ignición de níquel-cromo. Después se amarró el alambre a las puntas de los electrodos de la bomba, y se dejó que el alambre quedara en contacto con el sustrato, se le introdujo oxígeno hasta que la presión aumentó a 10 psig, y una vez finalizada la ignición se apagó el equipo y se midió el alambre no quemado. Después se aplicó la siguiente ecuación:

$$(\Delta H_s)_c = \frac{t \cdot W - e}{m}$$

Donde: m es la masa de pectina cítrica empleada en la prueba, W es la energía equivalente del calorímetro determinada por estandarización y es de 2333 cal/°C, e es la corrección en calorías del alambre de níquel-cromo empleado en la prueba y es de 2,3 cal/cm de alambre (cm de alambre no quemado) y t es el aumento de la temperatura hallado con la siguiente relación matemática:

$$t = t_c - t_a - r_1(b - a) - r_2(c - b).$$

Potencia por agitación del fluido newtoniano en la fermentación. Inicialmente se realizó fermentaciones preexperimentales para cuadrar la velocidad de agitación de las aspas del agitador, vertical y centrado en el biorreactor, con el flujo de aire que ingresó al mismo puesto que se determinó controlar durante la fermentación que no cambiara las características reológicas del medio de cultivo y que se mantuviera como fluido newtoniano para facilitar los cálculos de potencia por agitación.

Una vez cuadradas las condiciones de trabajo del biorreactor, se procedió a recoger los siguientes datos por medición o lectura directa: diámetro del biorreactor, Φ_t o Φ_b ; altura del biorreactor, h ; diámetro del impulsor del agitador, Φ_a ; caudal de aire que ingresa, Ca , en el rotámetro; velocidad de agitación, n , en el panel de control del biorreactor; densidad del medio de cultivo inoculado, ρ , por método del picnómetro; viscosidad del medio de cultivo inoculado, μ , por método del viscosímetro de caída de esfera marca Gilmont; número de deflectores en el biorreactor; y número de impulsores del agitador.

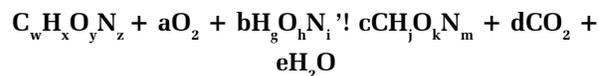
Coefficiente de transferencia de masa en la fermentación. En las fermentaciones aeróbicas se determinó el suministro de la cantidad de oxígeno para conocer los requerimientos de oxígeno según las necesidades metabólicas del hongo *A. foetidus* em-

pleado en esta investigación. Por lo tanto, una medida de la transferencia del oxígeno a los microorganismos durante la fermentación, se hace a través del coeficiente de transferencia de masa, y para determinarlo se requirió de los siguientes datos experimentales: diámetro del biorreactor, \ddot{O}_b ; caudal de aire que ingresa, Ca ; presión del aire de ingreso, p , en el manómetro de la línea de aire; densidad del medio de cultivo inoculado, \bar{n} ; viscosidad del medio de cultivo inoculado, i ; lectura de oxígeno disuelto en el biorreactor en el panel de control del equipo; volumen del medio, V_m ; y medidas del biorreactor.

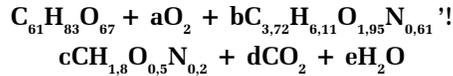
Coefficiente de transferencia de calor en la fermentación. En la velocidad de transferencia de calor en el biorreactor es importante conocer el coeficiente de transferencia de calor de película entre el líquido en el reactor y la superficie interior del biorreactor encamisado; para ello, se realizó la definición de los siguientes datos en la operación de fermentación: área de transferencia de calor, A , por medición de la chaqueta eléctrica del biorreactor; altura del medio de cultivo, h ; temperatura inicial del medio de cultivo, T_1 ; temperatura de fermentación en el biorreactor, T_2 ; temperatura de la camisa, T ; presión del aire de ingreso, p ; y medidas del biorreactor.

RESULTADOS

Balance de materia del crecimiento de la cepa del hongo *A. foetidus*. La fermentación sumergida es la operación importante del bioproceso y el balance de materia de los elementos participantes en el crecimiento de los hongos *Aspergillus* para formar el producto durante las 96 horas que duró la fermentación, se desarrolló la siguiente reacción:



La cual se transformó para la producción específica de las enzimas pectolíticas, así:



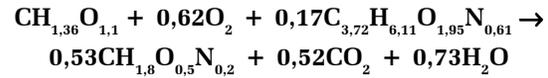
Donde: $C_{61}H_{83}O_{67}$ es la fórmula química del sustrato, que en este caso es la pectina cítrica (aunque la pectina es un polímero del ácido galacturónico para facilidad de cálculos se deja la fórmula hasta nueve repeticiones y media del monómero) (Bernal, 1993); $C_{3,72}H_{6,11}O_{1,95}N_{0,61}$ es la fórmula química de la fuente de nitrógeno (Calvo, 2005), que corresponde al extracto de levadura; y $CH_{1,8}O_{0,5}N_{0,2}$ es la fórmula química de la biomasa seca, la cual está constituida principalmente por la masa de la cepa del hongo *A. foetidus* (Doran, 1998).

Por lo tanto, se consumió 1,208 kg de oxígeno durante la reacción en la operación de fermentación, el cual lo aporta los 2,08 kg de aire que entra; además, se consumió 0,030 kg de enzimas por cada 3L de medio de cultivo. En total, se consumieron 3,095 kg de oxígeno, CO₂ y H₂O.

En conclusión, se obtiene del balance de materia los siguientes rendimientos:

$$y = \frac{0,83 \text{ kg de enzimas}}{1 \text{ kg de biomasa}}$$

Balance de energía del crecimiento de la cepa de hongos *A. foetidus*. Para la fermentación donde se desarrolla energía térmica se tiene, la ecuación de crecimiento para los hongos *A. foetidus* sobre la base de cálculos de 1mol de C en el sustrato:



El calor producido durante el crecimiento de los microorganismos expresado por mol de carbón es (Duarte 1995):

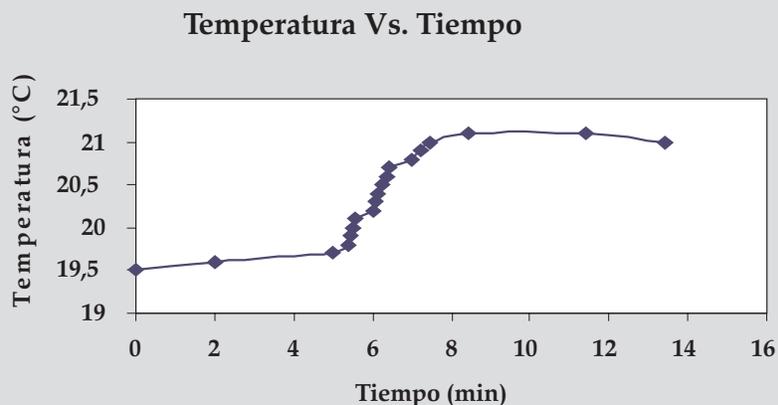
$$(\Delta H_R)_C = (\Delta H_S)_C - (\Delta H_P)_C - (\Delta H_X)_C$$

Donde: $(\Delta H_R)_C$ es el calor producido durante el crecimiento microbiano o calor de reacción; $(\Delta H_P)_C$ es el calor de combustión del producto = -560 kJ/mol C (Duarte, 1995); $(\Delta H_X)_C$ es el calor de combustión de los hongos (Doran, 1998) = -(115). Γ kJ/mol C; Γ es el grado de reducción de las células (Duarte, 1995) = 7,4; por lo tanto, el calor de combustión de los hongos es -851 kJ/mol; $(\Delta H_S)_C$ es el calor de combustión del sustrato = -4438,9 kJ/mol C.

Este último calor de combustión se determinó por medio de los datos de la curva (Figura 1), que se lograron en la bomba calorimétrica de oxígeno. El aumento de la temperatura fue 1,39 °C y, el calor de combustión es - 4438,9 kJ/ mol de C; ó -3235,74 cal/g, de energía térmica generada durante el crecimiento de los hongos *A. foetidus* por cada mol o gramo de carbono del sustrato empleado.

Al reemplazar los calores de combustión en la ecuación anterior, se obtiene el calor de reacción para el crecimiento del hongo *A. foetidus*, por valor de - 3027,9 kJ/mol de C.

GRÁFICA 1. CURVA PARA HALLAR EL CALOR DE COMBUSTIÓN DE LA PECTINA CÍTRICA.



Potencia de agitación. La fermentación sumergida se realizó en el biorreactor New Brunswick BioFlo 110, el cual cuenta con un agitador de impulsores de turbina doble: una en la base y otra en la zona media. Este agitador dispersa el calor y el oxígeno

en el medio líquido, por esto, la velocidad del mismo es importante evaluarla así como su consumo de potencia. En la Tabla 1 se presentan las características del sistema de agitación empleado en la experimentación.

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DEL SISTEMA DE AGITACIÓN DEL BIORREACTOR NEW BRUNSWICK BIOFLO 110.

CARACTERÍSTICAS	VALORES
Longitud del eje de rotación	26,5 cm
Número de impulsores	2
Número de paleta por impulsor	6
Distancia entre los impulsores	13 cm
Diámetro del impulsor	5,8 cm
Número de deflectores	4
Ancho de deflectores	2 cm

Al sistema de agitación empleado se le aplicó las ecuaciones y los números adimensionales que explican el comportamiento de este fenómeno de transporte, en el Gráfico 2 se resumen los resultados hallados para un caudal de oxígeno de 3L/min du-

rante la fermentación. Por lo tanto, durante la agitación del medio de cultivo a 180 rpm, se disipó energía mecánica en un valor pequeño de 0,089 W, cuando el oxígeno intervenía en la agitación, y de 0,101 W cuando no hay aire.

TABLA 2. ECUACIONES Y RESULTADOS DEL CONSUMO DE POTENCIA POR AGITACIÓN.

Números dimensionales y variables	Ecuaciones	Resultados	Ecuaciones propuestas (Doran, 1998) (Duarte, 1995)
Potencia disipada con gaseado por impulsor	$\log \frac{P_G}{P} = -192 \left(\frac{\phi_a}{\phi_l} \right)^{4,38} \cdot N_{Re}^{0,115} \cdot N_{Fr}^{1,96 \frac{\phi_a}{\phi_l}} \cdot Na$	0,089 W	Nagata
Número de Aireación	$Na = \frac{Ca}{n \cdot \phi_a^3}$	0,085	Nagata
Número de Reynolds	$N_{Re} = \frac{n \times \phi_a^2 \times \rho}{\mu}$	7.170,63	Reynolds
Número de Fraude	$N_{Fr} = \frac{n^2 \cdot \phi_a}{g}$	0,0536	Froude
Número de Potencia	$P_0 = \frac{P \cdot g_c}{\rho \cdot n^3 \cdot \phi_a^5}$	5,7	McCabe & Smith (1975)
Factor de Potencia	$\Phi = P_0 \cdot N_{Fr}^{-m}$	5,7	McCabe & Smith (1975)
Potencia disipada sin gaseado	$P = \Phi \cdot \rho \cdot n^3 \cdot \phi_a^5$	0,101 W	McCabe & Smith (1975)

Transferencia de masa. El coeficiente de transferencia de masa para la fermentación sumergida de 3 L de volumen con la cepa de *A. foetidus*, evalúa la transferencia de oxígeno del aire en el medio líquido. A continuación, se resume en la Tabla 3 los resultados de aplicar las ecuaciones de este fenómeno de transporte. Para los cálculos de la transferencia de oxígeno en el medio de la fermentación sumergida, se evaluó con el caudal de aire el coeficiente volumétrico de transferencia de masa (en el cuadro 3 se expresan en s⁻¹); y el coeficiente de transferencia de masa es 4,24x10⁻⁴ m/s, es decir, cada burbuja de oxígeno se transfiere 0,0424 cm/s.

Transferencia de calor. La fermentación sumergida recibió calor por medio de la camisa que envuelve

al biorreactor, la cual se calienta eléctricamente, sus medidas son: 0,62 m de largo y 0,18 m de ancho. A continuación, en el cuadro 4 se muestran las ecuaciones y los resultados de los cálculos realizados para la transferencia de calor que se llevó a cabo en el biorreactor. Por lo tanto, el coeficiente de transferencia de calor de película entre las paredes del biorreactor y el medio de cultivo, se transfiere en cada cm² de la pared 0,171 W o 0,171 J/s de operación y por cada aumento de temperatura en grados Kelvin. Además para las fermentaciones realizadas fue suficiente el área disponible de transferencia de calor; y se generó por el cultivo 0,049 W y en el biorreactor 0,305 W de calor respectivamente.

TABLA 3. ECUACIONES Y RESULTADOS DE LA TRANSFERENCIA DE MASA EN EL BIORREACTOR.

Números adimensionales y variables	Ecuaciones	Resultados	Ecuaciones propuestas (Doran, 1998) (Duarte, 1995)
Velocidad superficial del gas	$v_s = \frac{Ca}{\frac{\pi}{4} \phi_b^2}$	2,08x10 ⁻³ m/s	-----
Retención de gas	$\psi = \left(\frac{v_s \cdot \psi}{u_t} \right)^{0,5} + 2,16 \times 10^{-4} \left(\frac{P_G}{V} \right)^{0,4} \cdot \rho^{0,2} \cdot \sigma^{-0,6} \cdot \left(\frac{v_s}{u_t} \right)^{0,5}$	0,0113	Calderbank
Diámetro medio de Sauter	$D_S = 4,15 \sigma^{0,6} \cdot \left(\frac{P_G}{V} \right)^{-0,4} \cdot \rho^{-0,2} \cdot \psi^{0,5} + 9 \times 10^{-4}$	5,36x10 ⁻³ m	Calderbank
Area de la superficie de separación gas-líquido	$a = \frac{6 \cdot \psi}{D_S}$	12,65 m ⁻¹	Calderbank
Número de Schmidt	$N_{Sc} = \frac{\mu}{\rho \cdot D_{AB}}$	562,96	Schmidt
Número de Grashof	$N_{Gr} = \frac{D_S^3 \cdot \rho \cdot g \cdot \Delta \rho}{\mu^2}$	760.687,66	Grashof
Numero de Sherwood	$N_{Sh} = \frac{k_L \cdot D_S}{D_{AB}}$	909,06	Sherwood
Coefficiente de transferencia de masa	$N_{Sh} = 0,42 \cdot N_{Sc}^{1/2} \cdot N_{Gr}^{1/3}$	4,24x10 ⁻⁴ m/s	Calderbank & Moo-Young
Coefficiente volumétrico de transferencia de masa	$k_L a = 0,026 \cdot \left(\frac{P}{V} \right)^{0,4} \cdot v_s^{0,5}$	6,07x10 ⁻³ s ⁻¹	Van't Riet

TABLA 4. ECUACIONES Y RESULTADOS DE LA TRANSFERENCIA DE CALOR EN EL BIORREACTOR.

Números dimensionales y variables	Ecuaciones	Resultados	Ecuación propuesta por
Flujo másico de aire	$\dot{m}_a = Ca \times \rho$	7,65x10 ⁻⁵ kg/s	(Doran, 1998) (Duarte, 1995)
Área requerida de transferencia de calor	$A_c = \pi \cdot \phi_t \cdot h$	2,2x10 ⁻⁵ m ²	
Calor entregado al medio por dispersión del aire	$P_m = \left(\frac{v_{a-t}^2 - v_{a-b}^2}{2g_c} + \frac{R \cdot T}{PM_a} \ln \frac{P_a}{P_b} \right) \cdot \dot{m}_a$	0,078 W	
Área disponible de transferencia de calor	$A = \frac{Qt}{h_o \cdot \Delta T}$	0,09 m ²	Humphrey
Número de Prandtl	$N_{Pr} = \frac{\mu \cdot c_p}{k}$	9,623	Prandtl
Coefficiente de transferencia de calor de película	$\frac{h_o \cdot \phi_b}{k} = a \cdot N_{Re}^{2/3} \cdot N_{Pr}^{1/3} \cdot \left(\frac{\mu}{\mu_p} \right)^{0,14}$	1.710 W/K. m ²	Ackley

DISCUSIÓN

Los resultados de los fenómenos de transporte hallados en la fermentación sumergida donde se produce enzimas pectolíticas con cepa del hongo *A. foetidus*, se pueden considerar en el caso de realizar esta fermentación a diferentes escalas de experimentación o de producción, con las siguientes relaciones planteadas, para que el coeficiente de transferencia de calor varíe proporcionalmente al cuadrado del diámetro del biorreactor, en este caso se partió de (0,175 m)² con un coeficiente de película de transferencia de calor de 1710 W/K.m²; y para que el coeficiente de transferencia de masa varíe proporcionalmente al cubo del diámetro, por lo tanto se inició con el biorreactor en (0,175 m)³ y empleando un coeficiente de transferencia de masa de 4,24x10⁻⁴ m/s, y un coeficiente volumétrico de trans-

ferencia de masa 6,07x10⁻³ s⁻¹ para 3L de aire/minuto (Quintero, 1981).

Por otra parte, se propone que la potencia disipada por unidad de volumen sea proporcional al volumen del fermentador: P/V á V^{-0,37} (Duarte, 1995), para el caudal estudiado la relación P/V fue de 59,33 para 3L de aire/minuto. A mayor volumen de la fermentación la potencia de trabajo del agitador disminuye, según recomendaciones de investigadores (Quintero, 1981), por ello será necesario considerar esta cantidad.

Según Scragg (2000) los coeficientes de transferencia de calor en fermentaciones se encuentran entre 3 y 5 kW/m².K, y en la investigación se determinó un coeficiente de transferencia de calor de 1,7 kW/m².K, valor cercano al límite inferior. Con respecto

al consumo de potencia fue del orden de 0,101 W o de 0,03 kW/m³; y el consumo de oxígeno fue de 0,00117 kg/m³.s, es decir, 1,208 kg/3L en 96 horas de fermentación. Estos valores son pequeños pero se acercan a los mínimos propuestos por investigadores (Quintero, 1981; Scragg, 2000).

Además de lo anterior, es importante considerar los factores geométricos del biorreactor New Brunswick BioFlo 110, donde se realizaron las fermentaciones, en el caso de emplear otro biorreactor. Estos son: diámetro del impulsor/diámetro del biorreactor=1/3; ancho de deflectores/diámetro del biorreactor=1/9; altura entre la base y el primer impulsor/altura entre impulsores=1; y Número de deflectores=4.

Entonces, los valores determinados a nivel de laboratorio corresponden a un volumen de 3L de medio de cultivo para la fermentación sumergida, los cuales satisficieron los requerimientos del microorganismo a través de la biosíntesis del sustrato hacia la obtención de las enzimas endo-PMG y PE como productos principales; por ello, es conveniente para nuevos volúmenes evaluar estos parámetros de los fenómenos de transporte y así establecer más criterios para cambiar a nuevas escalas de producción (Mukesh, 2002).

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor Camilo Rozo, Decano de la Facultad de Ingeniería de Alimentos y a la Doctora Estrella Cárdenas, Coordinadora de Investigación, respectivamente, de la Universidad de La Salle, por sus valiosas colaboraciones y aportes.

BIBLIOGRAFÍA

- Ashie, I. «Bioprocess Engineering of Enzymes». *Food Technology* 57 1 (2003): 44-51.
- Bartow, M. y Spark, E. «Bioreactor design for mammalian cell cultures». *Chemical Engineering* 111 1 (2004): 49-54.
- Bernal de Ramírez, I. *Análisis de alimentos*. Bogotá: Guadalupe, 1993.
- Calvo, M. *Bioquímica de los alimentos*. España: Universidad de Zaragoza. Ciencia y Tecnología de Alimentos, 2005. [10/11/2005] <<http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/pectinas.html>>
- Doran, P. *Principios de ingeniería de los bioprocesos*. España: Acribia, 1998.
- Duarte, A. *Introducción a la Ingeniería Bioquímica*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Biotecnología, 1995.
- Grebechova, R. y Prieto, L. «Producción, purificación y caracterización de la enzima pectinasa aislada de *Aspergillus niger* y *Aspergillus foetidus*». Informe de Investigación. Bogotá: Universidad de La Salle, Facultad de Ingeniería de Alimentos, Departamento de Investigaciones, 2005.
- Heldman, D. y Newsome, R. «Kinetic Models for microbial survival during processing». *Food Technology* 57 8 (2003): 40-46,100.
- Junker, B. «Multipurpose fermentor design: critical considerations». *Chemical Engineering* 110 2 (2003): 48-53.

- McCabe, W. y Smith, J. *Operaciones Básicas de Ingeniería Química*. Volumen II. Barcelona: Reverté, 1975.
- Mukesh, D. «Trouble free reaction scale up». *Chemical Engineering* 109 1 (2002): 46-53
- Prieto, L. y Grebechova, R. «Determinación del modelo cinético de fermentación y de los fenómenos de transporte en el proceso de obtención de enzimas pectolíticas a partir de *Aspergillus niger* y *Aspergillus foetidus* (Ascomycetes: Aspergilales)». Informe de investigación. Bogotá: Universidad de La Salle, Facultad de Ingeniería de Alimentos, Departamento de Investigaciones. 2005.
- Quintero, R. *Ingeniería Bioquímica. Teoría y aplicaciones*. México: Alambra Mexicana, 1981.
- Rowlands, J. «Determining the safety of bioengineered microorganisms». *Food Technology* 56 10 (2002): 28-31.
- Scragg, A. *Bioteología para ingenieros*. México: Limusa, 2000.
- Shriner, R. *et al. The systematic identification of organic compounds a laboratory manual* (4 ed.) New York, 1957.